

Wojciech Achrem

*Laboratorium Kryminalistyczne Komendy Wojewódzkiej Policji
w Szczecinie*

Ireneusz Sottyszewski

*Katedra Kryminalistyki i Medycyny Sądowej UWM w Olsztynie
(autor korespondencyjny)*

WYKORZYSTANIE ANALIZY DNA W DZIAŁANIACH ZESPOŁÓW „ARCHIWUM X”

The use of DNA analysis by „X Files” investigation teams

Wprowadzenie

Od 1999 roku w strukturach organizacyjnych Policji funkcjonują zespoły o charakterze operacyjno-śledczym zajmujące się nierozwiązanymi dotychczas sprawami, nazwane przez media „Archiwum X”. Zespoły te noszą różne nazwy, i tak np. w Komendzie Wojewódzkiej Policji w Krakowie jest to Międzywydziałowy Zespół do spraw Niewyjaśnionych, Komendzie Wojewódzkiej Policji w Gdańsku Zespół Niewykrytych Przestępstw czy w Komendzie Stołecznej Policji Zespół do spraw Niewykrytych Zabójstw. Pierwowzorem do powołania tego typu jednostek było funkcjonujące od 1981 roku w Federalnym Biurze Kryminalnym Stanów Zjednoczonych Ameryki (FBI) Narodowe Centrum do spraw Analizy Brutalnej Przemocności (National Center for The Analysis of Violent Crime)¹. W aktach postępowań karnych, którymi zajmują się zespoły z Archiwum X, znajdują się różnorodne środki dowodowe, w tym dowody rzeczowe oraz ślady kryminalistyczne, które można zbadać aktualnie stosowanymi technikami badawczymi. Dzięki porównaniu uzyskanych danych z badań laboratoryjnych z informacjami zgromadzonymi w bazach danych (np. daktyloskopijnej AFIS czy genetycznej Genom) możliwe staje się dokonanie identyfikacji kryminalistycznej. Wśród nowoczesnych technologii badawczych rolę pierwszoplanową odgrywają badania genetyczne. Dzięki nim możliwe jest nie tylko zidentyfikowanie dawcy substancji biologicznej do materiału dowo-

¹ <https://www2.fbi.gov/hq/isd/cirg/ncavc.htm> (dostęp: 1.06.2017).

dowego, ale i ustalenie pokrewieństwa osób; są one również pomocne w identyfikacji zwłok lub szczątków ludzkich o nieustalonej tożsamości. Zaletą tych badań jest możliwość efektywnego i wiarygodnego oznaczania profili DNA nawet na podstawie niewielkiej ilości materiału biologicznego, który do niedawna nie przedstawiał istotnej wartości dowodowej², także ze względu na wysoki poziom degradacji. Ma to kluczowe znaczenie w kryminalistycznej analizie śladów biologicznych, które wcześniej mogły być badane jedynie metodami wymagającymi zużycia znaczącej ilości materiału. Uzyskanie pozytywnego wyniku oznaczenia profilu DNA umożliwia powiązanie tych śladów czy dowodów rzeczowych z potencjalnym sprawcą przestępstwa lub pokrzywdzonym, a uzyskane informacje stwarzają nowe możliwości działań zespołu „Archiwum X”. Należy odnotować również fakt, że na przestrzeni kilkunastu lat, jakie upłynęły od wprowadzenia badań DNA do praktyki kryminalistycznej, zmianie uległy nie tylko metody i zakres wykonywanych badań, ale również instrumentarium badawcze, sposoby wnioskowania oraz narzędzia statystyczne umożliwiające dokonanie identyfikacji kryminalistycznej. Pozwoliło to na uzyskanie rezultatów badawczych charakteryzujących się wysoką wartością dowodową oraz wiarygodnością w wyniku znaczącego ograniczenia subiektywizmu biegłego podczas procesu wnioskowania. Celem artykułu jest przedstawienie aktualnych możliwości wykorzystania kryminalistycznych badań genetycznych, które mogą zostać zastosowane w procesie wykrywczym w postępowaniach karnych realizowanych przez zespoły „Archiwum X”.

Analiza akt postępowania karnego oraz zgromadzonej dokumentacji pozaprocessowej

Analiza spraw niewyjaśnionych rozpoczyna się od zebrania i kompilacji zgromadzonych podczas postępowania karnego informacji. Niezwykle przydatne są zapiski zamieszczone w protokołach z czynności procesowych, notatkach sporządzanych przez przedstawicieli organów ścigania, szkicach, zdjęciach czy metryczkach dołączonych do zabezpieczonych śladów kryminalistycznych. Spośród wielu rodzajów śladów ujawnionych i zabezpieczonych na miejscu zdarzeń kryminalnych coraz większe znaczenie mają substancje biologiczne. Rozwój technologii badawczych oraz wnioskowania opartego na fundamencie naukowym powoduje, że profil genetyczny można oznaczyć i zinterpretować nawet na podstawie minimalnej ilości ujawnionego materiału biolo-

² M.J. Butler, Y. Shen, R.B. McCord, *The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA*, „Journal of Forensic Sciences” 2003, nr 48 (5), s. 1054–1064.

gicznego³. Pozytywną cechą dla procesu identyfikacji kryminalistycznej jest fakt, iż ślady tego rodzaju powstają często niezależnie od woli uczestników zdarzenia, np. ślady na niedopałkach papierosów, substancja tłuszczowo-potowa na kierownicy lub włosy pozostawione na miejscu zdarzenia. Stąd też w wyniku analizy dokumentacji możliwe jest sprawdzenie, czy tego typu substancje zostały zabezpieczone, oraz oszacowanie prawdopodobieństwa uzyskania wyników nadających się do identyfikacji kryminalistycznej. Warto pamiętać, że na podstawie na przykład dokumentacji fotograficznej stanowiącej załącznik do protokołu oględzin miejsca zdarzenia można z powodzeniem wnioskować o przebiegu i okolicznościach zdarzenia⁴, co daje racjonalną podstawę do selekcji próbek do badań genetycznych. Należy też dodać, że dokumentacja fotograficzna topografii oraz morfologii śladów krwawych, sporządzona w trakcie oględzin miejsca zdarzenia, umożliwi analizę przebiegu i okoliczności samego zajścia, jego dynamizmu, co prowadzi do weryfikacji istniejących wersji śledczych albo do stworzenia nowych. Dzięki pozyskaniu informacji zebranych podczas prowadzonego postępowania biegły otrzymuje dane, na podstawie których może w sposób racjonalny podjąć decyzję o wykonaniu badań próbek substancji.

W trakcie ponownej analizy materiałów spraw prowadzonych przez zespoły z „Archiwum X” warto zwrócić uwagę na to, w jaki sposób ślady biologiczne zostały zabezpieczone. Prawidłowo zabezpieczone zarówno pod względem procesowym, jak i technicznym ślady biologiczne pozwalają bowiem na uzyskanie wiarygodnych wyników badań DNA. Z doświadczeń autorów wynika, że jeśli substancje biologiczne nie były poprawnie zabezpieczone, to w sposób negatywny wpływało to na wyniki badań DNA. Nie tylko sam sposób pakowania, który nie gwarantował ochrony dowodu rzeczowego i jego cech identyfikacyjnych, ale i brak na metryczkach czytelnych i niebudzących wątpliwości oznaczeń oraz deficyt zapisów dotyczących historycznych faktów odnoszących się do materiału dowodowego (np. uprzednie otwieranie kopert i ponowne ich zamykanie) powoduje, że wykonanie badań laboratoryjnych staje się niecelowe. Gdy warunki prawidłowego zabezpieczenia i przechowywania materiału biologicznego są spełnione, to profil DNA, na podstawie którego możliwa będzie identyfikacja kryminalistyczna, można uzyskać nawet po kilkunastu latach.

³ M. Szczepaniec, *Badania genetyczne DNA na użytek procesu karnego*, „Zeszyty Prawnicze” 2013, nr 13 (1), s. 171–184.

⁴ J. Gąsiorowski, *Nowoczesne technologie w kryminalistyce*, „Kultura Bezpieczeństwa. Nauka – Praktyka – Refleksje” 2016, nr 21, s. 73–114.

Identyfikacja rodzajowa śladów biologicznych

Przez wiele lat ujawnianie śladów biologicznych i identyfikacja rodzaju substancji opierały się na metodach optycznych, chemicznych, immunochromatograficznych lub mieszanych (optyczno-chemicznych). Do ujawniania śladów niewidocznych w świetle widzialnym dla ludzkiego oka dużą przydatnością charakteryzuje się wizualizacja substancji biologicznych metodami fluorescencyjnymi, z użyciem odpowiednich filtrów odcinających. Zaletami technik fluorescencyjnych są relatywnie niskie koszty i co najważniejsze, możliwość przeprowadzenia nieniszczących badań na przestrzennym miejscu zdarzenia lub na powierzchni badanego dowodu rzeczowego o znacznych rozmiarach. Pozwala to na ujawnienie i zlokalizowanie oraz określenie morfologii nawarstwień materiału biologicznego powstałych w trakcie zdarzenia lub mających związek z próbą ich usunięcia po zdarzeniu. Warto podkreślić, że wykorzystanie alternatywnego źródła światła w trakcie ponownych oględzin, nawet po upływie długiego czasu, stwarza szanse na ujawnienie śladów, które nie zostały zabezpieczone w trakcie pierwszych czynności procesowych przeprowadzonych po zdarzeniu. Co więcej, próby zacierania śladów biologicznych nie stanowią przeszkody w ich wizualizacji i zabezpieczeniu pełnowartościowego materiału genetycznego⁵.

Obecnie podkreśla się, iż kluczowym problemem w procesie zabezpieczania śladów biologicznych na potrzeby analizy DNA jest pobranie dostatecznej ilości próbki materiału biologicznego w sposób, który minimalizuje ryzyko jego zanieczyszczenia bądź zniszczenia. Wszystkie etapy ujawnienia i zabezpieczenia materiału biologicznego mają istotny wpływ na wyniki badań laboratoryjnych oraz na wyciągnięte wnioski identyfikacyjne. Nierzadko zdarza się tak, iż nie jest możliwe dokonanie na przykład pozytywnej identyfikacji kryminalistycznej ze względu na zastosowanie niewłaściwej wymazówki czy też nieodpowiedniego opakowania. Należy mieć na uwadze, że materiał biologiczny stosunkowo łatwo ulega procesom degradacji. Czynnikiem, które mają wpływ na ten proces, są wysoka temperatura i duża wilgotność, mikroorganizmy, dla których np. krew stanowi dobrą pożywkę do rozwoju, czynniki fizyczne i chemiczne⁶. Stąd też podczas decydowania o wykonaniu badań genetycznych archiwalnych substancji biologicznych należy zdawać sobie sprawę, że materiał

⁵ M. Szeremet, W. Pepiński, A. Niemcunowicz-Janica, M. Skowrońska, A. Sackiewicz, I. Ptaszyńska-Sarosiek, M. Okłota, *Ocena wizualizacji śladów biologicznych z użyciem alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie ich identyfikacji genetycznej*, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2010, t. LX, s. 248–257.

⁶ I. Bogusz, M. Bogusz, *Technika kryminalistyczna. Ślady biologiczne*, Wydawnictwo Centrum Szkolenia Policji, Legionowo 2013.

dowodowy zabezpieczony wiele lat temu może nie spełniać wymogów obowiązujących przy aktualnie stosowanych metodach badań. Dotyczy to szczególnie możliwości wystąpienia zjawiska kontaminacji. Jest to niepożądany proces polegający na niekontrolowanym zmieszaniu, skrzyżowaniu różnorodnych substancji biologicznych w nową całość. Gdy do takiego zjawiska dojdzie w laboratorium genetycznym, możliwe będzie jego zdiagnozowanie, natomiast podczas etapu ujawniania i zabezpieczania śladu kryminalistycznego w praktyce nie ma możliwości sprawdzenia, czy nie doszło do zanieczyszczenia próbki egzogennym materiałem biologicznym. Kontaminacja jest głównym źródłem uzyskiwania błędnych wyników i niedokładności podczas procesu wnioskowania. Jej źródłem mogą być zarówno osoby biorące udział w czynnościach, jak i narzędzia i odczynniki, którymi się posługują⁷. Ze względu na ogromną czułość metod analiz genetycznych istotne jest ujawnienie i zabezpieczenie śladów biologicznych zgodne z procedurami oraz ich późniejsze badania laboratoryjne w systemie dobrej praktyki laboratoryjnej.

Problemem, z którym zmagają się biegli w trakcie analizy archiwalnych śladów biologicznych, jest częsty brak możliwości prawidłowej identyfikacji rodzaju substancji biologicznych i jej przynależności gatunkowej. Testy wstępne określające jedynie rodzaj substancji biologicznej nie mają charakteru specyficznego. Oznacza to, iż margines popełnienia błędu jest duży. Zasadniczą trudnością w interpretacji wyników metod niespecyficznych jest sytuacja, w której wynik pozytywny nie jest jednoznaczny z identyfikacją ujawnionego śladu biologicznego, a wynik negatywny nie oznacza jej braku. Może wówczas wystąpić zjawisko fałszywie dodatnich i ujemnych wyników spowodowanych reakcją z innymi substancjami niż poszukiwane. Także podłoże, na którym występuje ślad, może wchodzić w reakcje chemiczne, które zmieniają lub niszczą cechy pierwotne śladu biologicznego. W związku z powyższym dobór metody jest uzależniony od rodzaju śladu biologicznego, jego wielkości i ilości, a także od rodzaju podłoża, na którym on występuje, co nie zawsze przynosi spodziewane efekty w postaci identyfikacji rodzajowej materiału biologicznego. Problemem jest też destrukcyjny charakter wielu testów wstępnych, szczególnie gdy mamy do czynienia z niewielką ilością badanego materiału⁸. Sytuacja małej wiarygodności wyników odnosi się także do testów identyfikujących przynależność gatunkową substancji. Wynika to z faktu, że standardowo stosowane metody badawcze opierają się na reakcjach immunochromatograficznych. Pro-

⁷ R. Pawłowski, A. Dettlaff-Kąkol, R. Paszkowska, Z. Jankowski, *Błąd przedlaboratoryjny w genetyce sądowej. Kontaminacja materiału biologicznego na sali sekcyjnej*, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2001, nr 4, s. 369–376.

⁸ R. Włodarczyk, *Kryminalistyczne ślady biologiczne „portretem” sprawców zabójstw i innych przestępstw*, „Annales Academiae Medicae Stetinesis” 2007, Suppl. 2, s. 159–165.

cesy degradacji chemicznej czy fizycznej powodują, iż wyniki nie zawsze są adekwatne do rzeczywistości. Powyższa sytuacja spowodowała, że rozpoczęto poszukiwania bardziej wiarygodnych i obiektywnych metod identyfikacji śladów biologicznych. Na szczególną uwagę zasługuje technika detekcji w oparciu o obecność w śladzie biologicznym specyficznych dla danych tkanek cząsteczek mRNA. Podstawą metody identyfikacji płynów biologicznych przez profilowanie mRNA jest fakt, że komórki obecne w różnych płynach biologicznych wykazują specyficzny wzór ekspresji genów i syntezują białka w charakterystycznych dla nich ilościach⁹. Jak dotąd zidentyfikowano kilkadziesiąt markerów mRNA charakterystycznych dla poszczególnych rodzajów materiału biologicznego. Wśród zalet tej metody, oprócz specyficzności i czułości (dzięki zastosowaniu reakcji amplifikacji metodą PCR), należy wymienić również łatwość analizy. Konsekwencją tych zalet jest możliwość uzyskania pozytywnego wyniku badań genetycznych z próbek archiwalnych. Wysoka wiarygodność metody identyfikacyjnej wynika z istnienia unikatowego wzoru ekspresji genów dla komórek i organów o różnych funkcjach. Na analizę RNA składają się następujące etapy: izolacja RNA, odwrotna transkrypcja, pomiar ilości, powielanie określonych transkryptów i detekcja amplikonów. W przypadku gdy ilość badanego materiału biologicznego jest znikoma, możliwość jednoczesnej amplifikacji RNA i DNA pozwala na uniknięcie strat materiału badawczego¹⁰.

Znaczenie sekwencji mikrosatelitarnych

W genomie człowieka wyróżnia się sekwencje powtórzone, które występują w wielu kopiach i charakteryzują się określoną długością, rodzajem oraz układem nukleotydów. Większość z nich nie koduje białek. Wśród sekwencji powtórzonych wyróżnić można:

- sekwencje rozproszone, w których elementy powtarzające się są oddzielone od siebie innymi sekwencjami,
- sekwencje tandemowe, gdzie motywy powtarzające się są ułożone obok siebie.

Powtórzenia tandemowe to zblokowane, seryjne powtórzenia krótkiej sekwencji nukleotydów, wśród których wyróżnia się sekwencje mikrosatelitarne. Sekwencje, zwane również STR (ang. *short tandem repeats*), składają się

⁹ J. Juusola, J. Ballantyne, *Multiplex mRNA profiling for the identification of body fluids*, „Forensic Science International” 2005, t. 152, s. 1–12.

¹⁰ J. Jakubowska, A. Maciejewska, R. Pawłowski, *mRNA profiling in identification of biological fluids in forensic genetics*, „Problems of Forensic Sciences” 2011, t. LXXXVII, s. 204–215.

z powtarzających się motywów zawierających od 2 do 12 par zasad. Liczba powtarzających się sekwencji zwykle waha się w granicach od 10 do 50, a ich długość całkowita wynosi 50–500 par zasad¹¹. Sekwencje te zlokalizowane są częściej w euchromatinie, występują też w centromerach i telomerach. Mikrosatelity mogą występować jako powtórzenia identycznych sekwencji lub przedzielone krótkimi wstawkami składającymi się z kilku nukleotydów. W formie złożonej sekwencji występują jako ciągi dwóch lub więcej rodzajów powtarzających się motywów. Ocenia się, że wszystkie sekwencje typu STR obejmują łącznie około 3% ludzkiego genomu¹². Zarówno zawartość, jak i rozmieszczenie różnych powtórzeń tego typu w genomie są silnie zróżnicowane, występują najczęściej w regionach niekodujących. Wyjątkiem są tutaj ciągi powtórzeń trój- i sześcionukleotydowych, które są niemal dwukrotnie częstsze w eksonach niż w intronach i regionach międzygenowych. Ich pozytywna selekcja w eksonach sugeruje, że mogą one mieć znaczenie funkcjonalne i pełnią funkcję regulatorową. Istotną konsekwencją zgromadzeniach jednostek powtórzonych w regionach niekodujących jest ich selektywna obojętność i związana z tym możliwość swobodnej ewolucji zgodnie z modelem naturalnym¹³. Wysoka podatność ciągów prostych powtórzeń sekwencji na mutacje i wynikający z niej polimorfizm długości czynią z sekwencji powtarzających się bogate źródło zmienności genotypowej¹⁴.

Warto podkreślić, że z wyjątkiem bliźniąt monozygotycznych istnienie dwóch osób nawet spokrewnionych ze sobą, które miałyby taką samą kombinację alleli mikrosatelitarnych, jest wysoce nieprawdopodobne. Analiza dużej liczby (np. 20) polimorficznych układów mikrosatelitarnych pozwala zatem ustalić unikatowy profil genetyczny dla każdego człowieka. W związku z powyższym wydaje się oczywiste, że badania genetyczne powinny być, wszędzie tam, gdzie jest to możliwe, wykorzystywane w działaniach zespołów „Archiwum X”¹⁵. Na ich podstawie możliwa będzie kryminalistyczna identyfikacja indywidualna bądź grupowa.

¹¹ M. Korytko, I. Łączmańska, *Sekwencje mikrosatelitarne i ich wykorzystanie w diagnostyce medycznej*, „Kosmos” 2016, nr 65 (1), s. 11–16

¹² J.E. Lygo, P.E. Johnson, D.J. Holdaway, S. Woodroffe, J.P. Whitaker, T.M. Clayton, C.P. Kimpton, P. Gill, *The validation of short tandem repeat (STR) loci for use in forensic casework*, „International Journal of Legal Medicine” 1994, nr 107, s. 77–89.

¹³ N. Morling, *Amplification of short tandem repeat loci using PCR*, „Methods in Molecular Biology” 1998, nr 98, s. 173–180.

¹⁴ F.A. Palazzo, T.R. Gregory, *The case for junk DNA*. PLOS Genetics Published: 2014, May 8. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.100435>.

¹⁵ T. Kupiec, W. Branicki, *Badania genetyczne domniemanych szczątków generała Władysława Sikorskiego*, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2009, t. LIX, s. 9–14.

Metody analizy DNA przydatne w działaniach „Archiwum X”

Analiza polimorficznych sekwencji mikrosatelitarnych DNA jądrowego techniką PCR jest aktualnie metodą z wyboru w badaniach zmierzających do ustalenia pokrewieństwa i powiązania śladu biologicznego z dawcą zabezpieczonego materiału dowodowego. Wykorzystywane są zestawy odczynników do analiz sekwencji typu STR zlokalizowanych zarówno na chromosomach autosomalnych, jak i chromosomach płci: Y i w mniejszym zakresie na chromosomie X. Zastosowanie reakcji PCR pozwala na określenie genotypów szeregu loci DNA nawet z bardzo małych i starych śladów biologicznych¹⁶. W praktyce „Archiwum X” nierzadko zdarzają się sytuacje, kiedy w aktach spraw znajdują się zabezpieczone ślady biologiczne, często zawierające niewielką ilość substancji biologicznych pozostałą po innych badaniach kryminalistycznych (na przykład serologicznych). Zazwyczaj materiał biologiczny jest zdegradowany, a jego ilość – niewystarczająca do rutynowej analizy standardowym zestawem markerów STR. W takiej sytuacji laboratoria mogą wykonać badania panelem markerów STR, które w swoim składzie zawierają loci miniSTR. Są to markery, które pozwalają na amplifikację produktów PCR znacznie krótszych w zakresie długości 50–150 par zasad, gdy standardowo używane zestawy odczynników generują produkty amplifikacji w zakresie długości od 100 do 450 par zasad. Wykorzystanie zestawów multipleksowych zawierających dużą liczbę tzw. miniSTR ma za zadanie poprawienie wyników analizy STR w przypadkach, gdy w wyniku działania czynników zewnętrznych doszło do degradacji DNA. Przykładem takich paneli są zestawy zawierające 21 lub 22 autosomalnych markerów STR, locus Y-STR i locus amelogeniny do oznaczania płci.

W sytuacji gdy zostaną ujawnione ślady linii papilarnych naniesione na dowody rzeczowe zabezpieczone na miejscach zdarzenia kryminalnego, lecz nie nadają się one do daktyloskopijnych badań identyfikacyjnych ze względu na zbyt małą liczbę minucji, metodą z wyboru jest wykorzystanie analizy DNA określanej mianem LCN (Low Copy Number). Metoda LCN-DNA różni się od standardowych analiz STR przede wszystkim zwiększeniem liczby cykli termicznych PCR. Pozwala to na uzyskiwanie układu cech polimorficznych już z kilkudziesięciu pikogramów DNA, czyli w teorii z kilku komórek. Dodanie sześciu cykli termicznych do standardowego protokołu zwalidowanego na 28 cykli skutkuje teoretycznie 64-krotnym wzrostem ilości produktu PCR, jednakże zazwyczaj towarzyszą mu niekorzystne zjawiska, takie jak wypadanie alleli i pojawianie się dodatkowych pików, obecność pików pochodzących od nie-

¹⁶ D.M. Coble, M.J. Butler, *Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA*, „Journal of Forensic Sciences” 2005, nr 50 (1), s. 43–53.

specyficznych produktów amplifikacji, a także dysproporcje sygnałów w heterozygotach. Stwarza to poważne problemy interpretacyjne, a ponadto obniża wiarygodność rezultatów. Technika LCN stosowana jest przede wszystkim w odniesieniu do pojedynczych komórek nabłonkowych znajdujących się np. w substancji tłuszczowo-potowej naskórka lub materiału biologicznego zawierającego znikome ilości zdegradowanego DNA¹⁷.

W sytuacji kiedy nie ma możliwości wykonania badania DNA jądrowego, możliwe jest zastosowanie analizy mtDNA z wykorzystaniem reakcji sekwencjonowania. Budowa mtDNA różni się istotnie od struktury DNA jądrowego. Ma kolistą strukturę i przyjmuje superskręconą konformację przestrzenną, co zapewnia wyższą odporność na degradację w stosunku do DNA jądrowego. Wyzolowany mtDNA amplifikuje się z użyciem starterów specyficznych dla zmiennych regionów HV1, HV2 i HV3, które znajdują się wewnątrz pętli D, tzw. regionu kontrolnego. Produkty amplifikacji poddaje się sekwencjonowaniu, a następnie rozdziawowi elektroforetycznemu. Dzięki specjalistycznemu oprogramowaniu biegly uzyskuje informację o ułożeniu kolejnych nukleotydów w badanym fragmencie nici DNA, a punktem odniesienia jest Sekwencja Referencyjna z Cambridge, tzw. CRS (ang. Cambridge Reference Sequence). Stanowi ona standard, z którym zestawiane są wszystkie nowo zsekwencjonowane haplotypy¹⁸.

Z uwagi na sposób dziedziczenia tylko w linii matczynej uzyskany w badaniu profil mtDNA nie pozwala jednoznacznie wskazać osoby, od której pochodzi zabezpieczony ślad biologiczny. Jednak, co ważne, badanie to umożliwia wykluczenie z kręgu typowanych osób. Ze względu na występowanie wielu kopii badania DNA mitochondrialnego dają większe szanse powodzenia w przypadku silnie zdegradowanego materiału biologicznego, który nie może zostać wykorzystany do analizy DNA jądrowego. Analiza taka jest przydatna przede wszystkim w badaniach materiałów z ekshumacji (kości, zęby), a także włosów pozbawionych cebulek. W przypadku włosów wypadłych czy niewielkich fragmentów trzonu włosa (o długości poniżej 2,5 cm) analiza mtDNA jest metodą z wyboru. Podobną procedurę można zastosować w przypadku badania materiału kostnego. Należy podkreślić, że przydatność tych badań w działaniach „Archiwum X” ma znacznie mniejszą wartość identyfikacyjną niż analiza DNA jądrowego¹⁹.

¹⁷ B. Budowle, J.A. Eisenberg, A. van Daal, *Validity of low copy number typing and applications to forensic science*, „Croatian Medical Journal” 2009, nr 50 (3), s. 207–217.

¹⁸ K. Gawęda-Walerych, I. Sołtyśzewski, *Zastosowanie analizy mitochondrialnego DNA w badaniach kryminalistycznych – perspektywy*, „Problemy Kryminalistyki” 2005, nr 248, s. 5–13.

¹⁹ K. Skonieczna, J. Bednarek, U. Rogalla, M. Woźniak, M. Gorzkiewicz, K. Linkowska, A. Dułęba, K. Śliwka, T. Grzybowski, *Wykorzystanie osiągnięć genomiki mitochondrialnej w ba-*

Baza danych DNA

Baza danych DNA stanowi istotny element w zakresie wspomagania procesu wykrywczego, m.in. w dochodzeniu sprawstwa przestępstw, rodzicielstwa, pokrewieństwa, osób zaginionych oraz zwłok i szczątków ludzkich. W związku z powyższym zespoły „Archiwum X” systematycznie korzystają z zasobów bazy. Należy podkreślić, że zasadniczą funkcjonalnością bazy danych DNA jest identyfikacja danej osoby jako podejrzanej o dokonanie przestępstwa, identyfikacja osób o nieustalonej tożsamości, usiłujących ukryć swoją tożsamość, oraz identyfikacja zwłok i szczątków ludzkich²⁰. Kluczowe znaczenie ma możliwość kojarzenia zapisanych w niej profili genetycznych, a w szczególności:

- śladów zabezpieczonych na miejscu zdarzenia z osobą;
- śladów zabezpieczonych na różnych miejscach zdarzeń na terytorium Europy;
- oznaczonych w trakcie badań profili DNA z profilami już zarejestrowanymi w bazie w związku z realizacją innych czynności policyjnych;
- zwłok o nieustalonej tożsamości z ewentualną rodziną – w celach identyfikacyjnych.

Baza profili genetycznych DNA umożliwia zatem optymalizację procesu wykrywczego dzięki powiązaniu śladów z podejrzanymi, łączeniu spraw traktowanych wcześniej jako odrębne i wreszcie umożliwieniu identyfikacji osób, N.N. zwłok i szczątków ludzkich. Kluczową kwestią jest efektywność wykorzystania bazy danych DNA, która w dużej mierze zależy od liczby zgromadzonych w niej profili DNA. Od wielu lat notuje się bardzo niski odsetek populacji polskiej, której profile DNA znajdują się w bazie, co skutkuje też stosunkowo niską efektywnością jej wykorzystania²¹.

Perspektywy rozwoju badań genetycznych

Genetyka, jak każda gałąź nauki, podlega ciągłemu rozwojowi. Nieustannie rozszerzane są horyzonty tej dziedziny. Powstaje coraz więcej nowych metod badawczych wykorzystujących najnowsze osiągnięcia nauki. Dla zespołów „Archiwum X” istotne znaczenie ma możliwość poszerzenia zasobu informacji

daniach genetyczno-sądowych opartych na analizie sekwencji ludzkiego mitochondrialnego DNA, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2012, t. LXII, s. 213–218.

²⁰ M. Goc, H. Dąbrowska, *Polska baza DNA – dziś i jutro*, „Problemy Kryminalistyki” 2002, nr 237, s. 5–7.

²¹ F. Santos, H. Machado, S. Silva, *Forensic DNA databases in European countries: is size linked to performance?*, „Life Sciences. Society and Policy” 2013, nr 9, s. 12.

możliwych do uzyskania w trakcie badań genetycznych. Nowoczesne metody analityczne, które są wprowadzane do praktyki, pozwalają nie tylko na genotypowanie (oznaczanie profilu DNA), ale i oznaczanie cech fenotypowych. Metody te zostały zdefiniowane jako fenotypowanie DNA dla celów kryminalistycznych (forensic DNA phenotyping – FDP). Wśród nich na szczególną uwagę zasługują te, na podstawie których możliwe staje się określenie pochodzenia biogeograficznego, predykcja pigmentacji (koloru oczu, włosów i skóry), a także przybliżanie chronologicznego wieku człowieka. Mimo iż nie są one standardem w kryminalistycznych badaniach genetycznych, to jednak pozwalają na uzyskanie względnie wiarygodnych rezultatów i mogą być stosowane również do analizy starego materiału kostnego²².

W ostatnich latach genetycy coraz większą uwagę skupiają na zastosowaniu analizy DNA roślin i zwierząt w procesie wykrywczym. Obecne metody analizy DNA dają możliwość zidentyfikowania gatunku danej rośliny lub zwierzęcia oraz miejsca ich występowania na podstawie przeprowadzonych badań śladów pozostawionych na ofierze, sprawcy lub przedmiotach przestępstwa. Do tego typu badań wykorzystuje się DNA rośliny lub zwierzęcia, zarówno jądrowy, jak i mitochondrialny, a w przypadku roślin także chloroplastowy²³.

Podsumowanie

Wiele niewyjaśnionych spraw, którymi zajmują się zespoły „Archiwum X”, zostało rozwiązanych dzięki intensywnej pracy funkcjonariuszy zarówno pionu kryminalnego, jak i dochodzeniowo-śledczego, ale również przy aktywnym udziale biegłych z laboratoriów kryminalistycznych. Do zadań laboratoriów kryminalistycznych należy wykonanie współczesnymi metodami badań śladów kryminalistycznych zabezpieczonych w tych postępowaniach. Należy podkreślić, że dzięki wykorzystaniu badań genetycznych w analizie śladów biologicznych możliwe jest odtworzenie przebiegu zdarzenia, zidentyfikowanie osób w nim uczestniczących i ostateczne ustalenie podczas rozprawy sądowej sprawcy zdarzenia. Metody badań genetycznych są ciągle doskonalone, co pozwala na wykonanie oznaczenia profilu DNA nawet na podstawie niewielkiej ilości materiału biologicznego ujawnionego na miejscu zdarzenia. W ostatnich latach wdrożono również nowe markery, które umożliwiają predykcję cech fenotypowych. Można przypuszczać, że coraz bardziej wyrafinowane metody

²² W. Branicki, E. Pośpiech, T. Kupiec, J. Styrna, *Nowy wymiar ekspertyzy DNA – potrzeba szkoleń ekspertów i odbiorców ekspertyz*, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2014, nr 64 (3), s. 175–194.

²³ W. Branicki, T. Kupiec, P. Wolańska-Nowak, *Badania DNA dla celów sądowych*, Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków 2008.

badan genetycznych będą w coraz szerszym zakresie wykorzystywane w bieżącym procesie wykrywczym, jak również w rozwiązywaniu niewyjaśnionych spraw archiwalnych.

Streszczenie

Celem niniejszego opracowania jest analiza aktualnych możliwości wykorzystania badań genetycznych na potrzeby zespołów określanych jako „Archiwum X”. Zaletą tych badań jest fakt, że istnieje realna możliwość uzyskania profilu DNA nawet z niewielkiej ilości materiału biologicznego zabezpieczonego w trakcie oględzin miejsca zdarzenia. Aktualnie stosowane metody pozwalają również na badania śladów biologicznych, w których DNA uległ znaczącej degradacji.

Słowa kluczowe: „Archiwum X”, analiza DNA, STR, profil DNA, baza danych DNA

Summary

The aim of this study is the analysis of current possibilities of using genetic studies to needs of teams called the “X Archive”. These examinations have an advantage implied by fact, that they give a real opportunity of getting of the profile the DNA from even a small amount of the biological material frozen in the course of the inspection of the crime scene. Currently applied methods also let for the examinations of biological tracks in which the DNA is degraded.

Keywords: “X Files”, DNA analysis, STR, DNA profile, DNA database