



ПОЛИМОРФИЗМ ДНК СОБАК (*CANIS FAMILIARIS*) И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ. IV. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК

¹Сахабутдинова А.Р., ²Чемерис Д.А., ¹Гарафутдинов Р.Р.,
^{3,4}Алексеев Я.И., ⁵Гиниятов Ю.Р., ⁶Аминев Ф.Г., ¹Чемерис А.В.*

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 71

*E-mail: chemeris@anrb.ru

²ООО «Максим Медикал», Россия, 123423, Москва, ул. Народного Ополчения, д. 34, стр. 1

³ООО «Синтол», Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

⁴Институт аналитического приборостроения Российской академии наук,
Россия, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д. 31/33

⁵ООО Рамстор, 450064, Уфа, ул. Мира, 14

⁶Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Башкирский государственный университет, Россия, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32

Резюме

Кратко рассмотрена структурная организация митохондриального генома собак, уделив большее внимание его вариабельным участкам, включая контрольный регион и гипервариабельные области HV1 и HV2, а также блок тандемных декамерных повторов и гомополимерный тракт из цитозинов и тиминов. Отмечено, что обнаруживаемый полиморфизм митогеномов и формируемые клады с гаплотипами за небольшими исключениями практически не связаны с породами собак и их географическим местом проживания. В целом полиморфизм митохондриальной ДНК собак не позволяет однозначно идентифицировать конкретную особь и в криминалистике в большинстве случаев возможно с той или иной вероятностью, зависящей от берущихся в анализ вариабельных областей, лишь исключать из дальнейшего исследования подозреваемых собак, которые могли бы вывести на их хозяев. Причем для этого создаются популяционные базы данных митогеномов собак, по которым можно высчитывать вероятности совпадения гаплотипов. Приведены примеры отдельных случаев расследования преступлений, в которых использовался полиморфизм ДНК собак, в том числе закончившихся вынесением обвинительного приговора. Обращено внимание на необходимость более широкого внедрения в криминалистическую практику исследований ДНК собак, которую эксперты могут получать из оставляемых собаками следов преимущественно в виде слюны или шерсти (отдельных шерстинок).

Ключевые слова: собака, собачий, *Canis familiaris*, мтДНК, митохондриальный геном, митогеном, полиморфизм, криминалистика

Цитирование: Сахабутдинова А.Р., Чемерис Д.А., Гарафутдинов Р.Р., Алексеев Я.И., Гиниятов Ю.Р., Аминев Ф.Г., Чемерис А.В. Полиморфизм ДНК собак (*Canis familiaris*) и его применение. IV. Митохондриальная ДНК // *Biomics*. 2021. Т.13(3). С.347-359. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-24

© Авторы

DNA POLYMORPHISM OF DOGS (*CANIS FAMILIARIS*) AND ITS APPLICATION. IV. MITOCHONDRIAL DNA

¹Sakhabutdinova A.R., ²Chemeris D.A., ¹Garafutdinov R.R.,
^{3,4}Alexeev Ya.I., ⁵Giniyatov Yu.R., ⁶Aminev F.G., ¹Chemeris A.V.

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
71 Pr. Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia, E-mail: garafutdinovr@mail.ru

²Maxim Medical LLC, 34-1 Narodnogo Opolcheniya str., Moscow, 123423, Russia

³Syntol LLC, 42 Timiryazevskaya str., 127550, Moscow, Russia

⁴Institute for Analytical Instrumentation RAS, 31/33 Ivana Chernyh str., 198095, St. Petersburg, Russia

⁵Ramstor LLC, 14 Mira str., 450064, Ufa, Russia

⁶Bashkir State University, 32 Zaki Validi str., 450076, Ufa, Russia

Resume

The structural organization of the mitochondrial genome of dogs is briefly considered, paying more attention to its variable areas, including the control region and its hypervariable parts HV1 and HV2, as well as a block of tandem decameric repeats and a homopolymer tract of cytosines and thymines. It is noted that the detected polymorphism of mitogenomes forming the clades with haplotypes, with few exceptions, are practically unrelated to dog breeds and their geographical place of residence. In general, the polymorphism of the mitochondrial DNA of dogs does not allow unambiguously identifying a specific individual and in criminalistics, in most cases, it is possible with one or another probability, depending on the variable areas taken into analysis, only to exclude suspected dogs that could lead to their owners from further investigation. Moreover, this requires the creation of population databases of canine mitogenomes, which can be used to calculate the probability of coincidence of haplotypes. Examples of individual cases of investigation of crimes in which polymorphism of DNA of dogs were used, including those that ended with a conviction, are given. Attention is drawn to the need for wider introduction into forensic practice of usage of canine DNA, which can be obtained from traces left by dogs mainly in the form of saliva or wool (individual hairs).

Keywords: dog, canine, *Canis familiaris*, mtDNA, mitochondrial genome, mitogenome, polymorphism, criminalistics

Citation: Sakhabutdinova A.R., Chemeris D.A., Garafutdinov R.R., Giniyatov Yu.R., Aminev F.G., Chemeris A.V. DNA polymorphism of dogs (*Canis familiaris*) and its application. IV. Mitochondrial DNA. *Biomcs*. 2021. V.13(3). P.347-359. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-24 (In Russian)

© The Authors

Введение

Особенностями митохондриального генома собак является его небольшой размер; высокая копияность, достигающая до 1000 копий на клетку и более; наследование по материнской линии¹; отсутствие рекомбинации; гетероплазмия. Известно также, что в ядерном геноме разных организмов, включая собак, присутствуют некие и даже довольно протяженные фрагменты митохондриального генома, получившие название Numt (Nuclear insert of mitochondrial DNA) [Ishiguro et al., 2002; Verscheure et al., 2015b] и именно они могут быть ответственными

за ложную гетероплазмия и в еще большей степени за сомнительное патрилинейное наследование, передаваясь потомству в этом случае на самом деле через ядерную ДНК, поскольку с помощью обычной ПЦР путем детекции отдельных участков митогенома подобные тонкости выяснить практически невозможно. Тем не менее, митохондриальная ДНК собак находит некоторое применение в криминалистике благодаря своей лучшей сохранности, что бывает крайне важно для экспертов, которым иногда приходится иметь дело со старыми или разрушенными образцами либо крайне малым их количеством, выделить из которых ядерную ДНК хорошего качества бывает весьма затруднительно.

Организация митогенома собаки

По своей структурной организации и по размерам кольцевой митохондриальный геном собак

¹ Обсуждаемое в литературе патрилинейное наследование митохондриальной ДНК все же скорее является артефактом или оно если и происходит, то настолько редко, что им можно пренебрегать даже в криминалистических исследованиях.

очень похож на подобные геномы других млекопитающих, включая человека.

Впервые митогеном собаки полностью был секвенирован в 1997 г. [Kim et al., 1998] и та последовательность была депонирована в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/7534303>), в настоящее время считаясь в виде немного уточненной позже версии U96639.2 референсной, имея размер 16727 п.н. Согласно уточненным данным некодирующий участок митогенома собак протяженностью 1270 пар нуклеотидов находится в положениях от 15458 до 16727 п.н. кольцевого генома. Он носит название «контрольного региона» или D-петли и представляет наибольший интерес для ДНК-криминалистики, поскольку характеризуется повышенным полиморфизмом, неся два гипервариабельных участка HV1 и HV2. Однако указанный здесь его размер (1270 п.н.) присущ именно референсному геному, поскольку в этом регионе находятся tandemные повторы с декамерными слегка отличающимися нуклеотидными мотивами, обеспечивающими заметную вариабельность по длине как этого контрольного региона, так и всей митохондриальной ДНК, вызывая к тому же гетероплазмю (рис.)



Рис. Упрощенная схема организации контрольного региона с прилегающими участками референсного митогенома собаки. Масштаб не соблюден (остальные пояснения в тексте)

Fig. Simplified scheme of organization of control region with flanking areas of reference mitochondrial canine genome. The scale is not observed (other explanations in the text)

Присущая митохондриальным геномам гетероплазмия проявляется также и в том, что у собак в разных тканях могут иметься точечные мутации в виде однонуклеотидных замен и инделов, приводя к тому, что одна особь в целом несет неодинаковые митохондрии [Klüttsch et al., 2011; Spicer et al., 2014]. Другие различия митогеномов собак по длине возникают благодаря несколько отличающимся гомополимерным трактам из остатков цитозина и тимина – polyC-polyT-polyC, который в референсном геноме представлен следующей последовательностью – CCCTTTTTTTTCCC (3C8T3C), которую условно можно считать канонической.

Полиморфизм митохондриального генома собак

Прежде всего, следует отметить, что полиморфизм митохондриальных геномов собак в целом ниже, чем у человека, объяснение чему обычно находят в том, что собаки как отдельный вид или подвид в семействе псовых возник всего около 15 тысяч лет назад², тогда как человек эволюционировал уже 150 тысяч лет. Хотя нужно признать, что в вопросах происхождения собак довольно много неясного, о чем уже говорилось в других наших статьях, посвященных, в том числе геномам собак и некоторым прочим вопросам [Гиниятов и др. (Giniyatov et al.), 2021; Чемерис и др. (Chemeris et al.), 2021]. Здесь лишь напомним, что на основе полиморфизма митохондриальной ДНК, собаки сначала были подразделены на четыре клады [Okumura et al., 1996; Vila et al., 1997], затем на шесть [Savolainen et al., 2002] со множеством гаплотипов. На 13 основных клад и субклад A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2, C1, C2, D, E и F предложили подразделить митогеномы собак другие авторы [Fregel et al., 2015]. После масштабного исследования польских авторов с участием одного россиянина [Duleba et al., 2017], в ходе которого были секвенированы полные митогеномы 120 собак и привлечены аналогичные данные по еще 435 собакам, было построено приведенное на сайте <http://clf.mtdna.tree.cm.umk.pl/svgtree.html> филогенетическое древо для 555 собак, формирующих шесть клад A, B, C, D, E и F, включающее также гаплогруппы и субгаплогруппы, обозначаемые уже строчными буквами (например, как A1a1b1a1), что позволило упорядочить имеющиеся сведения по митохондриальной ДНК собак. По результатам той работы была создана база данных <http://clf.mtdna.tree.cm.umk.pl/sequences.html>, содержащая ссылки на нуклеотидные последовательности полных митогеномов собак, в настоящее время насчитывающая таковых 831.

Меньший уровень полиморфизма собачьих митогеномов накладывает определенные ограничения на его использование в криминалистике, но довольно большое число работ (к которым ниже перейдем) посвящено поиску вариабельных участков, пригодных для установления принадлежности какой-либо собаки к тому или иному гаплотипу и если не ДНК-идентификации особи, то, по крайней мере, исключения каких-либо собак из дальнейшего анализа при расследованиях.

Длина референсного собачьего митогенома составила 16727 п.н., однако у разных собак она может довольно заметно различаться, главным образом из-за отличающегося числа несовершенных

² хотя существуют и иные точки зрения, по которым собакам тоже более ста тысяч лет

декамерных tandemных повторов 5'-GTACACGTRC-3', которых в референсном геноме оказалось 30 копий. В литературе [Rothuizen et al., 1995] можно встретить и иную последовательность нуклеотидов этих повторов – 5'-ACACGTRCGT-3', но на самом деле в этом случае за начало повторяющегося мотива были просто приняты другие нуклеотиды. Наличие полиморфного нуклеотида R (A или G) позволило оцифровать типы повторов с этими нуклеотидами как «0» и «1» соответственно. В той же статье, в частности для разных пород собак приводятся и различные количества tandemных повторов, которых, например, у одного дирхаунда выявлено 22 копии, отображенные в двоичном формате как F 0111011010111001101000 F, где F – обозначает фланкирующие последовательности. Позже в масштабной работе шведских авторов [Savolainen et al., 2000a] проведено исследование данных tandemных повторов у 14 собак пяти пород (немецкая овчарка, шведская лайка, лабрадор-ретривер, бордер-колли, самоедская собака) и пяти волков в результате чего была обнаружена сильная гетероплазмия, приводящая к тому что у одной из собак в митогеноме выявилось 85 различных вариантов таких повторов с варьированием числа коровых мотивов от 15 до 45, но укладывающихся всего в 14 размерных типов. При этом главные различия заключались в разном чередовании двух типов повторов, обозначенных, как и в цитированной выше работе «0» и «1». Всех полиморфных вариантов tandemных повторов у собак и волков насчитали тогда 384. При анализе родословных удалось идентифицировать типы повторов, которые были унаследованы потомством от матери, и типы повторов, которые оказались результатом соматических мутаций, обнаружив, что на последние приходится около 20% полиморфизма. У волков был выявлен третий тип этого повторяющегося мотива, отличающийся от собачьего с полиморфным аденином еще в одной позиции, что потребовало для митогенома волков для оцифровки tandemных повторов использовать уже троичный код – «0», «1» и «2». Основываясь, в том числе на данных результатах, эти авторы указали на применимость для криминалистики использования не только числа tandemных повторов, но и их отличий по нуклеотидным последовательностям [Savolainen et al., 2000].

Поскольку, как уже говорилось выше, в некоторых случаях экспертам удается исследовать полиморфизм только митохондриальной ДНК, а он заметно меньше ядерного, то этим объясняется довольно большое число публикаций, в которых в митохондриальных геномах производился поиск наиболее вариабельных участков, пригодных для криминалистических целей, но все же не

позволяющих идентифицировать конкретную особь, а лишь исключить из дальнейшего анализа тех собак, у которых обнаружались расхождения со сравниваемым образцом. В случае совпадения полиморфных сайтов для исключения таких собак из дальнейшего расследования необходимо опираться на частоты встречаемости выявленных гаплотипов, для чего фактически в каждой работе, в ходе выполнения которой исследовалось большое число собак, создавались локальные базы данных с распределением информации по породам и по географическому месту изъятия биологического образца собаки. При этом предлагалось как-то стандартизировать помещаемые в них данные, например по D-петле [Pereira et al., 2004]. Часть таких работ можно сгруппировать по выбранным в них мишеням, среди которых, во-первых, нуклеотидные последовательности полных митогеномов собак, во-вторых, нуклеотидные последовательности всего контрольного региона, в-третьих, гипервариабельные участки HV1 и HV2, либо только первый из них, а также участки tandemных повторов и (ди)гомополимерный тракт. Наконец, в ряде статей сообщалось о поиске полиморфных сайтов только в кодирующей области митогенома в дополнение к контрольному региону.

В одной из работ у 100 собак были секвенированы их полные митогеномы, в которых за пределами контрольного региона был обнаружен 71 однонуклеотидная замена или сдвиг [Imes et al., 2012]. Взяв дополнительно в анализ известные последовательности HV1 региона 246 собак, в этой же статье сообщено о выявлении 128 HV1 гаплотипов, причем 10 наиболее часто встречающихся гаплотипов оказались характерны для 184 собак из данной когорты. При этом авторы подсчитали, что вероятность случайного совпадения результатов с данной панелью из 71 сдвига составляет менее 1%, что делает ее подходящим инструментом при установлении идентичности конкретных собак.

В нескольких статьях сообщается о секвенировании контрольного региона митохондриального генома собак целиком, занимающего положения от 15458 до 16727 п.н. с целью выявления полиморфизма и использования этих сведений для криминалистики. Так, было проведено секвенирование этого участка митогенома у 125 собак 43 пород, двух серых волков и одного койота [Gundry et al., 2007]. При этом было выявлено 40 однонуклеотидных замен, из которых наиболее значимыми оказались 26. Также был обнаружен полиморфизм числа tandemных повторов, варьирующих от 25 до 38, среди которых варианты с 28 повторами встречались наиболее часто. В своей следующей работе у еще большего числа собак (552 особи 125 пород) частью прежнего авторского

коллектива [Webb, Allard, 2009] были секвенированы участки длиной 1000 п.н., включающие контрольный регион и прилежащие участки митогенома, позволившие выявить 24 новых снипа, но было отмечено, что невозможно, исходя из выявленного полиморфизма, сгруппировать собак по породам, а также по их географической локализации. При этом вероятность исключения собак из дальнейшего анализа была оценена как 0,957.

После секвенирования контрольного региона у 133 собак, проживающих в Инсбруке и его окрестностях, было идентифицировано 40 полиморфных сайтов в HV1 и 15 в HV2, при этом пять «горячих точек», в которых наиболее часто происходили мутации, оказались в положениях 15627, 15639, 15955 п.н. (все HV1), 16431 и 16672 п.н. (обе HV2) [Eichmann, Parson, 2007]. Дискриминирующую силу нуклеотидных последовательностей всего контрольного региона посчитали как 0,93.

Секвенирование 257 п.н. сегмента HV1 региона митогенома у 102 собак 52 пород выявило 23 полиморфных нуклеотида, за счет чего было обнаружено существование в этой отобранной группе 19 вариантов последовательностей нуклеотидов, что в итоге позволяет при поиске конкретной собаки исключать из дальнейшего анализа приблизительно 88 собак из 100 [Savolainen et al., 1997]. Просеквенировав HV1 регион у 36 собак, в нем в положениях 15595 – 15653 был идентифицирован 60 п.н. участок, который авторы сочли некоей «горячей точкой», в которой чаще всего происходят мутации. После привлечения данных из GenBank в этом коротком участке было выявлено 18 снипов. Отмечено, что благодаря маленькому размеру его можно использовать при работе со старыми и разрушенными образцами в криминалистических целях [Himmelberger et al., 2008; Baute et al., 2008].

При исследовании полиморфизма HV1 региона митохондриальной ДНК у 447 собак 93 пород, обитающих в Японии, был секвенирован участок контрольного региона в положениях от 15453 до 16112 п.н. и в результате были обнаружены 47 снипов и два индела [Sugiyama et al., 2013]. При этом авторы посчитали, что полученная информация может в Японии оказаться полезной при расследовании преступлений, к которым собаки имеют то или иное отношение. У 105 собак из Соединенного Королевства были секвенированы 595 п.н. участки HV1, несущие 35 полиморфных сайтов, что позволило для этой группы животных установить 30 гаплотипов, 13 из которых встретились лишь однажды, тогда как самый распространенный был обнаружен у 14 собак с общей исключаяющей силой равной 0,929 [Wetton et al., 2003]. В той же работе был составлен дуплексный набор для

амплификации с помощью ПЦР двух участков контрольного региона протяженностями 306 и 332 п.н.

В одной из статей сообщается о секвенировании гипервариабельных участках митогенома HV1 и HV2 (без tandemных повторов) у 90 чистопородных собак, что позволило идентифицировать 33 гаплотипа, 23 из которых оказались присущи только единичным особям [Hassell et al., 2008]. В данной работе была создана локальная база данных с исключаяющим потенциалом в 0,90. Позже другими авторами [Desmyter, Gijbbers, 2012] были секвенированы аналогичные участки митогенома HV1 и HV2 (также без tandemных повторов) у 208 собак 60 пород и 68 дворняжек из разных мест Бельгии, позволившие выявить 59 полиморфных сайтов (преимущественно снипов), из которых в HV1 располагались 45, а в HV2 таковых было только 14, с общей исключаяющей силой 0,92. 69% изученных бельгийских собак были отнесены к кладе А, 24% к кладе В и 7% к кладе С, клад D, E и F среди исследованных собак выявлено не было. 7 из 10 обнаруженных инделов оказались локализованы в HV2 и пришлись на гомополимерный тракт polyC-polyT-polyC в положениях 16661 – 16674 п.н. Продолжив изучение данного участка митогенома, эта группа авторов [Verscheure et al., 2015] определила, что у трети исследованных собак из той же группы 214 особей он представлен канонической последовательностью 3C8T3C, у чуть меньшего количества особей он слегка отличается – 3C9T2C, у четверти собак он иной – 5C9T2C, приблизительно у каждой десятой собаки его последовательность оказалась следующей – 3C7T4C. Имелись еще и минорные варианты, среди которых можно привести, например такой – 6C8T2C. В той же работе из ранее изученной популяции была сделана небольшая выборка собак с целью уточнить имеется ли полиморфизм этого (ди)гомополимерного тракта в разных тканях отдельных особей для чего ДНК выделяли из буккальных мазков и из шерсти. В итоге была обнаружена гетероплазмия, проявляющаяся у разных собак в разной степени. Например, у одной из собак была выявлена очень сильная гетерогенность этого участка митохондриальной ДНК, как в шерсти, так и в буккальном эпителии.

На основе секвенированных гипервариабельных областей митохондриального генома 214 бельгийских собак, к которым в ходе другого исследования этих же авторов [Verscheure et al., 2015] были добавлены еще 132 особи, удалось определить 26 снипов, разделившим этих собак на 25 полиморфных кластеров митогеномов. Затем эти 26 вариабельных сайтов были распределены по трем наборам из 11, 12 и 3 локусов, и на примере группы из 58 собак было показано, что их использование в сочетании с

секвенированием контрольной области увеличивает вероятность исключения не имеющих отношения к расследованию собак в ходе криминалистических анализов с 92,9 до 97,0%.

В результате секвенирования 573 п.н. фрагмента (HV1) контрольного региона митогенома у 109 собак из Швеции (60 особей), Германии (35 особей) и остальных мест Европы (12 особей) и после привлечения для анализа аналогичных данных по еще 758 собакам из Японии, Соединенного Королевства и других частей мира удалось определить, что более 65,6% собак относится к кладе А, 17,2% - к кладе В и далее по убывающей к кладам С, D, F и E – по 8,2%, 4,9%, 2,5% и 1,6% соответственно. При этом клада D была обнаружена только у собак, проживавших в Швеции. Вероятность исключения из дальнейшего анализа собак при расследованиях варьировала для разных стран в пределах от 0,86 до 0,95 [Angleby, Savolainen, 2005].

Просеквенировав 672 п.н. фрагмент HV1 области у 57 неродственных собак из Аляски (19 гаплотипов) и 61 неродственной собаки с Гавайских островов (20 гаплотипов), создав локальные базы данных и сопоставив их с собаками ряда штатов континентальной Америки, авторы пришли к заключению, что при популяционных оценках и частотах встречаемости следует учитывать эффект «основателя» [Spadaro et al., 2015].

Поскольку дискриминирующая способность одной только некодирующей контрольной области митохондриальной ДНК домашней собаки относительно низка, то помимо нее для целей криминалистики предлагалось использовать и остальную часть митогенома, в которой в одной из работ путем секвенирования было выявлено 356 однонуклеотидных замен или снупов, что позволило для 79 собак сформировать 65 гаплотипов [Webb, Allard, 2009a]. При этом протяженности данных участков у 79 собак варьировали по размеру незначительно - от 15459 до 15461 п.н. На основе секвенированных последовательностей в той работе для 79 собак большого числа пород были построены филогенетические древа как по кодирующей области митогенома, так и по контрольному региону (также секвенированному в той работе), в целом показавшие сходство этих деревьев. В итоге, отбросив сомнительные результаты, авторы для контрольного региона продемонстрировали существование 32 гаплотипов, а для остальной последовательности митогенома – 57 гаплотипов, что доказывает возможность применения данной области для криминалистических исследований.

Позже другие авторы [Angleby et al., 2014] решили ограничиться секвенированием не всей остальной кодирующей части митогенома собак, а

только трех наиболее вариабельных участков общей протяженностью около 3 т.п.н. в положениях 8022 - 8948; 10977 - 11963; 14324 - 15374 п.н. и в дополнении к ним они также секвенировали HV1 регион размером 582 п.н. от 15458 до 16039 п.н. (всего 3547 п.н.) у 100 собак. Включение трех кодирующих регионов несколько увеличило потенциал исключения для этой шведской выборки с 0,920 только для контрольного региона до 0,964 для всех четырех регионов. Также в анализ были взяты нуклеотидные последовательности 59 митохондриальных геномов собак, собранных в США, после чего число митотипов мтДНК для всех 159 собак на основе четырех полиморфных областей достигло 72.

Использование митохондриальной ДНК в криминалистике

Использование собачьей ДНК, в том числе митохондриальной при раскрытии преступлений может иметь разную подоплеку. Так, собаки могут быть агрессорами и нападать на разных животных и человека, приводя даже к смертельным исходам. Они сами могут быть и жертвами нападения других собак или прочих животных. Собаки могут оказаться виновниками нанесения материального ущерба, например в дорожно-транспортных происшествиях. Также собаки могут служить некими свидетелями преступлений, поскольку или на одежду жертвы или преступника либо на прочие предметы могут перенестись собачьи шерстинки, выделив как наиболее доступную митохондриальную ДНК из которых, можно попытаться лучше понять происходящие события и предъявить конкретные обвинения. И подобные примеры раскрытия преступлений, когда митохондриальная ДНК собак послужила доказательствами разных злодеяний, уже имеются.

Здесь нужно заметить, что при исследовании криминалистических образцов на этапе выделения ДНК производится экстракция всей содержащейся в них ДНК, что рассмотрено нами в другой публикации [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2021] и лишь использование специфичных праймеров к конкретным нуклеотидным последовательностям ядерной или митохондриальной природы позволяет затем проводить соответствующие анализы. Таким образом, один и тот же образец выделенной ДНК может служить для выявления полиморфизма как ядерного, так и митохондриального геномов, но нужно принимать во внимание их копияность, исходя из чего, исследование митохондриальной ДНК часто является, по сути «последней надеждой», когда полиморфизм ядерной ДНК выявить не представляется возможным.

В 2006-2008 гг. было проведено специальное межлабораторное исследование митохондриальной

ДНК для целей криминалистики, инициированное The Non-Human Forensic Genetics Commission of the Spanish and Portuguese Working Group (GEP) of the International Society for Forensic Genetics [van Asch et al., 2009]. Участниками были 21 лаборатория из преимущественно испано-говорящих стран, которым было предложено просеквенировать фрагмент контрольного региона в положениях от 15372 до 16083 п.н., используя ДНК, выделенную как из пятен крови, так и из шерсти собак. В итоге восемь лабораторий не справились с заданием в полном объеме, но большинство ошибок возникло из-за плохой интерпретации электрофореграмм и не до конца стандартизированной номенклатуры вариаций нуклеотидных последовательностей собачьих митогеномов. Учитывая важность и сложность применения митохондриальной ДНК собак в криминалистических расследованиях, в одной из публикаций чтобы облегчить труд экспертов был изложен подробный протокол выполнения экспериментов для секвенирования контрольного региона митогеномов собак [Berger et al., 2012].

В статье, посвященной полиморфизму микросателлитных последовательностей ядерной ДНК у собак [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2021], нами был приведен пример расследования дорожного инцидента с мотоциклом, на колесе которого остались кусочки шерсти собаки, из которых был выделена ДНК и сравнена с ДНК некоторых других собак, живущих поблизости. В связи с темой данной работы приводим пример расследования схожего дорожно-транспортного происшествия, где собака стала его виновницей и на передке машины остались три собачьих шерстинки размерами 1 – 2 см, что позволяло попытаться исследовать лишь митохондриальную ДНК [Schneider, Rittner, 1999]. Так, из них была выделена митохондриальная ДНК, затем секвенирован фрагмент размером 377 п.н., проведено сравнение с аналогичными нуклеотидными последовательностями ампликонов, полученных от четырех (контрольных) собак, а также с подозреваемой собакой, которая в итоге оказалась не причем, поскольку полиморфные нуклеотиды у ней не совпали с «вещдоком». При этом в данной статье было отмечено, что полиморфизм D-петли митохондриальной ДНК собак в случае несовпадения нуклеотидных последовательностей пригоден лишь для исключения подозреваемых.

В том же году была опубликована статья шведских авторов, в которой сообщалось, что нуклеотидные последовательности секвенированного фрагмента длиной всего 79 п.н. из контрольного региона митогенома собак позволили принять определенные решения по ряду криминальных случаев, связанных со смертельными исходами, с

воровством, ограблением и с незаконной охотой, причем во всех случаях на некоторых предметах, связанных с преступлениями обнаруживались собачьи шерстинки, из которых и выделялась ДНК для анализа [Savolainen, Lundeberg, 1999]. Так, с небольшой разницей по времени были найдены тела двух убитых женщин и в обоих случаях были обнаружены собачьи шерстинки, исследование ДНК которых показало, что они с учетом редкого гаплотипа принадлежат вероятно одной и той же собаке, но на хозяина выйти не удалось, поскольку проанализированные собаки, чьи хозяева подозревались в этих преступлениях, имели другие гаплотипы. Другое расследование касалось ряда ограблений банков, в ходе одного из которых был угнан автомобиль, хозяев которого держали собаку. При аресте на одежде одного из подозреваемых были обнаружены шерстинки, ДНК полиморфизм которых совпал с таковым у хозяйской собаки, что позволило допустить, что тот человек сидел в угнанной машине и потому испачкал свою одежду собачьей шерстью.

В одной из статей [Halverson, Bastem 2005] приведены несколько случаев, когда полиморфизм митохондриальной ДНК собак позволил установить преступника или наоборот снять подозрения в причастности к серьезному преступлению, включая также краткое описание задержания убийцы после обнаружения в его машине и жилище шерстинок собаки, перенесенных с одежды убитой восьмилетней девочки, которая была хозяйкой собаки, для чего пришлось сопоставить полиморфные сайты митохондриальной ДНК из найденных шерстинок с таковыми, взятыми непосредственно у той собаки. То есть наличие в доме преступника шерсти с высокой вероятностью принадлежавшей конкретной собаке свидетельствовало о пребывании ее хозяйки в том помещении. И это стало первым судебным разбирательством в США, имевшем место в 2002 г., на котором в качестве доказательства был принят анализ собачьей митохондриальной ДНК, частота встречаемости полиморфизма которой хотя и была довольно высокой на той территории и составляла 9%, тем не менее, на основании, в том числе и прочих улик, был вынесен обвинительный приговор.

В связи с митохондриальной ДНК и расследованиями можно еще вспомнить некое существо, легенды о котором складываются с середины прошлого века, и названного чубакабра (исп. «козий вампир»), умерщвляющее домашний скот. Относительно недавно в Республике Беларусь удалось заполучить шерсть такого животного, прозванного по месту обнаружения «Мозырской чубакаброй», после выделения ДНК из которой и секвенирования фрагмента митохондриального гена цитохрома b установлено, что по нуклеотидной

последовательности он совпадает с собачьим и скорее всего принадлежит гибриду собаки и волка – обитающему в дикой природе волкособу [Алексинская и др. (Aleksinskaya et al.), 2019].

Недавно в Италии был расследован инициированный хозяином собаки случай гибели его питомицы, наступившей после нападения неизвестного зверя [Rossaro et al., 2021]. Погибшая собака находилась в то время в питомнике и была найдена мертвой со следами множественных укусов, при этом в ее пасти и на лапах были обнаружены клочки шерсти, из которых была выделена ДНК и секвенирован митохондриальный ген цитохрома b, в результате чего стало ясно, что нападавшей была собака, а не какой-то дикий зверь как это пытался представить ветеринар питомника, чтобы повернуть дело в совершенно иное русло.

Заключение

Как можно видеть из изложенного выше материала, несмотря на то, что митохондриальный геном собак относительно невелик, все же он характеризуется вариабельными областями, отличающимися у отдельных собак или точнее у групп собак. К таковым следует отнести контрольный регион или D-петлю с ее гипервариабельными участками HV1 и HV2; в меньшей степени блок тандемных декамерных повторов; polyC-polyT-polyC тракт, а также кодирующие области. При этом количество полиморфных сайтов, по которым можно отнести конкретную особь к гаплотипу и кладе, относительно невелико, в связи с чем использование митогенома в криминалистике ограничивается тем, что благодаря его секвенированию (полному либо частичному) появляется возможность лишь исключать тех или иных собак из дальнейшего анализа при расследованиях и тем самым сужать поиск подозреваемых. Для этого еще необходимо знать частоты встречаемости гаплотипов и создавать соответствующие базы данных по митогеномам собак. Однако возможно и не стоит этого делать, тратя много времени и средств, поскольку с учетом того, что нет особых корреляций гаплотипов ни с породами собак, ни с географическими местами их проживания³, эффект от таких баз относительно невелик и лучше затрачивать больше денег и усилий на секвенирование полных митогеномов исследуемых образцов, включая собак, находящихся под подозрением и это может давать больше информации

³ Хотя в одной из работ на большой выборке собак ряда территорий США все же было показано, что есть определенная значимость региональных распределений и частот гаплотипов HV1, что может использоваться в криминалистических расследованиях [Smalling et al., 2010].

следствию. Так, в одной из работ как раз рекомендуется расширять исследования всего митогенома, чтобы повысить дискриминирующую способность анализа мтДНК в криминалистике [Verscheure et al., 2013]. При этом когда есть такая возможность, то однозначная ДНК-идентификация собак должна проводиться на основе полиморфизма ядерного генома, а митохондриальный геном позволяет только лишь исключать собак и таким образом его анализ носит фактически некий дополнительный (второстепенный) характер, так как обвинение, которое нельзя не опровергнуть, на его основе предъявить невозможно.

Тем не менее, примеры раскрытия преступлений, когда митохондриальная ДНК собак послужила важными доказательствами, в мире уже имеются, но для того, чтобы собачья ДНК и митохондриальная в частности воспринималась как дополнительная улика и ее могли использовать в ходе расследований и затем даже рассматривать в судах, необходимы правовые решения и методические указания, в том числе по сбору подходящих вещественных доказательств и проведению соответствующих ДНК-анализов.

Здесь остается только добавить, что и кошачья шерсть также может служить аналогичными доказательствами при расследовании преступлений как и собачья⁴, но рассмотрение митохондриальной ДНК кошек не входило в наши планы.

Интерес к данной тематике отчасти вызван выполняемым нами проектом по гранту РФФИ-мк № 18-29-14076.

Литература

1. Алексинская О.А., Алексинский В.С., Зиновкин Д.А., Шпак А.В., Хейдорова Е.Э., Дебелый М.А. Мозырская «чупакабра» - что говорит наука? // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2019. т. 8. №4. с. 574 - 586.
2. Гарафутдинов Р.Р., Чемерис Д.А., Сахавутдинова А.Р., Алексеев Я.И., Герашенков Г.А., Гиниятов Ю.Р., Аминев Ф.Г., Чемерис А.В. Полиморфизм ДНК собак (*Canis familiaris* L.). III. VNTR- и STR-локусы. Их применение в собаководстве и криминалистике // Biomcs. 2021. Т.13(3). С.321-346. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-23
3. Гиниятов Ю.Р., Чемерис Д.А., Яхин О.И., Гарафутдинов Р.Р., Чемерис А.В. Прасобаки, собаки и их будущее // Biomcs. 2021. Т.13(3). С. 288-297. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-20
4. Чемерис Д.А., Гиниятов Ю.Р., Гарафутдинов Р.Р., Чемерис А.В. Полиморфизм ДНК собак (*Canis familiaris* L.). I. Происхождение, распространение

⁴ за исключением того, что кошки в отличие от собак все же агрессорами не являются

- собак в свете молекулярно-биологических данных об их митохондриальных и ядерных геномах // *Biomics*. 2021. Т.13(3). С. 298-308. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-21
5. Angleby H., Oskarsson M., Pang J., Zhang Y.P., Leitner T., Braham C., Arvestad L., Lundeborg J., Webb K.M., Savolainen P. Forensic informativity of ~3000 bp of coding sequence of domestic dog mtDNA // *J. Forensic Sci.* 2014. V. 59(4). P. 898-908. doi: 10.1111/1556-4029.12504.
6. Angleby H., Savolainen P. Forensic informativity of domestic dog mtDNA control region sequences // *Forensic Sci. Int.* 2005. V. 154(2-3). P. 99-110. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.09.132.
7. Barrientos L.S., Crespi J.A., Fameli A., Posik D.M., Morales H., Peral G.P., Giovambattista G. DNA profile of dog feces as evidence to solve a homicide // *Leg. Med. (Tokyo)*. 2016. V. 22. P. 54-57. doi: 10.1016/j.legalmed.2016.08.002.
8. Baute D.T., Satkoski J.A., Spear T.F., Smith D.G., Dayton M.R., Malladi V.S., Goyal V., Kou A., Kinaga J.L., Kanthaswamy S. Analysis of forensic SNPs in the canine mtDNA HV1 mutational hotspot region // *J. Forensic Sci.* 2008. V. 53(6). P. 1325-1333. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00880.x.
9. Bekaert B., Larmuseau M.H., Vanhove M.P., Opdekamp A., Decorte R. Automated DNA extraction of single dog hairs without roots for mitochondrial DNA analysis // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V. 6(2). P. 277-281. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.04.009.
10. Berger C., Berger B., Parson W. Sequence analysis of the canine mitochondrial DNA control region from shed hair samples in criminal investigations // *Methods Mol. Biol.* 2012. V. 830. P. 331-348. doi: 10.1007/978-1-61779-461-2_23.
11. Berger C., Heinrich J., Berger B., Hecht W., Parson W. On Behalf Of CaDNAP. Towards Forensic DNA Phenotyping for Predicting Visible Traits in Dogs // *Genes (Basel)*. 2021. V. 12(6). P. 908. doi: 10.3390/genes12060908.
12. Ciampolini R., Cecchi F., Spinetti I., Rocchi A., Biscarini F. The use of genetic markers to estimate relationships between dogs in the course of criminal investigations // *BMC Res. Notes*. 2017. V. 10(1). P. 414. doi: 10.1186/s13104-017-2722-6.
13. Desmyter S., Gijssels L. Belgian canine population and purebred study for forensics by improved mitochondrial DNA sequencing // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V. 6(1). P. 113-120. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.03.011.
14. Duleba A., Skonieczna K., Bogdanowicz W., Malyarchuk B., Grzybowski T. Complete mitochondrial genome database and standardized classification system for *Canis lupus familiaris* // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2015. V. 19. P. 123-129. doi: 10.1016/j.fsigen.2015.06.014.
15. Eichmann C., Berger B., Reinhold M., Lutz M., Parson W. Canine-specific STR typing of saliva traces on dog bite wounds // *Int. J. Legal Med.* 2004. V. 118(6). P. 337-342. doi: 10.1007/s00414-004-0479-7.
16. Eichmann C., Parson W. Molecular characterization of the canine mitochondrial DNA control region for forensic applications // *Int. J. Legal Med.* 2007. V. 121(5). P. 411-416. doi: 10.1007/s00414-006-0143-5.
17. Fregel R., Suárez N.M., Betancor E., González A.M., Cabrera V.M., Pestano J. Mitochondrial DNA haplogroup phylogeny of the dog: Proposal for a cladistic nomenclature // *Mitochondrion*. 2015. V.22. P.75-84. doi: 10.1016/j.mito.2015.04.001
18. Goleman M., Balicki I., Radko A., Rozempolska-Rucińska I., Zięba G. Pedigree and Molecular Analyses in the Assessment of Genetic Variability of the Polish Greyhound // *Animals (Basel)*. 2021. V. 11(2). P. 353. doi: 10.3390/ani11020353.
19. Gundry R.L., Allard M.W., Moretti T.R., Honeycutt R.L., Wilson M.R., Monson K.L., Foran D.R. Mitochondrial DNA analysis of the domestic dog: control region variation within and among breeds // *J. Forensic Sci.* 2007. V. 52(3). P. 562-572. doi: 10.1111/j.1556-4029.2007.00425.x.
20. Halverson J.L., Basten C. Forensic DNA identification of animal-derived trace evidence: tools for linking victims and suspects // *Croat. Med. J.* 2005. V. 46(4). P. 598-605.
21. Hart M.L., Meyer A., Johnson P.J., Ericsson A.C. Comparative Evaluation of DNA Extraction Methods from Feces of Multiple Host Species for Downstream Next-Generation Sequencing // *PLoS One*. 2015. V. 10(11). e0143334. doi: 10.1371/journal.pone.0143334.
22. Hassell R., Heath P., Musgrave-Brown E., Ballard D., Harrison C., Thacker C., Catchpole B., Syndercombe Court D. Mitochondrial DNA analysis of domestic dogs in the UK // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2008. V.1(1). P.598-599. doi: 10.1016/j.fsigss.2007.10.187
23. Himmelberger A.L., Spear T.F., Satkoski J.A., George D.A., Garnica W.T., Malladi V.S., Smith D.G., Webb K.M., Allard M.W., Kanthaswamy S. Forensic utility of the mitochondrial hypervariable region 1 of domestic dogs, in conjunction with breed and geographic information // *J. Forensic Sci.* 2008. V. 53(1). P. 81-89. doi: 10.1111/j.1556-4029.2007.00615.x.
24. Imes D.L., Wictum E.J., Allard M.W., Sacks B.N. Identification of single nucleotide polymorphisms within the mtDNA genome of the domestic dog to discriminate individuals with common HVI haplotypes // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V. 6(5). P. 630-639. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.02.004.

25. Ishiguro N., Nakajima A., Horiuchi M., Shinagawa M. Multiple nuclear pseudogenes of mitochondrial DNA exist in the canine genome // *Mamm. Genome*. 2002. V. 13(7). P. 365-372. doi: 10.1007/s00335-001-2139-2.
26. Kim K.S., Lee S.E., Jeong H.W., Ha J.H. The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome // *Mol. Phylogenet. Evol.* 1998. V. 10(2). P. 210-220. doi: 10.1006/mpev.1998.0513.
27. Klütsch C.F., Seppälä E.H., Uhlén M., Lohi H., Savolainen P. Segregation of point mutation heteroplasmy in the control region of dog mtDNA studied systematically in deep generation pedigrees // *Int. J. Legal Med.* 2011. V. 125(4). P. 527-535. doi: 10.1007/s00414-010-0524-7.
28. Lindquist C.D., Wictum E.J. Less is More--Optimization of DNA Extraction from Canine Feces // *J. Forensic Sci.* 2016. V. 61(1). P. 212-218. doi: 10.1111/1556-4029.12913.
29. Mitsouras K., Faulhaber E.A. Saliva as an alternative source of high yield canine genomic DNA for genotyping studies // *BMC Res. Notes*. 2009. V. 2. P. 219. doi: 10.1186/1756-0500-2-219
30. Okumura N, Ishiguro N, Nakano M, Matsui A, Sahara M. Intra- and interbreed genetic variations of mitochondrial DNA major non-coding regions in Japanese native dog breeds (*Canis familiaris*) // *Anim Genet.* 1996. V.27(6). P.397-405. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00506.x
31. Parra D., Méndez S., Cañón J., Dunner S. Genetic differentiation in pointing dog breeds inferred from microsatellites and mitochondrial DNA sequence // *Anim. Genet.* 2008. V. 39(1). P. 1-7. doi: 10.1111/j.1365-2052.2007.01658.x.
32. Pereira L., Van Asch B., Amorim A. Standardisation of nomenclature for dog mtDNA D-loop: a prerequisite for launching a *Canis familiaris* database // *Forensic Sci. Int.* 2004. V. 141(2-3). P. 99-108. doi: 10.1016/j.forsciint.2003.12.014.
33. Pfeiffer I., Völkel I., Täubert H., Brenig B. Forensic DNA-typing of dog hair: DNA-extraction and PCR amplification // *Forensic Sci. Int.* 2004. V. 141(2-3). P. 149-151. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.01.016.
34. Roccaro M., Bini C., Fais P., Merialdi G., Pelotti S., Peli A. Who killed my dog? Use of forensic genetics to investigate an enigmatic case // *Int. J. Legal Med.* 2021. V. 135(2). P. 387-392. doi: 10.1007/s00414-020-02388-9.
35. Rothuizen J., de Gouw H., Hellebrekers L.J., Lenstra H.A. Variable structures of mitochondrial DNA in dogs // *Vet. Q.* 1995. V. 17. Suppl. 1:S22-3.
36. Savolainen P., Arvestad L., Lundeberg J. A novel method for forensic DNA investigations: repeat-type sequence analysis of tandemly repeated mtDNA in domestic dogs // *J. Forensic Sci.* 2000. V. 45(5). P. 990-999.
37. Savolainen P., Arvestad L., Lundeberg J. mtDNA tandem repeats in domestic dogs and wolves: mutation mechanism studied by analysis of the sequence of imperfect repeats // *Mol. Biol. Evol.* 2000. V. 17(4). P. 474-488. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026328.
38. Savolainen P., Lundeberg J. Forensic evidence based on mtDNA from dog and wolf hairs // *J. Forensic Sci.* 1999. V.44(1). P.77-81. DOI:10.1016/S1353-1131(99)90078-0
39. Savolainen P., Rosén B., Holmberg A., Leitner T., Uhlén M., Lundeberg J. Sequence analysis of domestic dog mitochondrial DNA for forensic use // *J. Forensic Sci.* 1997. V. 42(4). P. 593-600.
40. Savolainen P., Zhang Y.P., Luo J., Lundeberg J., Leitner T. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs // *Science*. 2002. V. 298(5598). P. 1610-1613. doi: 10.1126/science.1073906.
41. Schneider P.M., Seo Y., Rittner C. Forensic mtDNA hair analysis excludes a dog from having caused a traffic accident // *Int. J. Legal Med.* 1999. V. 112(5). P. 315-316. doi: 10.1007/s004140050257.
42. Smalling B.B., Satkoski J.A., Tom B.K., Szeto W.Y., Erickson B.J-A., Spear T.F., Smith D.G., Budowle B., Webb K.M., Allard M., Kanthaswamy S. Geographic Differences in Mitochondrial DNA (mtDNA) Distribution Among United States (US) Domestic Dog Populations // *The Open Forensic Science Journal*. 2010. V.3. P.22-32.
43. Somnay V., Duong T., Tsao R.Y., Prahlow J.A. Crime Scene Analysis Through DNA Testing of Canine Feces-A Case Report // *Acad. Forensic Pathol.* 2020. V. 10(1). P. 56-61. doi: 10.1177/1925362120944743.
44. Spadaro A, Ream K, Braham C, Webb KM. Local mitochondrial DNA haplotype databases needed for domestic dog populations that have experienced founder effect // *Forensic Sci. Int.* 2015. V.248. P.113-118. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.12.025
45. Spicer A.M., Kun T.J., Sacks B.N., Wictum E.J. Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy levels in domestic dog hair // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2014. V. 11. P. 7-12. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.02.006.
46. Sugiyama S., Chong Y.H., Shito M., Kasuga M., Kawakami T., Udagawa C., Aoki H., Bonkobara M., Tsuchida S., Sakamoto A., Okuda H., Nagai A., Omi T. Analysis of mitochondrial DNA HVR1 haplotype of purebred domestic dogs in Japan // *Leg. Med. (Tokyo)*. 2013. V. 15(6). P. 303-309. doi: 10.1016/j.legalmed.2013.08.005.
47. van Asch B., Albarran C., Alonso A., Angulo R., Alves C., Betancor E., Catanesi C.I., Corach D., Crespillo M., Doutremepuich C., Estonba A., Fernandes A.T., Fernandez E., Garcia A.M., Garcia M.A., Gilardi P., Gonçalves R., Hernández A., Lima G., Nascimento E., de Pancorbo M.M., Parra D., Pinheiro M.F., Prat E., Puente

- J., Ramírez J.L., Rendo F., Rey I., Di Rocco F., Rodríguez A., Sala A., Salla J., Sanchez J.J., Solá D., Silva S., Pestano Brito J.J., Amorim A. Forensic analysis of dog (*Canis lupus familiaris*) mitochondrial DNA sequences: an inter-laboratory study of the GEP-ISFG working group // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2009. V. 4(1). P. 49-54. doi: 10.1016/j.fsigen.2009.04.008.
48. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. Coding region SNP analysis to enhance dog mtDNA discrimination power in forensic casework // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2015. V.14. P.86-95. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.09.006.
49. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. In silico discovery of a nearly complete mitochondrial genome Numt in the dog (*Canis lupus familiaris*) nuclear genome // *Genetica.* 2015. V. 143(4). P. 453-458. doi: 10.1007/s10709-015-9844-3.
50. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. Reviewing population studies for forensic purposes: Dog mitochondrial DNA // *Zookeys.* 2013. V.365. 381-411. doi: 10.3897/zookeys.365.5859
51. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. Length heteroplasmy of the polyC-polyT-polyC stretch in the dog mtDNA control region // *Int. J. Legal. Med.* 2015. V. 129(5). P. 927-935. doi: 10.1007/s00414-014-1106-x.
52. Vilà C., Savolainen P., Maldonado J.E., Amorim I.R., Rice J.E., Honeycutt R.L., Crandall K.A., Lundeberg J., Wayne R.K. Multiple and ancient origins of the domestic dog // *Science.* 1997. V. 276(5319). P. 1687-1689. doi: 10.1126/science.276.5319.1687.
53. Webb K.M., Allard M.W. Identification of forensically informative SNPs in the domestic dog mitochondrial control region // *J. Forensic Sci.* 2009. V. 54(2). P. 289-304. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00953.x.
54. Webb K.M., Allard M.W. Mitochondrial genome DNA analysis of the domestic dog: identifying informative SNPs outside of the control region // *J. Forensic Sci.* 2009. V. 54(2). P. 275-288. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00952.x.
55. Wetton J.H., Higgs J.E., Spriggs A.C., Roney C.A., Tsang C.S., Foster A.P. Mitochondrial profiling of dog hairs // *Forensic Sci. Int.* 2003. V. 133(3). P. 235-241. doi: 10.1016/s0379-0738(03)00076-8.
1. Aleksinskaja O.A., Aleksinskij V.S., Zinovkin D.A., Shpak A.V., Hejdorova E.Je., Debelyj M.A. Mozyrskaja «chupakabra» - что говорит наука? *Laboratornaja diagnostika. Vostochnaja Evropa.* 2019. T.8(4). S.574-586. [Mozyr "chupacabra" - what does science say?] (In Russian)
2. Angleby H., Oskarsson M., Pang J., Zhang Y.P., Leitner T., Braham C., Arvestad L., Lundeberg J., Webb K.M., Savolainen P. Forensic informativity of ~3000 bp of coding sequence of domestic dog mtDNA. *J. Forensic Sci.* 2014. V. 59(4). P. 898-908. doi: 10.1111/1556-4029.12504.
3. Angleby H., Savolainen P. Forensic informativity of domestic dog mtDNA control region sequences. *Forensic Sci. Int.* 2005. V. 154(2-3). P. 99-110. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.09.132.
4. Barrientos L.S., Crespi J.A., Fameli A., Posik D.M., Morales H., Peral G.P., Giovambattista G. DNA profile of dog feces as evidence to solve a homicide. *Leg. Med. (Tokyo).* 2016. V. 22. P. 54-57. doi: 10.1016/j.legalmed.2016.08.002.
5. Baute D.T., Satkoski J.A., Spear T.F., Smith D.G., Dayton M.R., Malladi V.S., Goyal V., Kou A., Kinaga J.L., Kanthaswamy S. Analysis of forensic SNPs in the canine mtDNA HV1 mutational hotspot region. *J. Forensic Sci.* 2008. V. 53(6). P. 1325-1333. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00880.x.
6. Bekaert B., Larmuseau M.H., Vanhove M.P., Opdekamp A., Decorte R. Automated DNA extraction of single dog hairs without roots for mitochondrial DNA analysis. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V. 6(2). P. 277-281. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.04.009.
7. Berger C., Berger B., Parson W. Sequence analysis of the canine mitochondrial DNA control region from shed hair samples in criminal investigations. *Methods Mol. Biol.* 2012. V. 830. P. 331-348. doi: 10.1007/978-1-61779-461-2_23.
8. Berger C., Heinrich J., Berger B., Hecht W., Parson W. On Behalf Of CaDNAP. Towards Forensic DNA Phenotyping for Predicting Visible Traits in Dogs. *Genes (Basel).* 2021. V. 12(6). P. 908. doi: 10.3390/genes12060908.
9. Chemeris D.A., Giniyatov Yu.R., Garafutdinov R.R., Chemeris A.V. DNA polymorphism of dogs (*Canis familiaris* L.). I. Origin, distribution of dogs in the light of molecular biological data about their mitochondrial and nuclear genomes. *Biomcs.* 2021. Vol.13(3). P. 298-308. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-21 (In Russian)
10. Ciampolini R., Cecchi F., Spinetti I., Rocchi A., Biscarini F. The use of genetic markers to estimate relationships between dogs in the course of criminal investigations. *BMC Res. Notes.* 2017. V. 10(1). P. 414. doi: 10.1186/s13104-017-2722-6.
11. Desmyter S., Gijsbers L. Belgian canine population and purebred study for forensics by improved mitochondrial DNA sequencing. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V. 6(1). P. 113-120. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.03.011.
12. Duleba A., Skonieczna K., Bogdanowicz W., Malyarchuk B., Grzybowski T. Complete mitochondrial genome database and standardized classification system for *Canis lupus familiaris*. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2015. V. 19. P. 123-129. doi: 10.1016/j.fsigen.2015.06.014.

13. Eichmann C., Berger B., Reinhold M., Lutz M., Parson W. Canine-specific STR typing of saliva traces on dog bite wounds. *Int. J. Legal Med.* 2004. V. 118(6). P. 337-342. doi: 10.1007/s00414-004-0479-7.
14. Eichmann C., Parson W. Molecular characterization of the canine mitochondrial DNA control region for forensic applications. *Int. J. Legal Med.* 2007. V. 121(5). P. 411-416. doi: 10.1007/s00414-006-0143-5.
15. Fregel R., Suárez N.M., Betancor E., González A.M., Cabrera V.M., Pestano J. Mitochondrial DNA haplogroup phylogeny of the dog: Proposal for a cladistic nomenclature. *Mitochondrion*. 2015. V.22. P.75-84. doi: 10.1016/j.mito.2015.04.001
16. Garafutdinov R.R., Chemeris D.A., Sakhabutdinova A.R., Alexeev Ya.I., Gerashchenkov G.A., Giniyatov Y.R., Aminev F.G., Chemeris A.V. DNA polymorphism of dogs (*Canis familiaris* L.). III. VNTR- and STR-loci. Their use in dog breeding and in criminalistics. *Biomics*. 2021. V.13(3). P. 321-346. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-23 (In Russian)
17. Giniyatov Yu.R., Chemeris D.A., Yakhin O.I., Garafutdinov R.R., Chemeris A.V. Ancient dogs, dogs and their future. *Biomics*. 2021. V.13(3). P.288-297. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-20 (In Russian)
18. Goleman M., Balicki I., Radko A., Rozempolska-Rucińska I., Zięba G. Pedigree and Molecular Analyses in the Assessment of Genetic Variability of the Polish Greyhound. *Animals (Basel)*. 2021. V. 11(2). P. 353. doi: 10.3390/ani11020353.
19. Gundry R.L., Allard M.W., Moretti T.R., Honeycutt R.L., Wilson M.R., Monson K.L., Foran D.R. Mitochondrial DNA analysis of the domestic dog: control region variation within and among breeds. *J. Forensic Sci.* 2007. V. 52(3). P. 562-572. doi: 10.1111/j.1556-4029.2007.00425.x.
20. Halverson J.L., Basten C. Forensic DNA identification of animal-derived trace evidence: tools for linking victims and suspects. *Croat. Med. J.* 2005. V. 46(4). P. 598-605.
21. Hart M.L., Meyer A., Johnson P.J., Ericsson A.C. Comparative Evaluation of DNA Extraction Methods from Feces of Multiple Host Species for Downstream Next-Generation Sequencing. *PLoS One*. 2015. V. 10(11). e0143334. doi: 10.1371/journal.pone.0143334.
22. Hassell R., Heath P., Musgrave-Brown E., Ballard D., Harrison C., Thacker C., Catchpole B., Syndercombe Court D. Mitochondrial DNA analysis of domestic dogs in the UK. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2008. V.1(1). P.598-599. doi: 10.1016/j.fsigss.2007.10.187
23. Himmelberger A.L., Spear T.F., Satkoski J.A., George D.A., Garnica W.T., Malladi V.S., Smith D.G., Webb K.M., Allard M.W., Kanthaswamy S. Forensic utility of the mitochondrial hypervariable region 1 of domestic dogs, in conjunction with breed and geographic information. *J. Forensic Sci.* 2008. V. 53(1). P. 81-89. doi: 10.1111/j.1556-4029.2007.00615.x.
24. Imes D.L., Wictum E.J., Allard M.W., Sacks B.N. Identification of single nucleotide polymorphisms within the mtDNA genome of the domestic dog to discriminate individuals with common HVI haplotypes. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V. 6(5). P. 630-639. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.02.004.
25. Ishiguro N., Nakajima A., Horiuchi M., Shinagawa M. Multiple nuclear pseudogenes of mitochondrial DNA exist in the canine genome. *Mamm. Genome*. 2002. V. 13(7). P. 365-372. doi: 10.1007/s00335-001-2139-2.
26. Kim K.S., Lee S.E., Jeong H.W., Ha J.H. The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome. *Mol. Phylogenet. Evol.* 1998. V. 10(2). P. 210-220. doi: 10.1006/mpev.1998.0513.
27. Klütsch C.F., Seppälä E.H., Uhlén M., Lohi H., Savolainen P. Segregation of point mutation heteroplasmy in the control region of dog mtDNA studied systematically in deep generation pedigrees. *Int. J. Legal Med.* 2011. V. 125(4). P. 527-535. doi: 10.1007/s00414-010-0524-7.
28. Lindquist C.D., Wictum E.J. Less is More--Optimization of DNA Extraction from Canine Feces // *J. Forensic Sci.* 2016. V. 61(1). P. 212-218. doi: 10.1111/1556-4029.12913.
29. Mitsouras K., Faulhaber E.A. Saliva as an alternative source of high yield canine genomic DNA for genotyping studies. *BMC Res. Notes*. 2009. V. 2. P. 219. doi: 10.1186/1756-0500-2-219.
30. Okumura N, Ishiguro N, Nakano M, Matsui A, Sahara M. Intra- and interbreed genetic variations of mitochondrial DNA major non-coding regions in Japanese native dog breeds (*Canis familiaris*). *Anim Genet.* 1996. V.27(6). P.397-405. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00506.x
31. Parra D., Méndez S., Cañón J., Dunner S. Genetic differentiation in pointing dog breeds inferred from microsatellites and mitochondrial DNA sequence. *Anim. Genet.* 2008. V. 39(1). P. 1-7. doi: 10.1111/j.1365-2052.2007.01658.x.
32. Pereira L., Van Asch B., Amorim A. Standardisation of nomenclature for dog mtDNA D-loop: a prerequisite for launching a *Canis familiaris* database. *Forensic Sci. Int.* 2004. V. 141(2-3). P. 99-108. doi: 10.1016/j.forsciint.2003.12.014.
33. Pfeiffer I., Völkel I., Täubert H., Brenig B. Forensic DNA-typing of dog hair: DNA-extraction and PCR amplification. *Forensic Sci. Int.* 2004. V. 141(2-3). P. 149-151. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.01.016.
34. Roccaro M., Bini C., Fais P., Meriardi G., Pelotti S., Peli A. Who killed my dog? Use of forensic genetics to

- investigate an enigmatic case. *Int. J. Legal Med.* 2021. V. 135(2). P. 387-392. doi: 10.1007/s00414-020-02388-9.
35. Rothuizen J., de Gouw H., Hellebrekers L.J., Lenstra H.A. Variable structures of mitochondrial DNA in dogs. *Vet. Q.* 1995. V. 17. Suppl. 1:S22-3.
36. Savolainen P., Arvestad L., Lundeberg J. A novel method for forensic DNA investigations: repeat-type sequence analysis of tandemly repeated mtDNA in domestic dogs. *J. Forensic Sci.* 2000. V. 45(5). P. 990-999.
37. Savolainen P., Arvestad L., Lundeberg J. mtDNA tandem repeats in domestic dogs and wolves: mutation mechanism studied by analysis of the sequence of imperfect repeats. *Mol. Biol. Evol.* 2000. V. 17(4). P. 474-488. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026328.
38. Savolainen P., Lundeberg J. Forensic evidence based on mtDNA from dog and wolf hairs. *J. Forensic Sci.* 1999. V.44(1). P.77-81. DOI:10.1016/S1353-1131(99)90078-0
39. Savolainen P., Rosén B., Holmberg A., Leitner T., Uhlén M., Lundeberg J. Sequence analysis of domestic dog mitochondrial DNA for forensic use. *J. Forensic Sci.* 1997. V. 42(4). P. 593-600.
40. Savolainen P., Zhang Y.P., Luo J., Lundeberg J., Leitner T. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science.* 2002. V. 298(5598). P. 1610-1613. doi: 10.1126/science.1073906.
41. Schneider P.M., Seo Y., Rittner C. Forensic mtDNA hair analysis excludes a dog from having caused a traffic accident. *Int. J. Legal Med.* 1999. V. 112(5). P. 315-316. doi: 10.1007/s004140050257.
42. Smalling B.B., Satkoski J.A., Tom B.K., Szeto W.Y., Erickson B.J.-A., Spear T.F., Smith D.G., Budowle B., Webb K.M., Allard M., Kanthaswamy S. Geographic Differences in Mitochondrial DNA (mtDNA) Distribution Among United States (US) Domestic Dog Populations. *The Open Forensic Science Journal.* 2010. V.3. P.22-32.
43. Somnay V., Duong T., Tsao R.Y., Prahlow J.A. Crime Scene Analysis Through DNA Testing of Canine Feces-A Case Report. *Acad. Forensic Pathol.* 2020. V. 10(1). P. 56-61. doi: 10.1177/1925362120944743.
44. Spadaro A., Ream K., Braham C., Webb K.M. Local mitochondrial DNA haplotype databases needed for domestic dog populations that have experienced founder effect. *Forensic Sci. Int.* 2015. V.248. P.113-118. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.12.025
45. Spicer A.M., Kun T.J., Sacks B.N., Wictum E.J. Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy levels in domestic dog hair. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2014. V. 11. P. 7-12. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.02.006.
46. Sugiyama S., Chong Y.H., Shito M., Kasuga M., Kawakami T., Udagawa C., Aoki H., Bonkobara M., Tsuchida S., Sakamoto A., Okuda H., Nagai A., Omi T. Analysis of mitochondrial DNA HVR1 haplotype of purebred domestic dogs in Japan. *Leg. Med. (Tokyo).* 2013. V. 15(6). P. 303-309. doi: 10.1016/j.legalmed.2013.08.005.
47. van Asch B., Albarran C., Alonso A., Angulo R., Alves C., Betancor E., Catanesi C.I., Corach D., Crespillo M., Doutremepuich C., Estonba A., Fernandes A.T., Fernandez E., Garcia A.M., Garcia M.A., Gilardi P., Gonçalves R., Hernández A., Lima G., Nascimento E., de Pancorbo M.M., Parra D., Pinheiro M.F., Prat E., Puente J., Ramírez J.L., Rendo F., Rey I., Di Rocco F., Rodríguez A., Sala A., Salla J., Sanchez J.J., Solá D., Silva S., Pestano Brito J.J., Amorim A. Forensic analysis of dog (*Canis lupus familiaris*) mitochondrial DNA sequences: an inter-laboratory study of the GEP-ISFG working group. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2009. V. 4(1). P. 49-54. doi: 10.1016/j.fsigen.2009.04.008.
48. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. Coding region SNP analysis to enhance dog mtDNA discrimination power in forensic casework. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2015. V. 14. P. 86-95. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.09.006.
49. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. In silico discovery of a nearly complete mitochondrial genome Numt in the dog (*Canis lupus familiaris*) nuclear genome. *Genetica.* 2015. V. 143(4). P. 453-458. doi: 10.1007/s10709-015-9844-3.
50. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. Length heteroplasmy of the polyC-polyT-polyC stretch in the dog mtDNA control region. *Int. J. Legal. Med.* 2015. V. 129(5). P. 927-935. doi: 10.1007/s00414-014-1106-x.
51. Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S. Reviewing population studies for forensic purposes: Dog mitochondrial DNA. *Zookeys.* 2013. V.365. 381-411. doi: 10.3897/zookeys.365.5859
52. Vilà C., Savolainen P., Maldonado J.E., Amorim I.R., Rice J.E., Honeycutt R.L., Crandall K.A., Lundeberg J., Wayne R.K. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science.* 1997. V. 276(5319). P. 1687-1689. doi: 10.1126/science.276.5319.1687.
53. Webb K.M., Allard M.W. Identification of forensically informative SNPs in the domestic dog mitochondrial control region. *J. Forensic Sci.* 2009. V. 54(2). P. 289-304. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00953.x.
54. Webb K.M., Allard M.W. Mitochondrial genome DNA analysis of the domestic dog: identifying informative SNPs outside of the control region. *J. Forensic Sci.* 2009. V. 54(2). P. 275-288. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00952.x.
55. Wetton J.H., Higgs J.E., Spriggs A.C., Roney C.A., Tsang C.S., Foster A.P. Mitochondrial profiling of dog hairs. *Forensic Sci. Int.* 2003. V. 133(3). P. 235-241. doi: 10.1016/s0379-0738(03)00076-8.