

Optymalizacja procesu identyfikacji genetycznej NN zwłok i szczątków ludzkich.

W pracy przedstawiono nowatorskie podejście do identyfikacji NN szczątków ludzkich na przykładzie ofiar masowych egzekucji z okresu Wielkiego Terroru w Adżarii (Gruzja), realizowanego w ramach międzynarodowego projektu Georgian Recovery, Documentation and Identification Project.

Celem badań realizowanych w ramach pracy doktorskiej było opracowanie i weryfikacja schematu analitycznego umożliwiającego skuteczną identyfikację genetyczną NN zwłok i szczątków ludzkich z materiału archiwalnego. W tego typu sprawach problemem jest nie tylko stopień zachowania materiału biologicznego szczątków, ale również ograniczona dostępność próbek referencyjnych od krewnych ofiar, co stanowi wyzwanie dla biegłych wykonujących badania identyfikacyjne.

Materiał badawczy obejmował 28 szkieletów mężczyzn ekshumowanych w 2021 roku na terenie dawnej bazy wojskowej w Adżarii oraz próbki biologiczne pobrane od 58 osób należących do 20 rodzin poszukujących swoich bliskich. Do analizy laboratoryjnej wykorzystano komercyjne zestawy odczynników do amplifikacji i oznaczania markerów STR autosomalnych (GlobalFiler™) oraz markerów zlokalizowanych na chromosomie Y (Yfiler™ Plus). W badaniach wykorzystano również zestaw do amplifikacji markerów iiSNP (Precision ID Identity) i ich sekwencjonowania z zastosowaniem NGS. Producentem tych odczynników jest firma Thermo Fisher Scientific. Ponadto do badań wykorzystano nieskomercjalizowany zestaw odczynników (KinFinder) opracowany przez Laboratorium Diagnostyki Molekularnej GenMed sp. j. Analizy statystyczne zostały wykonane z użyciem oprogramowania Familias, FamLink2, KinBN i pakietu pedbuildr w środowisku R, umożliwiającego symulacje pokrewieństw i ocenę siły dowodu dla złożonych struktur genealogicznych.

Zastosowany schemat badawczy umożliwił uzyskanie jednoznacznych identyfikacji dla wszystkich 17 rodzin poszukujących krewnych znajdujących się na liście egzekucyjnej przypisanej do analizowanej jamy grobowej.

Symulacje IBD oraz analizy pokrewieństw pozwoliły potwierdzić relacje rodzinne w większości przypadków i ujawniły błędne założenia genealogiczne w kilku przypadkach. Przeprowadzona analiza pochodzenia biogeograficznego potwierdziła zgodność genetyczną badanej grupy z populacją gruzińską.

Integracja klasycznych i nowoczesnych metod genetycznych, wsparta poszerzoną analizą biostatystyczną, pozwoliła na uzyskanie wiarygodnych wyników identyfikacyjnych nawet w warunkach ograniczonej ilości i jakości materiału biologicznego. Zastosowanie programów

statystycznych oraz narzędzi symulacyjnych (pedbuildr) umożliwiło dokładniejsze odwzorowanie rzeczywistych relacji rodzinnych, co znacząco zwiększyło moc dowodową analiz. Zastosowane podejście może być z powodzeniem implementowane w sprawach identyfikacyjnych.

Z przeprowadzonych badań wynika, że opracowany zintegrowany model analityczny, łączący analizy STR, Y-STR i SNP z symulacjami pokrewieństw, skutecznie przewyższa ograniczenia tradycyjnych metod identyfikacyjnych genetycznych i pozwala na uzyskanie wiarygodnych wyników nawet przy niskiej zawartości DNA oraz w przypadkach dalszego pokrewieństwa. Symulacje genealogiczne w środowisku R stanowią efektywne narzędzie wspomagające interpretację danych, a zastosowanie kilku niezależnych programów statystycznych potwierdza spójność i powtarzalność uzyskanych wartości LR. Wyniki badań dowodzą, że skuteczna identyfikacja NN zwłok i szczątków ludzkich z materiałów archiwalnych, jest możliwa mimo znacznego upływu czasu od zgonu, pod warunkiem zastosowania kompleksowego, wieloetapowego podejścia analitycznego. Opracowany model może stanowić gotowy schemat działania w przyszłych projektach dotyczących identyfikacji NN szczątków ludzkich.