



**Kurz genetiky a molekulární biologie
pro učitele středních škol**

9.9.2014

MASARYKOVA UNIVERZITA

Využití genetické rozmanitosti při identifikaci člověka

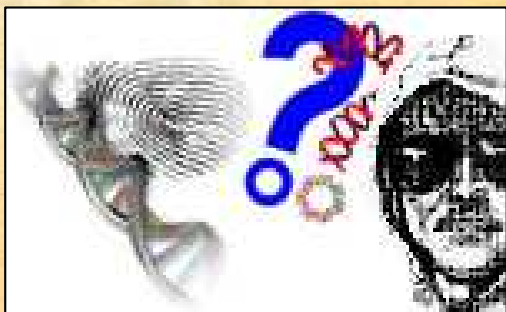


*RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.
Přírodovědecká fakulta MU
Ústav experimentální biologie
Oddělení genetiky a molekulární biologie
lízal@sci.muni.cz*

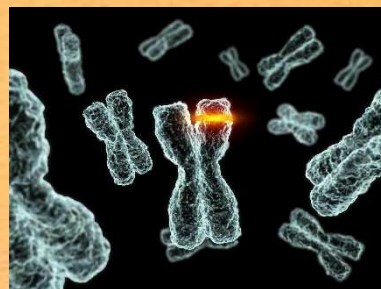
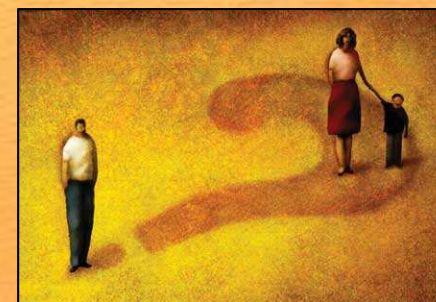


FreeFoto.com
FreeFoto.com

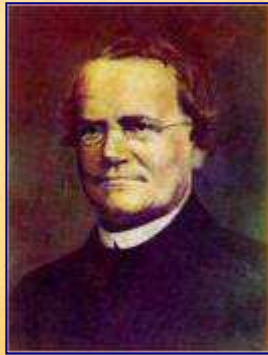
Využití genetické rozmanitosti při identifikaci člověka



- 1) Genetika a genetická rozmanitost
- 2) Jak vzniká genetická rozmanitost
- 3) Jak ji lze zjistit
- 4) Využití pro identifikaci osob



GENETIKA



PODOBNOST / ODLIŠNOST



ROZMANITOST

ROZMANITOST

INDIVIDUALITA



HISTORIE



ROZMANITOST



1) Zdroje – jak vzniká

2) Jak ji lze zjistit



3) Využití



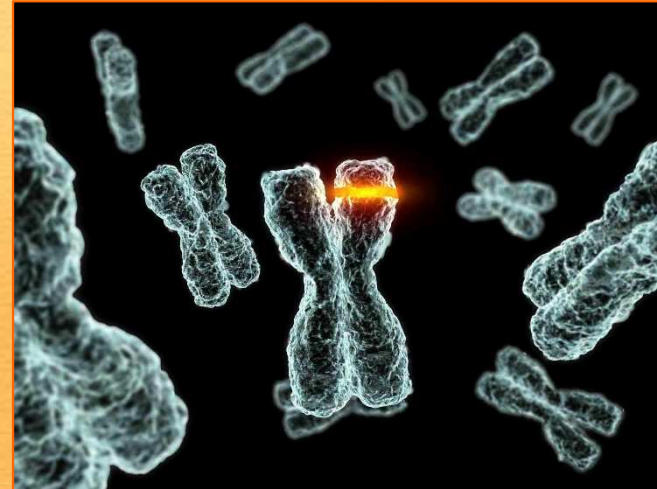
ROZMANITOST

1) Zdroje – jak vzniká

1) Mutace

A → a

- nové varianty genů
- dědičné změny v DNA
- vznikají náhodně
- nezbytné v evoluci
- individuální mutace



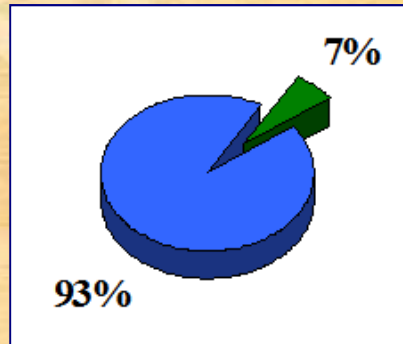
2) Pohlavní rozmnožování

- rozmanitost gamet
- nové kombinace
 - crossing-over
 - splývání gamet
- evoluční výhoda



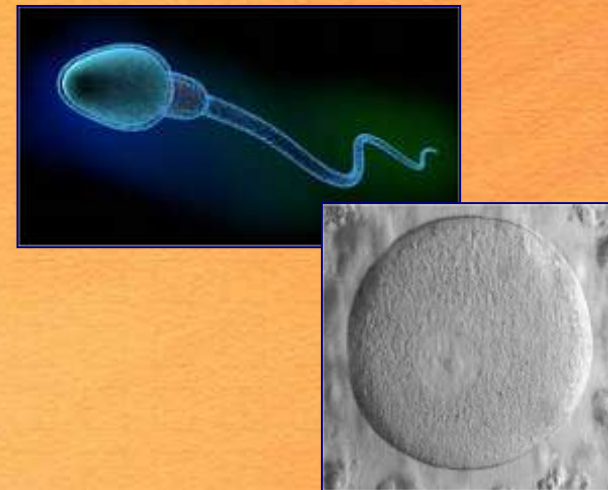
Vznik odlišných gamet u heterozygotů

homozygoti **AA** nebo **aa**
heterozygot **Aa**



- člověk má asi 6,7 % genů v heterozygotních sestavách
- tj. asi 1 575 genů

- teoreticky tedy **může vzniknout 2^{1575} druhů gamet**
- **to** je asi 10^{480} (uvádí se, že celkový počet protonů a neutronů na Zemi je odhadem 10^{76})



- člověk může za život uplatnit jen nepatrné množství gamet
- tolik druhů gamet ještě nemohlo ani vzniknout za dobu existence člověka na Zemi

- doposud **žádné dvě gamety nemohou být úplně shodné**
= **žádní dva lidé** z celého počtu žijících lidí v současnosti, minulosti či vzdálené budoucnosti **nemohou být geneticky shodní** (vyjma jednovaječných dvojčat)



= nevyčerpatelný zdroj rozmanitosti

ROZMANITOST



1) Zdroje – jak vzniká

2) Jak ji lze zjistit

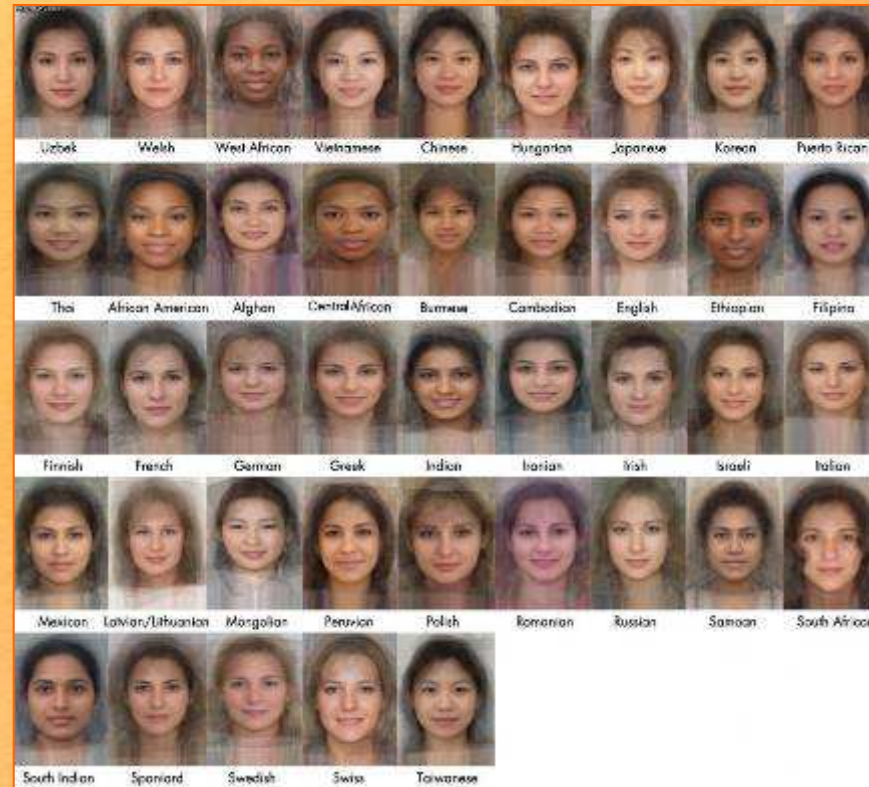


3) Využití



1) Vnější pozorovatelné znaky - fenotyp

např. výška postavy, barva kůže, morfologie lebky apod.



Problém:

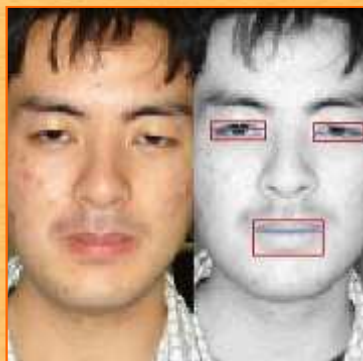
- jsou ovlivněny prostředím
- často se mění i v průběhu života jedince

1) Vnější pozorovatelné znaky - fenotyp

Lze využít takové znaky k identifikaci člověka?

- pokud jsou dostatečně individuální
- pokud se nemění v průběhu života jedince

• počítačová identifikace obličeje, duhovky a sítnice oka (nová biometrie)



• otisky prstů

- použitelné i u jednovaječných dvojčat
- jen pokud je jedinec (např. pachatel) zanechá
- nutný srovnávací vzorek (databáze)



2) Znaky s jednoduchou dědičností

- nevýhodou obvykle obtížnější stanovení
- výhodou je nulový vliv prostředí

- příkladem jsou krevní skupiny



- nejpoužívanější jsou asi **skupiny AB0 systému**
- Karl Landsteiner, Jan Janský
- dlaždicový test, srážení s protilátkami
- **3 alely, I^A , I^B , i**
 - skupina A ($I^A I^A$, $I^A i$) - v populaci 41,5 % lidí
 - skupina B ($I^B I^B$, $I^B i$) - v populaci 14,1 % lidí
 - skupina 0 (ii) - v populaci 37,8 % lidí
 - skupina AB ($I^A I^B$) - v populaci 6,6 % lidí

2) Znaky s jednoduchou dědičností

Lze využít takové znaky k identifikaci člověka?

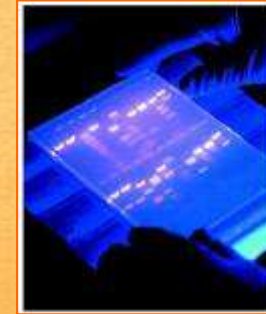
- **pravděpodobnost shody dvou lidí je 34 %**
= asi každý třetí člověk má stejnou krevní skupinu v systému AB0
- spíše **vylučovací metoda** (tříhlavé paternitní spory, vícehlavé paternity s malým počtem)

Dalšími krevními skupinami jsou např. **RH systém, MN, Diego, Duffy, Lutheran, Lewis a další**

Pro identifikační účely jsou málo rozmanité.



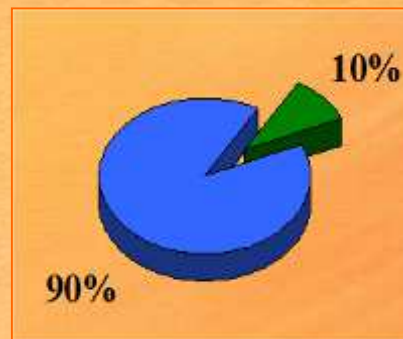
3) Rozmanitost na úrovni DNA



Nekódující DNA – 90 až 95 % genomu



Kódující DNA 5 až 10 % genomu



3) Rozmanitost na úrovni DNA

- v nekódující DNA se analyzují tzv. krátká tandemová opakování (STR)

TCCCAAGCTCTTCCTCTTCCCTAGATCAATACAGACAGAAGACAGGTG **GATAGATA**
GATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATATCATTGAAAGACAAA
 CAGAGATGGATGATAGATACATGCTTACAGATGCACAC



Tato opakování mají jednoduchou mendelistickou dědičnost:

matka	x	otec
8/8		7/7
potomek		
8/7		

3) Rozmanitost na úrovni DNA

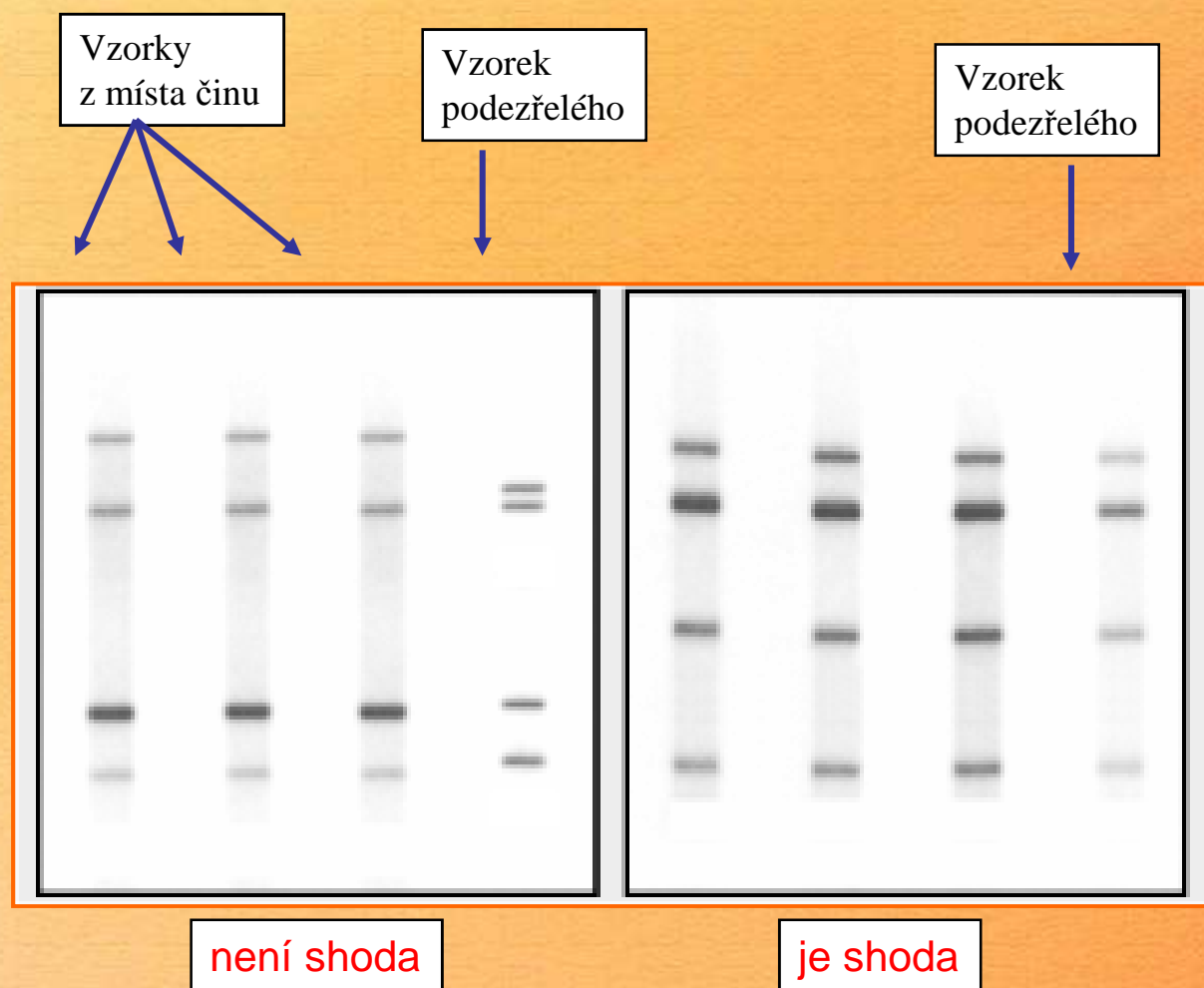
Lze využít takové znaky k identifikaci člověka?

- v daném úseku se jedinci mohou lišit v délce tohoto úseku

- i přesto, pokud bychom analyzovali pouze jeden takový úsek – shoda by byla relativně vysoká = **analyzujeme několik takových sekvencí**

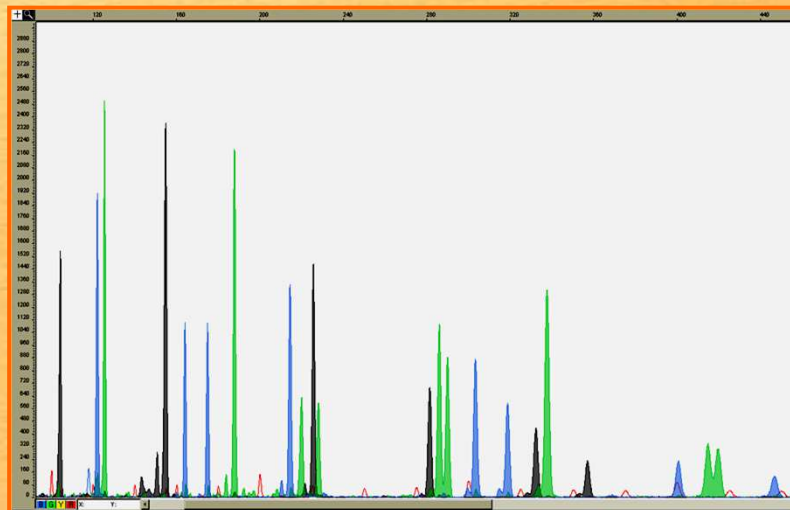
3) Rozmanitost na úrovni DNA

- zjednodušený příklad pro 4 sekvence



3) Rozmanitost na úrovni DNA

- ve skutečnosti se takto analyzuje celkem 16 sekvencí



Pravděpodobnost shody je pak menší než 10^{-15}

dnes žije na zemi asi 7 miliard lidí,
tedy 7×10^9

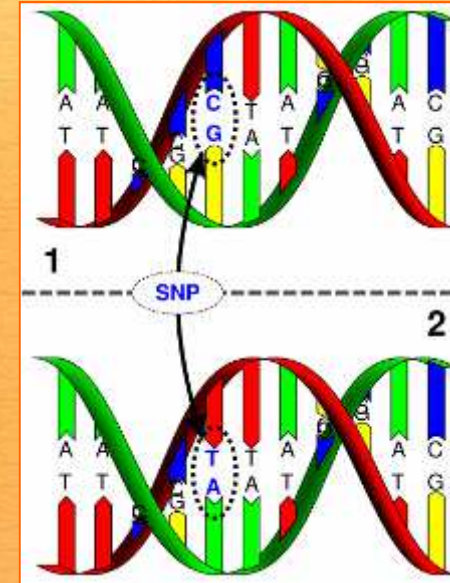
Velmi spolehlivá metoda pro identifikaci osob

3) Rozmanitost na úrovni DNA

SNP

- **jednonukleotidový polymorfismus**
- pravděpodobně **asi nejrozmanitější znak**

- **tato rozmanitost ještě vyšší než při využití opakujících se sekvencí** (změna může nastat v každém z $3,5 \times 10^9$ nukleotidů)



- **každý jedinec je skutečným originálem, který zaniká jeho smrtí**

ROZMANITOST



1) Zdroje – jak vzniká

2) Jak ji lze zjistit



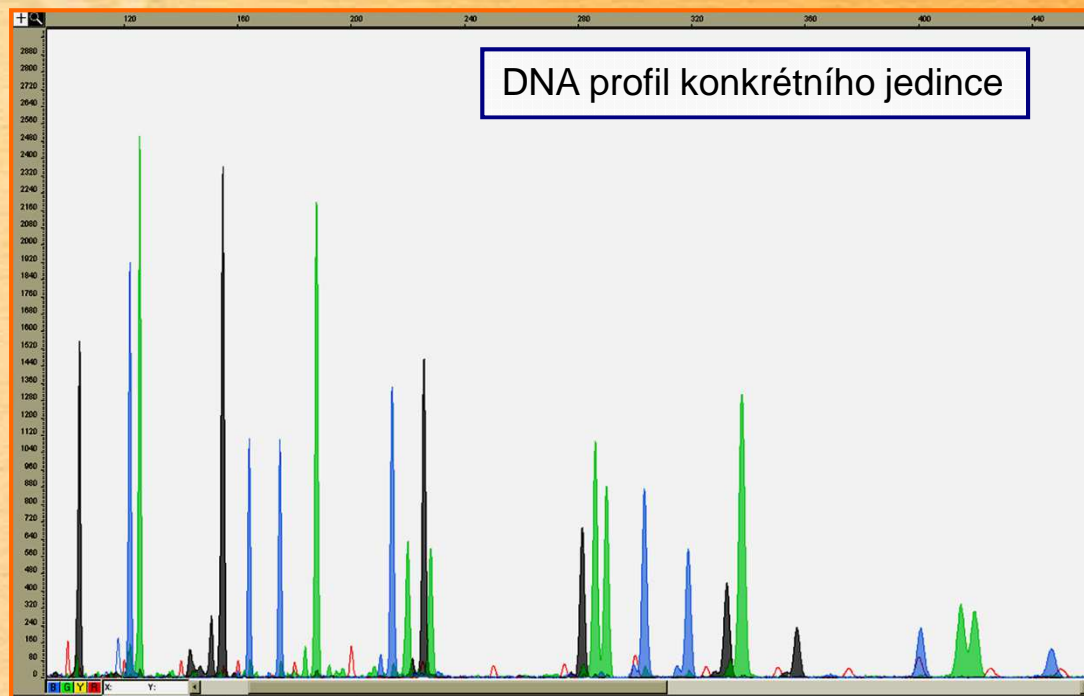
3) Využití

- identifikace pomocí DNA
- paternitní spory



Forenzní genetika

- identifikace člověka pro kriminalistické účely
- zavedl v roce 1984 Sir Alec Jeffreys, VB, „DNA fingerprinting, DNA profiling“



Porovnání DNA profilů - analogie na gelové elektroforéze

Forenzní genetik

Historie

- **poprvé metoda použita v Anglii** – imigrační spor – prokázat identitu chlapce, který žádal o povolení k nastěhování k rodičům žijícím v Anglii
- **1986 první aplikace v kriminalistice** – Scotland Yardu pomohla osvobodit neprávem obviněného člověka ze znásilnění a zavraždění dvou šolaček (1983, 1986) a identifikovat pachatele mezi obyvateli městečka (4 500 mužů) pomocí zajištěného spermatu
 - 21.11.1983 – znásilněna a zavražděna 15letá Linda Mannová
 - **zajištěno sperma pachatele**, pachatel nedopaden
 - 1986 – blízko místa předchozího zločinu znásilněna a zavražděna 15letá Dawn Ashworthová
 - **k činu se doznal 17letý mladík, vraždu Lindy Mannové však popíral**
 - 1987 – policie se obrátila na **Aleca Jeffreyse** – srovnal DNA ze spermatu s DNA podezřelého mladíka
 - **sperma v obou případech znásilnění patřilo stejnému pachateli**, avšak **neshodovalo se s DNA podezřelého**
 - policie odebrala **vzorky mužům z okolních vesnic** (přes 4 500 mužů)
 - **shoda opět nalezena nebyla**
 - o sedm měsíců později – policie zjišťuje, že **pekař Colin Pitchfork přemluvil kamaráda**, aby se místo něj zúčastnil odběru DNA
 - **dodatečný odběr prokázal shodu** – odsouzen k doživotnímu vězení

Forenzní genetik

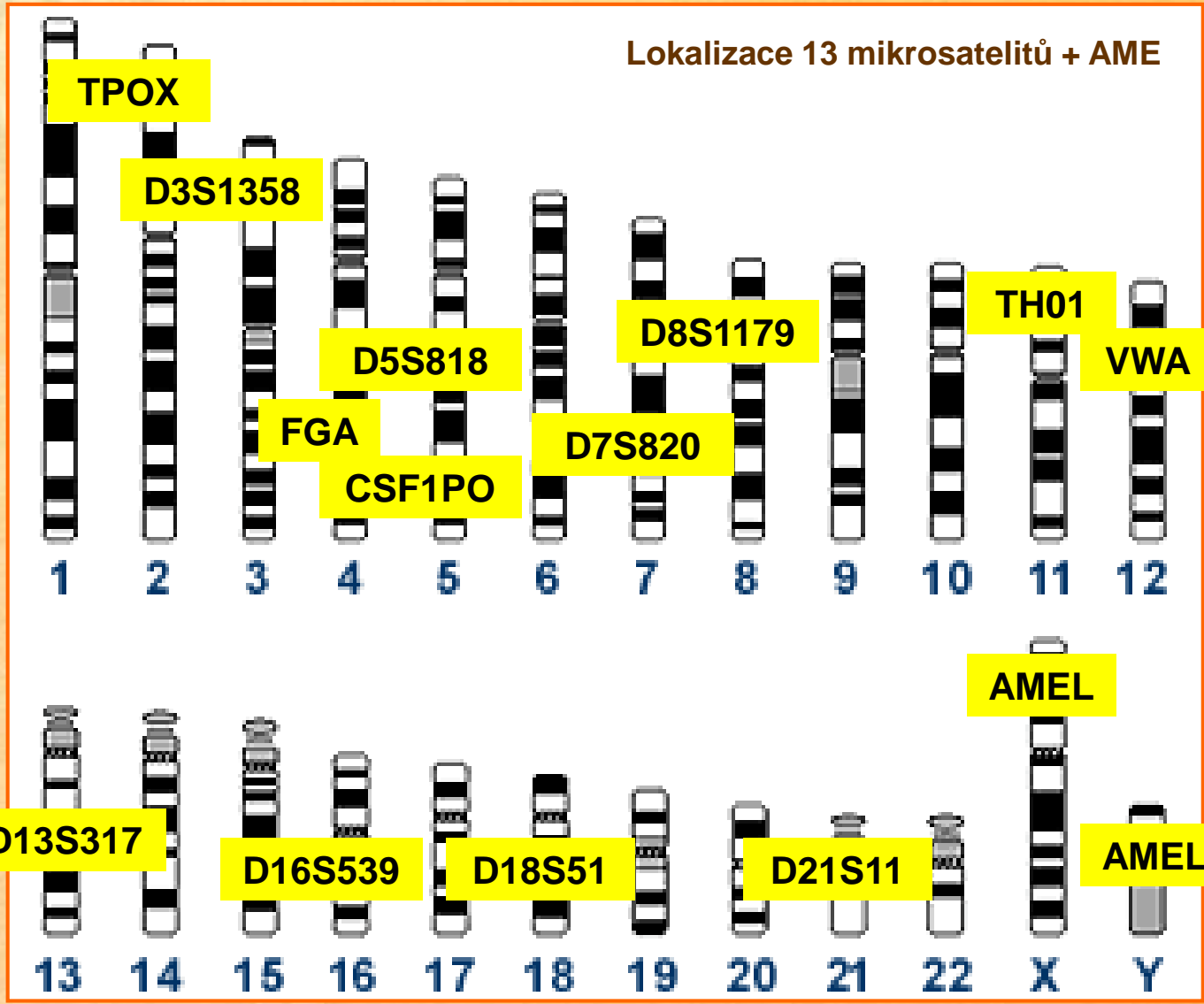


V ČR poprvé použita analýza DNA v roce 1990

- 27.6.1990 kolem 7:30 byla na dámském WC PedF MU **zavražděna 19letá studentka** Jana Krkošková
- vražda se sexuálním motivem, **sperma nebylo zjištěno**
- zajištěn **zvláštní druh krevní stopy** – kapky na jedné kachličce
- druhý den **zadržen** 26letý Milan Lubas
- měl obvázanou dlaň pravé ruky, byl již dvakrát trestán mimo jiné i za znásilnění, po amnestii v roce 1990 propuštěn
- **účast na vraždě popřel**
- zranění nejdříve vysvětloval úrazem na stavbě, později jako obranu při přepadení
- odebrána **krev a porovnána s krví z kachličky**, zajištěna také krev z riflí podezřelého bohužel **podezřelý měl stejnou krevní skupinu jako oběť**
- policisté požádali **doc. Feráka** (UK v Bratislavě) o provedení **identifikace** novou metodu **pomocí DNA**
- 24.10.1990 – znalecký posudek potvrdil, že **krev** na dámském záchodě **patřila podezřelému** a krev na ponožkách a riflích byla krví zavražděné
- **Lubas byl odsouzen** na 23 let do vězení, 4.2.1993 spáchal ve vězení sebevraždu

Příklad výpočtu pravděpodobnosti shody v DNA

Profil DNA pachatele:




Alely v 16 markerech

D3S1358	15/17
TH01	7/9
D21S11	29/31
D18S51	17/18
Penta E	5/13
D5S818	12/13
D13S317	8/11
D7S820	9/10
D16S539	12/12
CSF1PO	11/12
Penta D	12/13
AME - pohlaví	XY
vWA	17/18
D8S1179	12/14
TPOX	8/9
FGA	19/24

Příklad výpočtu pravděpodobnosti shody v DNA

Alelové četnosti 17 mikrosatelitních sekvencí ve vzorku populace České republiky

 <p style="text-align: center;">INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ</p>																	
Allele	D2S1338	D3S1358	D5S818	D7S820	D8S1179	D13S317	D16S539	D18S51	D19S433	D21S11	CSF1PO	FGA	Penta D	Penta E	TH01	TPOX	vWA
	N: 282	N: 1411	N: 1410	N: 1411	N: 1411	N: 1410	N: 1411	N: 1411	N: 282	N: 1407	N: 1411	N: 1410	N: 1128	N: 1126	N: 1411	N: 1410	N: 1411
4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0657	0,0025	–	–
6	–	–	0,0004	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0009	–	0,225	0,0004	–
7	–	–	0,0025	0,0159	–	–	–	–	–	–	0,0004	–	0,0027	0,1559	0,1545	0,0004	–
8	–	–	0,005	0,1641	0,0117	0,1305	0,0096	0,0004	–	–	0,0025	–	0,0066	0,0075	0,1013	0,5493	–
9	–	–	0,0468	0,1534	0,0078	0,0812	0,1017	–	–	–	0,0415	–	0,2402	0,0195	0,1857	0,1032	–
9.3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,321	–
10	–	–	0,0621	0,2789	0,0716	0,055	0,0528	0,0071	–	–	0,2764	–	0,1113	0,1319	0,0082	0,0621	–
10.3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0004	–	–
11	–	0,0021	0,3255	0,2069	0,0726	0,345	0,2736	0,0135	0,0035	–	0,2725	–	0,1609	0,1119	0,0004	0,2535	0,0007
12	–	0,0007	0,3858	0,1396	0,1545	0,255	0,3196	0,1095	0,0691	–	0,3292	–	0,195	0,1625	–	0,0309	0,0007
13	–	0,0028	0,1571	0,0358	0,3278	0,0979	0,2052	0,1159	0,2482	–	0,0627	–	0,2012	0,1052	–	0,0004	0,0025
13.2	–	–	–	–	–	–	–	0,0004	0,016	–	–	–	–	–	–	–	–
14	–	0,1247	0,0121	0,0046	0,2268	0,034	0,0358	0,1513	0,3817	–	0,0113	–	0,0594	0,0586	–	–	0,106
14.2	–	–	–	–	–	–	–	–	0,023	–	–	–	–	–	–	–	–
15	–	0,2364	0,0025	0,0007	0,1031	0,0014	0,0018	0,1687	0,172	–	0,0032	–	0,0151	0,0488	–	–	0,1109
15.2	–	0,0004	–	–	–	–	–	–	0,0301	–	–	–	–	–	–	–	–
16	0,0443	0,2427	–	–	0,0198	–	–	0,1534	0,0408	–	0,0004	–	0,0062	0,0409	0,0004	–	0,1821
16.2	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0213	–	–	–	–	–	–	–	–
17	0,1809	0,2197	–	–	0,0032	–	–	0,1194	–	–	–	0,0011	0,0004	0,0364	–	–	0,2693
17.2	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0089	–	–	–	–	–	–	–	–
18	0,1152	0,1552	–	–	0,0011	–	–	0,0811	–	0,0007	–	0,0121	–	0,0293	0,0004	–	0,2289
18.2	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0053	–	–	–	–	–	–	–	–
19	0,1312	0,0145	–	–	–	–	–	0,039	–	0,0004	–	0,077	–	0,0138	–	–	0,0836
19.2	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0004	–	–	–	–	–	–	–	–
20	0,1294	0,0007	–	–	–	–	–	0,0209	–	–	–	0,1436	–	0,0084	–	–	0,0135
20.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0004	–	–	–	–	–
21	0,0284	–	–	–	–	–	–	0,0124	–	–	–	0,1826	–	0,0018	–	–	0,0018
21.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0007	–	–	–	–	–
22	0,023	–	–	–	–	–	–	0,0057	–	–	–	0,1947	–	0,0004	–	–	–
22.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,0121	–	–	–	–	–

Příklad výpočtu pravděpodobnosti shody v DNA

D3S1358	15/17
THO1	7/9
D21S11	29/31
D18S51	17/18
Penta E	5/13
D5S818	12/13
D13S317	8/11
D7S820	9/10
D16S539	12/12
CSF1PO	11/12
Penta D	12/13
AME - pohlaví	XY
vWA	17/18
D8S1179	12/14
TPOX	8/9
FGA	19/24

D3S1358: 2 (0,2364 x 0,2197)
THO1: 2 (0,1545 x 0,1857)
D21S11: 2 (0,1951 x 0,0668)
D18S51: 2 (0,1194 x 0,0811)
Penta E: 2 (0,0657 x 0,1052)
D5S818: 2 (0,3858 x 0,1571)
D13S317: 2 (0,1305 x 0,345)
D7S820: 2 (0,1534 x 0,2789)
D16S539: 0,3196 x 0,3196
CSF1PO: 2 (0,2725 x 0,3292)
Penta D: 2 (0,195 x 0,2012)
vWA: 2 (0,2693 x 0,2289)
D8S1179: 2 (0,1545 x 0,2268)
TPOX: 2 (0,5493 x 0,1032)
FGA: 2 (0,077 x 0,1411)

P shody je $1,189 \times 10^{-18}$ (1 z $8,41 \times 10^{17}$)

Pozn.: dnes žije na zemi asi 7,0 miliard lidí, tedy $7,0 \times 10^9$,
v ČR žije zhruba 1×10^7 lidí

Forenzní genetik

2002 - Národní databáze DNA (Kriminalistická databáze)

- osob, které **byly odsouzeny** pro spáchání zvláště závažných trestných činů
 - osob proti nimž bylo pro tyto trestné činy **vedeno trestní stíhání***
 - osob **obviněných*** ze spáchání trestného činu
 - osob, po kterých bylo vyhlášeno **pátrání**
 - DNA profily mrtvol, kosterních nálezů a zbytků lidských těl neznámé totožnosti
 - DNA profily získané z míst dosud neobjasněných trestných činů
 - *obsahuje několik desítek tisíc profilů (pouze profily DNA)*
- **avšak u podezřelých a obviněných osob jen za zvláštních podmínek*

Zákon č. 321/2006 Sb., změna **trestního řádu**

V § 114 se za odstavec 3 vkládá nový odstavec 4, který zní:

"(4) **Nelze-li úkon** podle odstavců 1 až 3 **pro odpor podezřelého nebo obviněného provést** a nejde-li o odběr krve nebo jiný obdobný úkon spojený se zásahem do tělesné integrity, **je orgán činný v trestním řízení oprávněn po předchozí marné výzvě tento odpor překonat; policejní orgán potřebuje k překonání odporu podezřelého předchozí souhlas státního zástupce. Způsob překonání odporu musí být přiměřený intenzitě odporu."**

Forenzní genetik

Zákon č. 321/2006 Sb., změna **zákona o Policii ČR**

V § 42e se doplňuje odstavec 3, který zní:

"(3) **Nelze-li úkon podle odstavce 1 pro odpor osoby provést a nejde-li o odběr krve nebo jiný obdobný úkon spojený se zásahem do tělesné integrity, je policista po předchozí marné výzvě oprávněn tento odpor překonat. Způsob překonání odporu musí být přiměřený intenzitě odporu."**

Zajímavost:

- vzorky DNA jsou v ČR po získání DNA profilu, dle vyjádření policie, likvidovány!!!
- neexistuje tedy možnost pozdějšího provedení kontrolní analýzy

Analýza DNA je použitelná i pro identifikace ve velkém vzorku:

- např. v Německu v roce 1998 bylo provedeno DNA profilování u více než 16 000 mužů při hledání pachatele znásilnění a vraždy 11-leté dívky
- Kmetíněves – vražda 13-leté dívky, DNA pachatele za nehty zavražděné, testováno 700 vzorků (pozitivní č. 632)

Forenzní genetik**Další zajímavosti:**

- vzorek DNA – pouze jeden z mozaiky důkazů
- zajištění vzorku – odběrové tyčinky
- pachatelé jsou připraveni – ochranné pomůcky, nepozornost, otisky
- chiméry
- pomůže i nehumánní DNA
- DNA po polibku
- rekreační genetik – genealogie, nevěra
- stanovení barvy očí a vlasů podle DNA
barva vlasů > 80% pravděpodobnost, barva očí až s 96% pravděpodobností
- „stanovení“ příjmení podle DNA



Forenzní genetika**Identifikace obětí:**

- teroristických činů (New York, 11.9.2001)
- přírodních katastrof (tsunami, Asie, prosinec 2004)
- při hromadných neštěstích (požár lanovky, Kaprun, 11.11. 2000)

K identifikaci se používá DNA oběti a DNA žijícího příbuzného



New York, 11.9.2001



Asie, prosinec 2004



Kaprun, Rakousko 11.11.2000



Abbottabad, Pákistán 1.5.2011

- **Usáma bin Ládín – DNA sestry**
- zemřela zhruba rok před jeho zabitím na mozkový nádor ve Všeobecné nemocnici v Massachusetts
- po její smrti byl uskladněn **vzorek mozkové tkáně**

Paternitní spory

- klasické určení otcovství
- speciální případy (záměna miminek v Třebíči roku 2007)
- v současnosti populární testování věrnosti (rekreační genetika)



Třebíč, 2007

DĚKUJI ZA POZORNOST



RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.

lízal@sci.muni.cz

<https://sites.google.com/site/lizalpal/>



FreeFoto.com