

MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Ústav experimentální biologie

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů



Kriminalistická biologická, genetická a
antropologická analýza

Bakalářská práce

Kořínková Renata

Vedoucí: doc. RNDr. Helena Nejezchlebová, Ph.D.

Bibliografický záznam

Autor: Kořínková Renata
Přírodovědecká fakulta, Masarykova
univerzita
Ústav experimentální biologie
Oddělení fyziologie a imunologie živočichů

Název práce: Kriminalistická biologická, genetická a
antropologická analýza

Studijní program: Obecná biologie

Studijní obor: Fyziologie živočichů

Vedoucí práce: doc. RNDr. Helena Nejezchlebová, Ph.D.

Rok obhajoby: 2011

Klíčová slova: kriminalistika, genetická expertýza,
biologická expertýza, antropologická
expertýza, krev, vlas, kost

Bibliographic entry

- Author:** Kořínková Renata
Faculty of Science, Masaryk University
Department of Experimental Biology
Department of Animal Physiology and
Immunology
- Title of thesis:** Criminological biological, genetic and
anthropological analysis
- Degree programme:** General biology
- Field of study:** Animal physiology
- Supervisor:** doc. RNDr. Helena Nejezchlebová, Ph.D.
- Year of defence:** 2011
- Keywords:** criminology, genetic expertises, biological
expertises, anthropological expertises,
blood, hair, bone

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala především své vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Heleně Nejezchlebové, Ph.D. za cenné rady, připomínky a podporu při vyhotovení této práce. Dále chci také poděkovat za oporu své rodině, přátelům a všem, kteří se na této práci jakkoliv podíleli a to jak svými radami, poskytnutím literatury nebo jen svou podporou.

Prohlášení

Prohlašuji, že uvedenou bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů.

Brno, 4.května 2011

.....

jméno, příjmení

Abstrakt

Kriminalistická biologická, genetická a antropologická analýza

Tato bakalářská práce je vypracována jako literární rešerše se zaměřením na kriminalistickou biologii. Podrobně se zde zabývám biologickými stopami, konkrétně druhy stop, způsobech zajištění a různých způsobech zpracování.

Kriminalistická biologie je v posledních letech velmi se rozvíjející vědní disciplínou, která používá nejmodernější metody, techniky a přístroje ke zjištění informací z biologických stop nalezených na místech trestných činů. Tyto informace jsou v rukou vyšetřovatelů významné pro nalezení a usvědčení pachatele.

Cílem této bakalářské práce je seznámení se s technikami používanými v kriminalistických biologických laboratořích a příprava na diplomovou práci, která bude zaměřena na podrobné zkoumání biologické stopy vlasu.

Abstract

Criminological biological, genetic and anthropological analysis

This work is designed as a literature review focusing on the biology of criminology. We focus biological traces, namely the types stop, secured and various processing methods.

In recent years, criminological biology has become a growing scientific discipline that uses the latest methods, techniques and devices for obtaining information from biological investigations to find and convict the perpetrators.

The aim of this thesis is to become familiar with forensic techniques used in biological laboratories and preparing for my diploma work, which will focus on detailed examination of biological traces (hair).

Obsah

Úvod.....	9
1 Charakteristika kriminální biologie.....	10
1.1 Pojem kriminalistická stopa.....	10
2 Dělení kriminalistických stop.....	11
2.1 Kriminalistické stopy materiální.....	11
2.2 Kriminalistické stopy paměťové.....	11
2.3 Dělení stop podle způsobu vzniku.....	11
2.4 Dělení stop podle původu.....	12
3 Využití kriminalistické biologie.....	13
3.1 Chemická expertýza.....	13
3.2 Fyzikálně-chemická expertýza.....	14
3.3 Biologická expertýza.....	18
3.4 Genetická expertýza.....	20
3.5 Antropologická expertýza.....	21
3.5.1 Kosterní pozůstatky se zachovalými měkkými tkáněmi.....	21
3.5.2 Kosterní pozůstatky bez měkkých tkání.....	22
3.5.3 Antropologická osteologická expertýza.....	23
3.5.4 Antropologická portrétní komparace.....	24
3.5.5 Trichologická expertýza.....	24
4 Zpracování biologických stop.....	25
4.1 Krev.....	25
4.1.1 Úhel dopadu.....	28
4.1.2 Povrch.....	28
4.1.3 Rychlost.....	28
4.1.4 Rozptyl.....	28
4.1.5 Krevní testy.....	30
4.2 Kost.....	36
4.3 Vlas.....	38
4.3.1 Stavba vlasu (chlupu).....	42
4.3.2 Typy vlasů, chlupů.....	43
4.3.3 Zpracování vlasu.....	43
4.3.3.1 Krevní skupina z vlasu.....	43
4.3.4 Srovnávací materiál.....	45
4.4 Sperma, poševní sekret.....	46
4.4.1 Zajištění spermatu, poševního sekretu.....	46
4.4.2 Zpracování stopy.....	46
4.5 Sliny, nosní sekret.....	47

4.5.1 Zajištění stop slin a nosního sekretu.....	47
4.5.2 Zpracování slin a nosního sekretu.....	48
4.5.2.1 Postup při provádění AI metody.....	48
4.6 Pot a uvolněné pokožkové buňky.....	50
4.6.1 Zajištění stopy.....	50
5 Národní databáze DNA.....	51
5.1 Odběr bukalního stěru.....	51
6 FOGADEN.....	53
7 Závěr.....	54
Seznam zkratk.....	55
Seznam použité literatury.....	56
Internetové zdroje a články.....	58
Obrázky.....	60

Úvod

V této bakalářské práci se zabývám problematikou biologických stop nalézáných na místech trestných činů. Je zde podrobněji popsáno zpracování těch nejčastějších stop, mezi něž patří krev, vlasy, sliny a kosti. Ostatní materiály jako jsou nehty, pot, sperma atd. jsou zde zmíněny v menším rozsahu a to i z toho důvodu, že metody pro zpracování jsou zde u většiny materiálů stejné nebo velmi podobné. Popisují zde původce těchto stop, informace využitelné přímo z polohy na místě činu a také informace získané z laboratorních vyšetření a expertýz. Tyto informace jsou velmi důležité pro kriminalisty, kteří díky nim a na základě srovnávacího materiálu od možného podezřelého dovedou usvědčit pachatele.

Analýza biologických stop se v dnešní době stala prakticky nejvyužívanější vyšetřovací metodou, protože díky nim lze pachatele určit jednoznačně a s vysokou přesností. Není zde prostor pro pochyby. Tento posun byl možný díky pokroku ve vědě a hlavně díky rozluštění DNA kódu, což znamenalo zvrat pro kriminalistiku. DNA je spolu s otiskem prstu jedinečná pro každého člověka na světě.

Tuto práci lze považovat za seznámení se s problematikou daného tématu, což pro mě bude přínosné hlavně v diplomové práci, kde se budu zabývat analýzami jen jedné konkrétní stopy a to vlasem. Proto je mu v této práci věnováno i trochu více prostoru.

Je zde rozebrán i problém Národní databáze DNA, která je v poslední době velmi diskutovaným tématem z hlediska lidských práv.

Na závěr zde zmiňuji i komerční zneužití metod využívaných vědci.

1 Charakteristika kriminální biologie

Kriminalistická biologie je aplikovaná věda, která kriminalistům slouží k vyhledávání, zajišťování a zkoumání různých druhů stop, spojených prakticky vždy s trestnou činností. Biologický materiál zkoumaný při odborných expertyzách označujeme jako biologickou či kriminalistickou stopu.

1.1 Pojem kriminalistická stopa

Jako kriminalistickou stopu definujeme změnu v materiálním prostředí nebo ve vědomí člověka, která souvisí s vyšetřovanou událostí místně, příčinně a časově, obsahuje kriminalisticky nebo trestněprávně relevantní informaci, je zjistitelná, zajiřitelná a informačně využitelná dostupnými vědeckotechnickými a trestněprocesními prostředky, metodami a postupy (Porada, 2001).

Nejčastějšími objekty zkoumání jsou krev (krevní stopy, části tkání a organismů), trichologický materiál (vlasy, chlupy a peří), antropologický materiál (kosti a lebky), botanický materiál (rostliny, semena a houby), entomologický materiál (hmyz a jeho vývojová stádia), lidské výměšky (sliny, moč, sperma, pot a stolice) a mikroorganismy (plísňe a rostlinné fragmenty).

Mohou se vyskytovat na všech místech, předmětech i materiálech. Najdeme je na trase pohybu zúčastněných osob (na zemi, podlaze, zdi, stěnách, nábytku, oknech, dveřích, rozbitých skleněných výplních atd), dále na předmětech souvisejících s událostí jako jsou vražedné nástroje, škrtidla, obličejové masky, injekční stříkačky, střelné zbraně, střely, provazy, pytle, vozidla apod, a v neposlední řadě na částech oděvů a na samotných tělech zúčastněných osob.

Jako biologickou stopu označujeme materiál lidského původu se zachovalým buněčným jádrem. Konkrétně je pak na prvním místě samotná krev. Dalšími v pořadí jsou sliny, pot, ejakulát, vlasy, chlupy, kosti a kostrové fragmenty (Kudlička, 2010).

2 Dělení kriminalistických stop

Kriminalistické stopy můžeme rozdělit několika způsoby. Základní dělení je na stopy materiální a paměťové.

2.1 Kriminalistické stopy materiální

Mezi stopy materiální zahrnujeme stopy biologické (např. krev, vlasy), trasologické (stopa pneumatik), daktyloskopické (otisky prstů) a jiné, které byly nalezeny na místě činu, nebo s tím souvisí. Materiální stopa je důležitá z toho důvodu, že umožňuje proces kriminalistické identifikace pachatele (Jandásek, 2008).

2.2 Kriminalistické stopy paměťové

Paměťová stopa vzniká a odehrává se v paměti osoby. Je definována jako dlouhodobé, popřípadě trvalé uložení informace v mozku. Vzniká díky lidským smyslům, především zraku a sluchu. Nejvíce paměťových stop se uchová v mysli pachatele, který dobře vnímá situaci a pamatuje si všechny skutečnosti.

Člověk, který tyto stopy poskytuje vyšetřovatelům, se označuje jako svědek. V obzvláště závažných případech, kdy by mohl být ohrožen život svědka, se hovoří o tzv. utajeném svědku, v jehož případě jsou učiněny opatření ke znemožnění zjištění jeho totožnosti obžalovaným nebo veřejností (Jandásek, 2008).

2.3 Dělení stop podle způsobu vzniku

Stopy na místech činu můžeme dělit různými způsoby. Jednou možností je dělit je podle způsobu jejich vzniku do tří základních skupin a to na:

a) biologické stopy vytvořené biologickým materiálem, který se uvolňuje a odlučuje z lidského organismu samovolně nebo v souvislosti s běžnými funkcemi živého organismu. Jsou to například samovolně vypadané vlasy, chlupy, částičky kůže, pot, sliny, ejakulát, menstruační krev, moč, lejno atd.

b) biologické stopy vzniklé v souvislosti s působícím násilím na lidského

jedince. Patří sem biologický materiál, který je násilně oddělen, jako krevní stopy, vytržené, odříznuté či odstřižené vlasy, útržky tkání, vyražené zuby, úlomky kostí apod.

c) biologické stopy vzniklé jako pozůstatky po zániku, neboli smrti, lidského jedince. Řadíme mezi ně nálezy mrtvol a jejich částí a nálezy kostí a kosterních pozůstatků (Kudlička, 2010).

2.4 Dělení stop podle původu

Stopy mohou pocházet z:

- organismu pachatele
- organismu oběti
- organismu nezúčastněné osoby
- organismů nejméně dvou osob, potom hovoříme o stopách smíšených

3 Využití kriminalistické biologie

Tuto vědu využívá Policie ČR a Kriminální policie ČR. Můžeme ji rozdělit na 5 základních disciplín, a to na kriminalistickou chemickou expertýzu, kriminalistickou fyzikálně-chemickou expertýzu, kriminalistickou biologickou expertýzu, kriminalistickou genetickou expertýzu a kriminalistickou antropologickou expertýzu. Stručně je lze popsat asi takto:

3.1 Chemická expertýza

Zabývá se zkoumáním vlastností, složení, vnitřní stavby a přeměnou různých druhů látek vyskytujících se v kriminalistické praxi. Jedná se hlavně o zjišťování technických příčin požárů, toxikologická zkoumání, zkoumání léčiv a drog, zkoumání pohonných hmot a mazadel, zkoumání příčin a následků ekologických havárií, zkoumání nátěrových hmot, zkoumání ochranných prostředků používaných v zemědělství a podobně.

Metody k tomuto využívané se řadí mezi nejstarší metody a prostředky používané ke zjišťování chemického složení jednotlivých stop a věcných důkazů. Zařadíme sem i zjišťování kvalitativního a kvantitativního složení nejrůznějších materiálů. Cílem těchto zkoumání je především identifikace neznámých vzorků a zjištění jejich složení, popřípadě zjištění shody ve složení dvou či více vzorků.

V současné době se oddělení chemické expertýzy nově zabývají zkoumáním organických látek včetně stopové analýzy. Toto odvětví se může nově rozvíjet díky pokroku ve vývoji analytických metod. Díky tomu může docházet k detailnějšímu zkoumání. K analýzám se využívají především separační metody a to hlavně chromatografické, které umožňují rozdělení složitějších směsí látek díky jejich různé migraci. Jedná se o systém dvou fází, kdy jedna je obvykle stacionární a druhá mobilní. Z hlediska molekulární kinetiky je chromatografie kontinuální proce, v němž je prouděním porušována a difúzí opět nastolována rovnováha mezi látkami rozpuštěnými ve stacionární a mobilní fázi chromatografického systému. Výsledkem je rozdílná rychlost migrace rozpuštěných látek. Následně dochází k identifikaci těchto látek, pomocí hmotnostní spektrometrie a metody infračervené spektrofotometrie.

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně-chemická metoda, která stanovuje

hmotnosti molekul a atomů po jejich převedení na ionty. Podstatou této metody je separace iontů produkovaných v iontovém zdroji přístroje na základě jejich efektivní hmotnosti a jejich následná detekce. Všechny tyto procesy probíhají v uzavřeném prostoru, ve kterém je pomocí systému pump kontinuálně udržováno vakuum. Infačervená spektrofotometrie je určena pro identifikaci nebo stanovení vzorku měřením absorpce infračerveného záření. Infračervená absorpční spektra poskytují informaci o vibračních pohybech molekuly. Ty jsou pro ni charakteristické, a proto lze spekter využít při identifikaci látek a určování struktury.

Ovšem některé analýzy z kriminalistické oblasti vyžadují speciální postupy, které se řeší pomocí aplikovaného výzkumu. V rámci tohoto výzkumu byl vyvinut například speciální databázový produkt nesoucí název Drogis, včetně sbírky tablet a kapslí HVLP a XTC, sloužící k rychlé identifikaci neznámých vzorků léčiv, omamných a psychotropních látek.

Kvalitativní a kvantitativní analýzu jak syntetických, tak přírodních i dalších exotických rostlin včetně halucinogenních provádí Kriminalistický ústav Praha (KÚP). V posledních letech totiž výrazně vzrostl počet komplexních expertýz z oblasti tzv. „indoor“ pěstování konopí.

KÚP pomohl vyřešit kauzy jako byly například pašování drog v tělních tekutinách, identifikace ohniska požáru v Hotelu Olympic, který vypukl 26. května 1995 v Praze, při němž zahynulo 8 lidí a dalších 34 bylo zraněno a je označován jako nejtragičtější požár současnosti v Česku a v letech 1968 a 1969 se podílel na chemickém zkoumání rukopisů Královehradeckého a Zelenohorského (URL 4).

3.2 Fyzikálně-chemická expertýza

Jednou z cest při odhalování a dokazování trestného činu je vyžívání rozměrově velmi nepatrných kriminalistických stop, které jsou označovány jako mikrostopy. Získávají se z nich informace o průběhu trestného činu pomocí nejmodernějších metod zkoumání, přičemž pachatel trestného činu se jejich vzniku vědomě nemůže vyhnout, ani je běžným způsobem likvidovat.

V kriminalistické literatuře se pojem mikrostopa poprvé objevil na přelomu 19. a 20. století ve smyslu označení pro malé stopy. Prvním, kdo začal prosazovat využívání mikrostop, byl rakouský kriminalista H. Gross. Také byl jedním z prvních, kdo začal využívat optický mikroskop a mikrofotografii v kriminalistické praxi. První praktické využití mikroskopu pak bylo popsáno v roce 1904, kdy zkoumáním oděvu zavražděné ženy byly nalezeny fragmenty červeného a šedého textilního vlákna, částice šňupavého tabáku, částice uhlí a koxu a částice zeminy s obsahem slídy. V oděvu vytypovaného pachatele pak byly nalezeny materiály stejného typu.

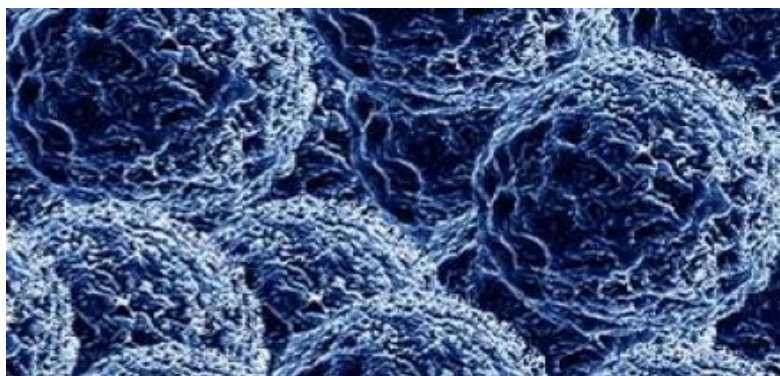
Kriminalisticko-technické zkoumání mikrostop patří odborně i přístrojově k velice náročným expertýzám. Tato skutečnost byla také limitujícím faktorem, který zapříčinil, že mikrostopy začaly být v praxi plně využívány až v 60. a 70. letech 20. století, i když první úvahy o jejich existenci a možnosti využití při objasňování trestného činu se objevily již mnohem dříve.

Oddělení fyzikálních expertýz provádí znalecká zkoumání na velmi širokém spektru předmětů. Jedná se o klasické mikrostopy, což jsou fragmenty textilních vláken, skla, kovové otěry a částice, povýstřelové zplodiny, průmyslové prachy, povýbuchové zplodiny, nátěrové hmoty a pigmenty. Vedle toho také experti provádí zkoumání v oblasti anorganické analýzy a mikroanalýzy. Jde o výbušniny a jejich komponenty, neznámé a nebezpečné látky a jedy, zkoumání žárovek po dopravních nehodách, lomy a struktury materiálů (obojí ve spolupráci s oddělením technických expertýz) a o stanovení vzdálenosti střelby (ve spolupráci s oddělením balistických expertýz).

Zpracovává se vše, co je velmi malé a co je anorganického původu. Oddělení fyzikálně-chemických expertýz velmi úzce spolupracují s oddělením grafických expertýz, chemií a balistikou.

V současné době se velkým hybatelem stává nanooblast, respektive nanočástice (obr. 1) a jejich vlastnosti, se kterými se setkáváme téměř na každém kroku,

a které se stávají téměř neodmyslitelnou součástí jak průmyslových výrobků, tak i spotřebního zboží. Pojem nanočástice nemá mezinárodní definici, ale obecně ji můžeme definovat jako částici s jedním nebo více rozměry v řádu 100 nm nebo méně. Nanočástice je možno identifikovat a díky jejich výskytu lze posoudit, zda se jedná o originální výrobek nebo padělek.



Obr. 1 Nanočástice (URL 14)

Mezi největší úspěchy práce expertů ve fyzikálně-chemické oblasti můžeme zařadit vytypování dílny, ve které pracoval a učil se vrah Straka, přezdívaný jako spartakiádní vrah i přesto, že všechny jeho vraždy se staly ještě před zahájením spartakiády. V mládí u něj byl odhalen syndrom psychomorického neklidu s neurotickými rysy a projevy. Svou obět vždy uškrtil a po smrti také sexuálně zneužil. Jiří Straka byl usvědčen ze tří dokonaných vražd, dvou pokusů o vraždu, pěti znásilnění, tří loupeží a pěti krádeží a to díky expertům, kteří na místech činu zajistili z těl obětí spermie a kovové částičky typické pro strojní výrobu a v neposlední řadě i díky svědectví dívky, které se podařilo mu uniknout. Tyto činy by v případě jeho plnoletosti pravděpodobně znamenaly trest smrti, avšak díky svému nízkému věku byl odsouzen k maximálnímu možnému trestu deseti let odnětí svobody. Soud dále nařídil kastraci a po odpykání trestu ustavní léčbu v bohnické psychiatrické léčebně. Na základě amnestie prezidenta Václava Havla byl v květnu 1994 Jiří Straka z vězení propuštěn a umístěn do uzavřeného sexuologického oddělení psychiatrické léčebny v Praze - Bohnicích. Zde se podrobil nařízené psychiatrické a sexuologické léčbě. Při pobytu ve vězení se podrobil kastraci, avšak chirurgický zákrok na mozek, tak zvanou stereotaktickou operaci, odmítl. Na základě rozhodnutí opavského Okresního soudu byla Jiřímu Strakovi zrušena ústavní léčba a 24. prosince 2004 byl z opavské psychiatrické léčebny propuštěn. (URL 1).

Experti pracovali také na rozboru povýstřelových zplodin po vraždění Lubiny, který chtěl s pistolí v ruce v centru Prahy přepadnout a okrást ženu, ale na obranu se mu postavil jiný muž, s čímž vrah nepočítal, a toho zastřelil (URL 4).

3.3 Biologická expertýza

Tato expertýza se zabývá biologickými stopami lidského, zvířecího a rostlinného původu. Vznik kriminalistické biologie můžeme přesně časově zařadit do roku 1901, kdy se poprvé a přitom úspěšně podařilo německému lékaři Paulu Uhlenhutovi rozlišit lidskou a zvířecí krev. Toto odvětví prošlo dlouhým vývojem a jeho počátky jsou spjaty hlavně s částí lékařské vědy, kterou v dnešní době označujeme jako soudní lékařství. V České republice se o rozvoji kriminalistické biologie nejvíce zasloužili Jaroslav Mayer, Milan Laupy a Petr Makovec.

Tato metoda nejčastěji určuje, zda je biologický materiál lidského či zvířecího původu. Tento průkaz se provádí tzv. Uhlenhuthovou metodou precipitačních biochemických reakcí. Tuto metodu lze využít pro všechny druhy materiálů a je založena na chemické precipitační reakci lidských nebo zvířecích bílkovin s precipitačními séry, které jsou uměle vyráběny postupným vpravováním lidského nebo zvířecí krve injekčně do těla laboratorního zvířete. V jeho těle se začnou díky odmítavé reakci tvořit tzv. specifické protilátky, které jsou zpětně odebrány z jeho krve. Ta se nechá odstát, aby se oddělila plasma, která obsahuje potřebné protilátky a používá se jako sérum. Tímto způsobem se dají připravit séra nejen pro průkaz lidské bílkoviny, ale také pro průkaz bílkovin z krve libovolných druhů zvířat. Standartně se tyto séra vyrábí proti lidské bílkovině, psí a kočičí, proti bílkovině běžných hospodářských zvířat, drobné domácí zvěře a nejběžnější lovné zvěře.

Dříve se precipitační reakce prováděla ve zkumavkách, popřípadě kapilárách, nyní se využívají modernější metody, které využívají difúzní děje ve vrstvě agarového gelu. Na tuto agarovou vrstvu gelu se umístí zkoumaný vzorek a kolem něj do kruhu se nakapou různá precipitační séra. Tímto způsobem je možné vyloučit několik druhů bílkovin najednou. Za pozitivní výsledek se považuje vznik bílé precipitační sraženiny s některým ze sér, ke které dojde pouze v případě, že ve vzorku je přítomna druhově shodná bílkovina, jejíž protilátky jsou obsaženy v použitém séru.

Při průkazu lidské bílkoviny je možno provést bližší specifikaci toho materiálu, která vede k co největší individualizaci osoby, od které vzorek pochází. Tradiční zkouškou je sérologická zkouška krevních skupin (Sojka, 2006).

Prvním objeveným krevně skupinovým systémem u člověka byl systém AB0. Nezávisle na sobě jej objevili Landsteiner (1901), Janský (1907) a Moss (1910) (Malaska, 1957).

Landsteiner se snažil zjistit, proč krevní transfúze někdy způsobí smrt a jindy zachrání pacientovi život. Za tento objev obdržel v roce 1930 Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství (URL 5).

V práci *Agglutinationssercheinungen normaler menschlicher Blute* popsal podle aglutinačních vlastností tři krevní skupiny – A, B a C. Rozdělení dosáhl na základě mísení krvinek a séra vyšetřovaných osob. U skupiny A sérum aglutinovalo, tj. shlukovalo krvinky skupiny B, naopak u skupiny B sérum aglutinovalo krvinky skupiny A. Vlastní krvinky se sérem neaglutinovaly. U skupiny C nedošlo k aglutinaci vůbec.

V roce 1902 Descatello a Sturli prokázali čtvrtou skupinu, ve které byly krvinky aglutinovány séry všech ostatních skupin. Tato skupina byla nazvána AB. To, že Landsteiner neurčil čtvrtou základní krevní skupinu, bylo zřejmě způsobeno tím, že žádná z jeho vyšetřovaných osob neměla tuto krevní skupinu (Daniels, 2002).

Kompletně stanovili čtyři základní krevní skupiny podle aglutinačních vlastností Janský (1907) a Moss (1910). Tyto skupiny označili římskými číslicemi I, II, III a IV. Moss je označil v opačném pořadí než Janský.

Dr. Janský označil jako skupinu I tu krev, kde se krvinky neaglutinovaly žádným sérem a její sérum aglutinovalo krvinky všech ostatních skupin. Krvinky skupiny IV se naopak aglutinovaly všemi séry, ale jejich sérum neaglutinovalo jiné krvinky. Sérum, které označil skupinou II, aglutinovalo krvinky skupin III a IV. Sérum skupiny III aglutinovalo krvinky skupin II a IV (Malaska, 1957).

Moss se lišil v označení tak, že zaměnil skupinu I a skupinu IV. Toto různé označení bylo po řadu let příčinou mnoha nesrovnalostí, a proto v roce 1921 výbor amerických vědeckých společností doporučil na základě priority objevu označení Janského. Ve 30. letech 20. století se krevní skupiny začaly označovat písmeny A, B, AB a 0 (která nahradila C) podle Landsteina, tj. tzv. mezinárodní klasifikací (Malaska, 1957).

Většina biologických materiálů za použití standardních sérologických metod umožňuje dospět pouze k určité skupině osob. S rozvojem molekulární genetiky a analýzy DNA je však možná individuální identifikace podle téměř každého biologického materiálu obsahujícího alespoň malý počet neporušených buněk a od používání sérologických zkoušek se postupně upouští. V případě potřeby je možné z krve také zjistit, z kterého orgánu nebo místa v těle pochází (Sojka, 2006).

3.4 Genetická expertýza

Genetická expertýza je úzce spjata s vědomostmi o DNA. Vědci se začali zajímat o děje uvnitř DNA až od roku 1944, kdy americký badatel Oswald Avery definoval roli DNA v přenosu dědičných znaků. K reálnému uplatnění DNA při forenzním zkoumání pak došlo až v roce 1986, kdy britský vědec Alec Jeffreys popsal metodu DNA fingerprintingu a poprvé využil genetické metody k vyřešení případu znásilnění a vraždy dvou 15-ti letých dívek v letech 1983 a 1986. V souvislosti s tímto případem úspěšně analyzoval vzorky krve několika tisíc podezřelých mužů.

Tyto stopy obsahovaly prakticky nedegradovanou DNA, jejíž neporušená molekula je pro výsledek zmíněné metody velmi důležitá. Dnes je tato metoda v kriminalistice označována jako kriminalistická analýza DNA nebo metoda identifikace osoby podle analýzy úseků DNA v chromozomech, které jsou u každého jedince neopakovatelné a jedinečné.

Genetická expertýza je v současnosti nejvyžadovanější expertýzou. Každým rokem narůstá počet žádostí o znalecké zkoumání v odvětví genetiky. Oddělení genetických expertýz provádí standardní analýzu jaderné DNA, která vede k individuální identifikaci osoby. Porovnáním srovnávacích vzorků se stopami lze jednoznačně určit osobu, jejíž biologický materiál byl zajištěn na místě trestného činu nebo tímto způsobem lze identifikovat neznámou mrtvolu.

Dále se provádí speciální analýzy Y-chromozomu a mitochondriální DNA. Tyto dvě analýzy neumožňují individuální identifikaci a používají se pouze ve zvláštních případech, většinou pouze jako doplňková analýza ke standardní analýze jaderné DNA. Od ledna 2007 je na území ČR v provozu také nová laboratoř, která zpracovává srovnávací vzorky ústních stěrů z celé ČR. Tato laboratoř také postupně zpracovává všechny srovnávací vzorky odebrané od osob ve výkonu trestu.

V laboratořích zpracovávajících DNA se používá přístrojová technika jako roboti na izolaci DNA, PCR cyclery, přístroje pro real-time PCR, jednokapilárové a šestnáctikapilárové sekventátory atd (URL 6).

V prosinci 2001 byla nainstalována v KÚP Národní databáze DNA (ND), která je od roku 2002 naplňována. Tato databáze umožňuje uchovávat a porovnávat genetické profily DNA lidských biologických materiálů. Pomocí údajů v ND je Policie ČR schopna vyřešit staré, neuzavřené případy.

3.5 Antropologická expertýza

V policejní praxi sem řadíme nálezy mrtvol neznámé totožnosti nebo kosterních pozůstatků. Mrtvoly, které jsou v různém stupni rozkladu měkkých tkání nebo vyskeletované pozůstatky mohou být nalezeny náhodně, například v souvislosti s různými druhy stavebních a zemních prací, při čistěním vodních nádrží nebo v bytech. Mohou být ale vyhledávány i cíleně, například při podezření ze spáchání trestného činu nebo při pátrání po pohřešované osobě. Tyto nálezy pak můžou být povrchové nebo skryté (Hlaváček, 2006).

3.5.1 Kosterní pozůstatky se zachovalými měkkými tkáněmi

Při nálezu kosterních pozůstatků se zachovanými měkkými tkáněmi se nejdříve na místo nálezu přizve policejní a soudní lékař či antropolog, kteří posoudí nález a jeho stáří. Z hygienických důvodů se při ohledání a zajišťování těchto pozůstatků postupuje velmi opatrně. Je nezbytné použít ochranný oděv, rukavice a roušku. Jedná se totiž o rozkládající se měkké tkáně a o mumifikované zbytky tkání. Věnuje se pozornost také blízkému okolí nálezu, jelikož se zde mohou vyskytovat drobné části mrtvoly nebo předměty, které s nálezem souvisejí a jsou vhodné k identifikaci nálezu. Následně dojde z zajištění samotných pozůstatků a to do polyetylenových pytlů, plastových nebo papírových sáčků, krabic či plastových kontejnerů.

Po zajištění pozůstatků se pozornost obrátí k místu pod nimi. Zemina se prozkoumává do hloubky i několika decimetrů. Provádějí se odběry hmyzu a nekrofilní fauny, larev, červů. Tyto exempláře se odebírají jednotlivě do skleněných pevně uzavíratelných lahvíček. Všechny pozůstatky a stopy se zabalí odděleně a opatří se popisem, který obsahuje název a číslo stopy, místo nálezu, datum a kdo tuto stopu zajistil. Následně se pozůstatky dopraví na příslušné pracoviště soudního lékařství. Tam se provedou standardní úkony, jako ohledání a zpracování nálezu, což je zjištění příčiny smrti, somatoskopická charakteristika mrtvého, rentgenové a toxikologické vyšetření. Ústavy soudního lékařství zajišťují odstranění zbytků měkkých tkání a teprve potom se skelet nebo jeho části předkládají do KÚP ke kriminalistické antropologické expertýze. V každém případě se k expertýze předkládá vypreparovaná lebka, Ostatní části skeletu

mohou být nahrazeny rentgenovými snímky.

Neidentifikovatelné mrtvoly nesmí být zpopelněny. Po ukončení soudně-lékařských úkonů se pohřbívají do označených hrobů z důvodu možnosti pozdější exhumace (Hlaváček, 2007).

3.5.2 Kosterní pozůstatky bez měkkých tkání

Pokud jsou nalezené kosterní pozůstatky již bez měkkých tkání, je kontaktován a na místo přivolán antropolog, popřípadě archeolog. Tento nález také může být zajištěn a odeslán ke kriminalistické antropologické expertýze příslušným kriminalistickým technikem bez přítomnosti odborníka.

Pokud je ovšem na místo činu odborník přivolán, podá kriminalistům orientační informace o původu kostí (zda jsou lidské, či zvířecí), o počtu jedinců, o uložení kosterního materiálu, o násilném poškození apod. Znalci se vyjádří i ke stáří nálezu. V odborné praxi označujeme jako post mortem interval.

S nálezem je z hygienických důvodů opět nutno manipulovat v rukavicích, oblecích a rouškách.

Pokud jsou pozůstatky uloženy povrchově, dojde k ohledání nejbližšího okolí a několika decimetrů zeminy pod nálezem, z důvodu možného rozptýlení kosterních pozůstatků a doprovodných předmětů po okolí. Při zajišťování pozůstatků uložených pod povrchem se musí postupovat velmi opatrně, aby nedošlo k porušení kostí nebo změně jejich uložení. Po zajištění kosterních pozůstatků se proseje odkrytá zemina i podloží nálezu. Tento postup umožní nalézt drobné kůstky, fragmenty kostí nebo malé doprovodné předměty, jako jsou šperky nebo části oblečení. Tyto předměty pak mohou být využity k identifikaci jedince, nebo jsou to stopy svědčící o příčině smrti.

Při zajišťování těchto pozůstatků se využívají rukavice, plastové a papírové sáčky, krabice, plastové kontejnery, přepravky, lopatky, štětečky, lupa a síto.

S kostmi se musí manipulovat velmi opatrně, aby se předešlo jejich poškození nebo ztrátě. Zvýšená pozornost musí být věnována lebce a zejména zubům, které se často uvolňují ze zubních lůžek.(Hlaváček, 2007).

Vlhké kosti se nechají volně osušit a odstraní se z nich nánosy hlíny a bahna. Pozůstatky se pak uloží do papírových pytlů nebo krabic. Drobné kůstky a fragmenty se balí zvlášť do papírových sáčků.

Nedoporučuje se dlouhodobější uložení kostí do polyetylenových sáčků (Hlaváček, 2007). Doprovodné předměty, jako jsou osobní věci nebo identifikační známky, se zabalí každá zvlášť. Všechny obaly se zajištěným materiálem musí být nezaměnitelně popsány. Popis obsahuje název, číslo stopy, místo nálezu a datum. Seznam příloh pak musí být přiložen k protokolu o ohledání.

Kosterní pozůstatky společně s doprovodnými předměty se odesílají do KÚP. Pokud archeolog určí, že se jedná o historicky hodnotné nálezy, tak se expertýza neprovádí v KÚP, ale v příslušném vědeckém pracovišti.

Problematiku forenzní antropologie můžeme rozdělit do tří oblastí:

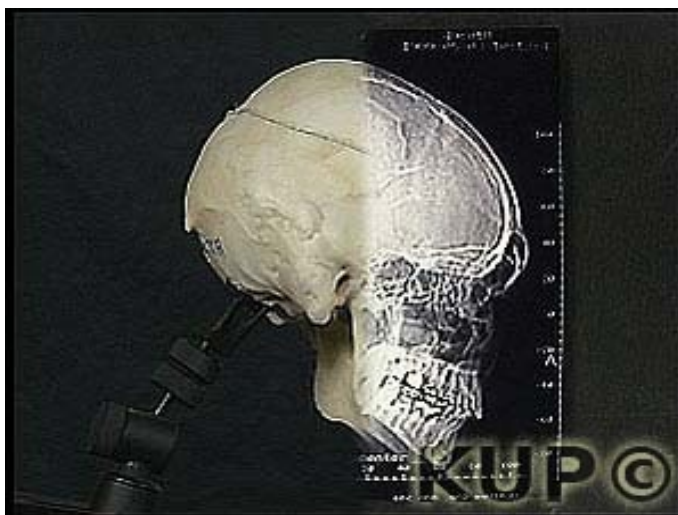
- a) osteologická expertýza
- b) fotokomparativní zkoumání
- c) trichologická expertýza

3.5.3 Antropologická osteologická expertýza

Je zaměřena na zkoumání a identifikaci lidských pozůstatků. Používá se v případech, kdy nelze využít k identifikaci rekognici, DNA analýzu nebo daktyloskopii, tedy takové postupy, jejichž výpovědní hodnota se blíží vysokému stupni pravděpodobnosti až jistotě. Identifikační proces v rámci antropologie zahrnuje kompletní vyhodnocení kosterního nálezu, tj. získání údajů *post mortem*, které jsou následně porovnány s údaji *ante mortem* o pohřešovaném jedinci. Pokud je zjištěna shoda, přistoupí se v závěrečné fázi expertýzy k superprojekci.

Superprojekce byla poprvé zmíněna v druhé polovině 19.století. Princip metody zůstal do dnešní doby stejný, metody se však postupně měnily a zdokonovaly. Postup, který se používal do 80. let minulého století, spočíval ve spojení negativu portrétu s negativem obrazu lebky fotografované v pozici adekvátní k poloze obličeje na portrétní fotografii (obr. 2). V následujících letech byla do praxe zavedena videosuperprojekce. Koncem 90. let 20. století byla v Kriminallistickém ústavu Praha vyvinuta metoda počítačové, plně digitalizované superprojekce. Superprojekční nastavení představuje v tomto případě promítnutí virtuální lebky získané pomocí laserového skeneru do portrétu relevantní osoby pomocí speciálního softwaru Blueskull.

Další fází je faciální rekonstrukce, kterou lze definovat jako proces modelování obličeje na podkladě lebky, který vychází z vědecky ověřených parametrů a vztahů mezi měkkými tkáněmi a kosterním podkladem. Virtuální trojrozměrný model lebky, databáze tloušťky měkkých tkání a sada virtuálních trojrozměrných obličejových komponent (oči, nos, rty) jsou zdrojem dat pro vytvoření aproximativní podoby tváře využitelné pro typování v databázi pohřešovaných osob (URL 7).



Obr.2 Sken lebky mrtvého (URL 15)

3.5.4 Antropologická portrétní komparace

Je to významná metoda využívaná při ověřování totožnosti osob podle dokladů, identifikace mrtvých jedinců, identifikaci pachatelů loupežných přepadení peněžních ústavů, osob realizujících neoprávněný výběr peněz v bankomatech atd.

Fotokomparativní zkoumání spočívá v hodnocení a porovnání vnějších znaků obličejů zachycených na statických či dynamických záznamech (URL 7).

3.5.5 Trichologická expertýza

Pod tímto pojmem rozumíme zkoumání lidského trichologického materiálu, tj. vlasů a chlupů, zajištěných v souvislosti s trestnou činností. Vzorky vlasů neznámé mrtvolky mohou v některých případech přispět k identifikaci (URL 7).

4 Zpracovní biologických stop

Nejčastější biologickou stopou, která se nachází na místě činu a k jejímu zpracování se využívá kriminalistická genetická expertýza je krev.

4.1 Krev

Krev je tělesná tekutina stálého složení cirkulující v uzavřené cévní soustavě. Je to suspenze buněčných elementů – erytrocytů, leukocytů a trombocytů v krevní plazmě.

Krevní plazma je nažloutlý, mírně opaleskující, slabě zásaditý vodný roztok bílkovin, elektrolytů a malých organických molekul.

Erytrocyty tvoří největší část krevních buněk. Jejich význam spočívá v přenosu dýchacích plynů mezi dýchacími povrchy a tkáněmi. Proto jsou vybaveny dýchacím barvivem – hemoglobinem. Erytrocyty savců jsou bezjaderné, mají snížený metabolismus a probíhají zde pouze některé enzymatické reakce.

Hlavní úlohou leukocytů je obrana organismu před cizorodými látkami, vstupujícími do něho zvenčí ve formě choroboplodných zárodků, prachu aj. nebo vznikajícími přímo v organismu při procesech látkové přeměny, transplantacích, rozpadu buněk apod.

Trombocyty jsou bezjaderná tělíška okrouhlého nebo tyčinkovitého tvaru různé velikosti. Jejich nejdůležitější funkcí je ochrana před ztrátami krve při poranění cév – srážení krve.

Množství krve je pro určitý živočišný druh konstantní. Celkový objem krve se u bezobratlých pohybuje zhruba od 6 do 9% tělesné hmotnosti. U dospělého člověka to představuje 4,5 – 6 litrů krve. Ženy mají ve vztahu k tělesné hmotnosti o něco méně krve než muži, mláďata více než dospělci. Zdravý člověk snáší ztrátu do 10% objemu krve. Menší ztráty krve se vyrovnávají přesunem z krevních zásobáren a převedením tkáňového moku do krve (Vácha, 2004).

Stopy lidské krve jsou velmi významné, zejména pro identifikaci osob pomocí analýzy DNA (Hlaváček, 2007).

Krevní stopy se mohou vyskytovat téměř všude, a to jak na pachateli nebo oběti, tak na samotném místě činu, popřípadě na různých nástrojích. Při podezření, že

tekutina na místě činu by mohla být lidská krev se provádí okamžitý test na prokázání lidské krve pomocí Hemophanu (Obr. 3), což jsou speciální proužky pro zjištění přítomnosti, které jsou velmi citlivé. Do vytipované tekutiny se tento proužek ponoří a pokud je test pozitivní, tak jde o specifický průkaz přítomnosti lidské bílkoviny v této tekutině.



Obr. 3 Detekční proužky Hemophan (URL 16)

Další možností je použít test HemDirekt (Obr. 4). Tento imunologický test umožňuje uživateli identifikovat stopy lidské krve ve forenzním vzorku materiálu. Ve specifické reakci antigen/protilátka, může být přítomnost lidského hemoglobinu stanovena během několika minut. Vzorek se převede do extrakčního pufru v odběrové zkumavce a rozpustí se protřepáním. Potom se pár kapek přidá do testu. Výsledek testu je interpretován opticky. Tato metoda je rychlá a snadno proveditelná. Nevyžaduje žádné složité manipulace se vzorkem, tudíž ideální pro místo činu (URL 8).



Obr. 4 Test pro zjištění přítomnosti hemoglobinu HemDirekt (URL 17)

Pokud nejsou na místě činu krevní stopy viditelné, ale je podezření, že zde byla spáchána trestná činnost a krevní stopy byly odklizeny, tak se používá systém zvaný Bluestar. Jde o přípravek, jehož účelem je odhalit stopy krve, které byly setřené, jsou vybledlé nebo nejsou viditelné pouhým okem. Funguje na principu chemiluminescence (CL). Chemiluminescence je proces, při němž je produkováno světlo chemickou reakcí. Chemiluminiscenční reakce vytvářejí produkty v excitovaných stavech. Jsou-li tyto částice fluorescenční, je pravděpodobné, že budou zářit a tak lze pozorovat produkci světla - přímá CL. Pokud je v systému přítomná další molekula schopná sama přijmout excitační energii, dojde k přenosu energie. Původně excitované molekuly se nazývají "primární emitory" nebo "donory (excitační energie)", druhé se nazývají "akceptory (excitační energie)". V případě, že akceptor vykazuje větší fluorescenci nežli donor (na vhodné vlnové délce), nastává senzitivizační proces. CL reakce poskytuje "více světla". Odtud "nepřímá" nebo "senzitivizovaná" CL (Gundermann, 1987).

Technik pracující s Bluestarem a zjišťující přítomnost kve na místě činu, musí nosit ochranný oděv, aby nedošlo ke kontaminaci. Podle návodu na zvoleném typu Bluestaru si technik připraví roztok. O několik minut později se otestuje jeho účinnost na krevní stopě. Pokud vyjde test pozitivně, tak můžeme začít pracovat s latentními skvrnami. Technik nastříká připravenou směs ze vzdálenosti asi 50cm na testovaný povrch. Modravá luminiscence znamená pozitivní výsledek. Zhruba po minutě začíná luminiscence slábnout, ale opětovným nástříkem se skvrny znovu rozzáří. Zároveň se však stejný postup zopakuje na neposkvřené oblasti jako negativní kontrola.

Po průkazu, že se jedná o lidskou krev začíná její zpracování částečně na místě činu, jelikož její vzhled je velmi důležitý. První se hodnotí barva. Červenou až hnědou barvu má čerstvá krev, naopak tmavohnědou až černou barvu má krev stará.

Kromě různých barev mají krevní stopy také rozmanité tvary. Mohou se vyskytovat ve formě kapek, stříkanců, šmouh, kaluží nebo tratolišť krve. Můžeme je také najít jako otisky prstů, dlaní, chodidel, obuvi nebo jen jako šmouhy po jejich otírání.

Při nálezů krevních stop ve formě kapek, se podle jejich tvaru dá zrekonstruovat, co se na místě činu dělo. U výsledné kapky se technik zaměřuje na několik hledisek, a to na: úhel dopadu, povrch, rychlost a rozptyl.

4.1.1 Úhel dopadu

Čím menší je úhel dopadu, tím protáhlejší je výsledná kapka, kdežto kapka dopadající kolmo na povrch vytváří kruhový obrazec. Krev dopadající pod úhlem 10° vytváří obrazec, jehož délka bude několikrát delší než šířka. Podle tvaru ještě poznáme, z jaké strany kapka na objekt spadla. Názorně to můžeme pozorovat na obr. 5.



Obr.5 Nahoře jsou kapky dopadající pod úhlem 70° . Mají charakteristický tvar vykřičníku, s nepatrnou kapkou, která je lehce odskočená a vytváří druhý obrazec. Dole jsou kapky dopadající pod úhlem 20° . Jejich tvar je jen lehce protáhlý (URL 18).

4.1.2 Povrch

Dalším faktorem je i povrch plochy, na který kapka dopadá. Vzhled kapky je rozdílný pokud dopadne například na pevný a tvrdý povrch podlahy nebo pokud dopadne na měkký povrch tkanin.

4.1.3 Rychlost

Rychlost kapky ovlivní její deformaci na povrchu objektu, kam kapka dopadla. Pomalu letící kapka způsobí nulové až velmi malé odstříknutí následných drobných kapek. Rychle letící kapka vytvoří rozsáhlé odstříknutí. V praxi se určí tři druhy rychlosti kapek. Pomalé kapky letí do 2m/s, střední do 10m/s a rychlé okolo 100m/s. (URL 2)

4.1.4 Rozptyl

Rozptyl kapek určuje vzdálenost objektu, od kterého krev pochází, od povrchu, na který dopadly. Čím větší rozptyl kapek je, tím větší byla vzdálenost původce kapek od povrchu, na který dopadly (URL 9).

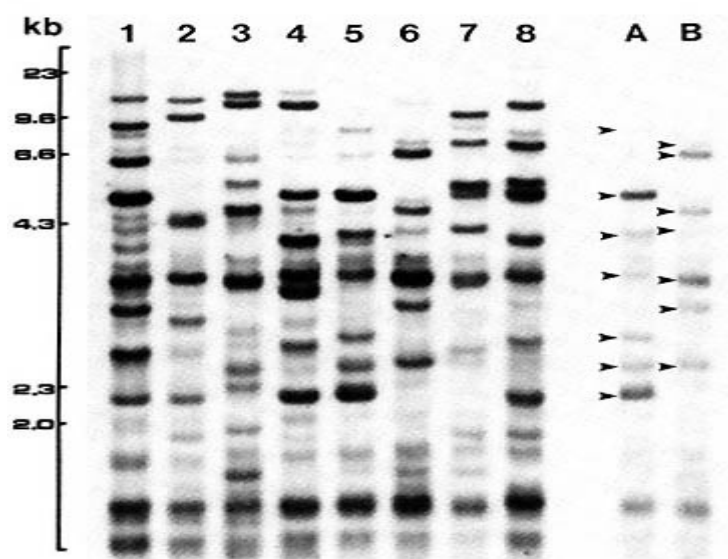
Po spojení všech těchto informací o krevních stopách můžeme určit přibližný průběh činu nebo například potvrdit nebo vyvrátit verzi o průběhu činu.

Po zajištění biologické stopy je prvním metodickým úkonem izolace jaderné DNA. Podle typu stopy, stavu materiálu a dalších plánovaných úkonů je nutno zvolit vhodný izolační postup (Makovec a Hradil, 2002).

4.1.5 Krevní testy

Základním testem pro určení pohlaví původce krevní stopy je přítomnost Barrova tělíska, nebo-li sex-chromatinu, který se typicky vyskytuje pouze v samičích buňkách. Jde o velmi malé, barvitelné tělísko v jádře klidových buněk samic u savců. Toto tělísko vzniká trvalou kondenzací jednoho ze dvou X-chromozomů, který je tak inaktivován.

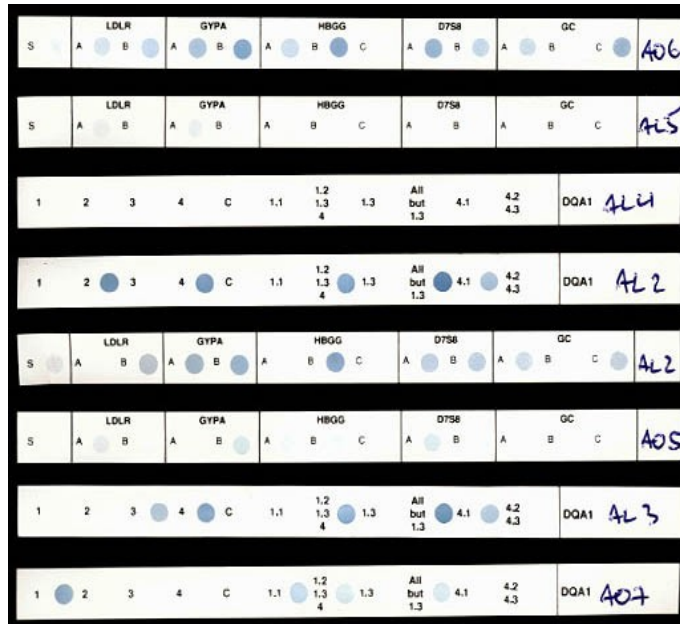
V krvi se nachází velké množství DNA. Historie metod kriminalistického využití analýzy DNA k identifikaci začala metodou tzv. DNA fingerprintingu, která byla poprvé popsána v roce 1985 anglickým genetikem A. Jeffreysem. Princip spočívá ve využití úseků DNA, v nichž se opakují shodné sekvence (pořadí) nukleotidů. Tyto úseky jsou pak enzymaticky v určitých cílových místech, odpovídajících použitému enzymu, rozštěpeny restriční enzymem. Tak dojde ke vzniku směsi různě dlouhých fragmentů DNA. Po elektroforetickém rozdělení těchto fragmentů podle velikosti se na řádky fragmentů aplikuje tzv. multilokusová sonda (krátký sled nukleotidů, který se připojí vždy k těm fragmentům, které obsahují odpovídající doplňkové nukleotidy). Použitá sonda bývá ke zviditelnění označena radioizotopem nebo navázanou peroxidázou. Popsaná metoda genetické analýzy DNA bývá nazývána „restriction fragment length polymorphism - RFLP“. Jistě si vzpomenete na fotografie dlouhých sloupců různě intenzivně zbarvených skvrn a proužků. Popsané elfogramy z konce 80. let jako první umožnily individuální identifikaci osob na základě analýzy DNA. Tato metoda byla nejen časově náročná a pracná, ale hlavně měla vysoké riziko ovlivnění výsledku v závislosti na degradaci zkoumané DNA, vyvolané sekundárním působením na stopu nebo metodickým detailem ve zpracování analýzy (obr.6).



Obr. 6 Ukázka výsledku elektroforézy metodou RELP.

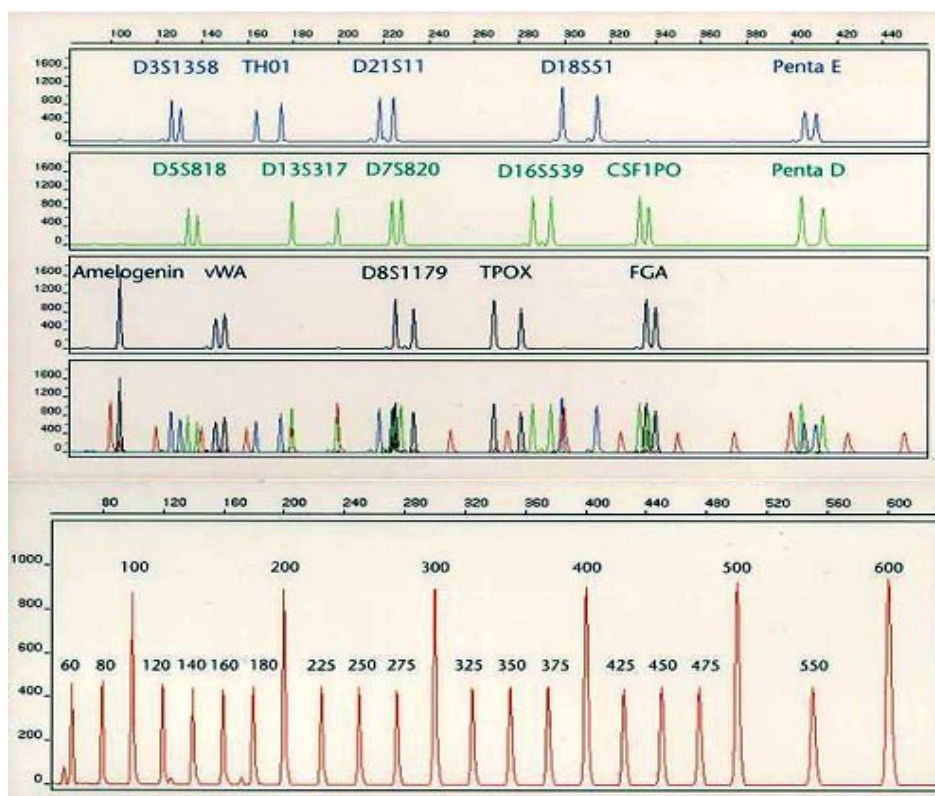
Porovnání stop 1-8 se srovnávacími vzorky A a B (URL 19).

V devadesátých letech se proto začaly využívat detekční proužky s navázanými DNA sondami. V případě hybridizace amplifikovaného úseku DNA (tj. spojení navázané sondy s odpovídající alelou ve vyšetřovaných lokusech) a následné enzymatické detekce se příslušná místa výrazně zbarvovala. Podle zbarvených skvrn v označených místech na detekčních proužcích bývají nazývány DOT-BLOT metody. Jejich hlavním nedostatkem však je to, že nedosahují vylučovacích kritérií, která lze označit za individuální (obr 7).



Obr. 7 Ukázka výsledku metody DOT-BLOT (URL 19)

Od devadesátých let se pro identifikační forenzní zkoumání ustálila v celém světě prakticky jediná metoda - stanovení tzv. STR polymorfizmů. Metoda využívá variabilitu v opakování krátkých sekvencí nukleotidů v určitých úsecích DNA (STR - Short Tandem Repeat). Aby bylo dosaženo vysoké rozlišovací schopnosti, je vyšetřováno těchto STR polymorfizmů více současně. Po současné amplifikaci více úseků DNA s vyšetřovanými polymorfizmy jsou získané amplifikáty rozděleny podle velikosti a hodnoceny v tzv. sekvenátoru, na přístroji firmy PE Applied Biosystems ABI PRISM 310 (obr. 8)



Obr 8. Ukázka záznamu z přístroje ABO PRISM 310 po rozdělení jednotlivých STR polymorfizmů (URL 19)

V genetických laboratořích Policie ČR jsou z technických i finančních důvodů využívány diagnostické sady Power Plex 16 firmy Promega, které obsahují všechny potřebné komponenty k současnému vyšetření 16 polymorfizmů včetně amelogeninového systému určujícího pohlaví osoby, od které pochází vyšetřovaný materiál. Při stanovení všech 16 polymorfizmů lze dosáhnout pravděpodobnosti shody dvou nepříbuzných jedinců v populaci asi 1:1018. Žádný ze stanovovaných STR polymorfizmů (s výjimkou amelogeninového lokusu) nekóduje významný somatický znak nebo vrozenou vlastnost jedince, a tedy ani není využíván při lékařské diagnostice chorob.

Tak jako se postupem času ustálila metoda forenzní genetické analýzy, sjednotily se i polymorfizmy používané k vytvoření DNA - profilu, tj. určitého vzorce, který je charakteristický pro každého lidského jedince. Jedná se asi o 20 polymorfizmů, podle typů používaných analytických sad. Ke všem používaným STR polymorfizmům byly zpracovány populační studie pro určité typy populací a stanoveny frekvence výskytu jednotlivých alel.

Z výsledku genetické analýzy je možné podle populační frekvence zjištěných alel spočítat pravděpodobnost četnosti výskytu zjištěného DNA profilu v populaci. K dosažení pravděpodobnosti, kterou lze považovat za individuální identifikaci jednotlivce, v praxi většinou stačí stanovení asi 9 - 12 polymorfizmů STR lokusů. Chybí však jednoznačné stanovisko, které by podobně jako v daktyloskopii stanovilo hranici pravděpodobnosti četnosti výskytu určitého profilu jako dostačující k individuální identifikaci (Makovec a Hradil, 2008).

Izolace DNA se provádí z plné krve. 20 mg homogenizované tkáně se vloží do 1,5 ml Eppendorfovy zkumavky, přidá se 200 μ l pufru T1 a vortexujeme 10 s. Přidáme 25 μ l proteinázy K o koncentraci 20 mg/ml a znovu vortexujeme 15 s. Necháme 2 hod inkubovat při 56°C. Po této době se přidá 200 μ l pufru T2, 15 s vortexujeme a opět inkubujeme po dobu 10 min při 70°C. Roztok chladíme na ledu 1min, po ochlazení přidáme 200 μ l 96-100% ethanolu a 15 s vortexujeme. Do centrifugační zkumavky vložíme kolonku a přepipetujeme do ní směs a centrifugujeme 1 min při 14 000 rpm. Vylije se centrifugační zkumavka, vrátí se do ní zět kolona. Do kolony se přidá 500 μ l pufru TX a centrifugujeme 1 min při 14 000 rpm. Opět vylijeme centrifugační zkumavky, vrátíme do ní kolonku a do kolonky se přidá 500 μ l pufru T3 a opět centrifugujeme 1 min při 14 000 rpm a potom se centrifugační zkumavka opět vylije. Aby se odstranil veškerý T3 pufr, tak centrifugujeme 2 min při 14 000 rpm prázdnou kolonku. Kolonku umístíme do čisté 1,5 ml Eppendorfovy zkumavky a DNA eluujeme 100 μ l eluačního pufru, který je předehřátý na 70°C. Necháme inkubovat po dobu 2 min při pokojové teplotě. Po dobu 2 min centrifugujeme při 14 000 rpm, ale tentokrát zkumavku nevytliváme, protože DNA se nachází v roztoku uvnitř Eppendorfovy zkumavky. Získaná DNA bude vizualizovaná na 1% agarózovém gelu a následně použita na polymerázovou řetězovou reakci (PCR) (URL 10).

Metoda PCR je cyklická reakce sloužící k amplifikaci určitého úseku molekuly DNA a je prováděna ve zkumavce, ve které je obsažen vzorek s dsDNA s cílovou sekvencí, pufrovací roztok s DNA polymerasou, oligonuklotidové primery, čtyři druhy dNTP a kofaktor MgCl₂. Každá PCR reakce začíná počáteční denaturací, kdy je nutné, aby nastala kompletní denaturace templátu, a tak vznikla vazebná místa pro primery. Pokud je denaturace nekompletní dochází k neúplnému použití templátu v první amplifikačním cyklu a tím k celkově nízkému zisku PCR produktu. Počáteční

denaturace se provádí při 95°C po dobu 2 až 5 minut. U vzorků bohatých na G/C páry je doba prodloužena na 10 minut. Po ukončení počáteční denaturace následuje cyklus, který se skládá ze tří kroků:

1. DENATURACE – zkumavka s reakční směsí se zahřeje na teplotu 94 – 96 °C. Dochází k relaxaci a denuraci molekuly dsDNA do dvou ss molekul, tzv. templátových DNA. Nedostatečně denaturovaná DNA neumožňuje přístup primerů a příliš dlouhá denaturace může způsobit snížení aktivity DNA polymerasy.
2. PŘIPOJENÍ PRIMERŮ – ochlazení reakční směsi na 50 – 65 °C umožňuje navázání primerů k jejich komplementárním sekvencím na ssDNA. Teplota určuje specifčnost vazby primeru na templát a stanovuje se empiricky.
3. PRODLOUŽENÍ PRIMERŮ, POLYMERIZACE – zahřátí reakční směsi na 70- 72 °C, následuje navázání DNA pomocí volných sNTP. Nově syntetizované řetězce slouží jako templáty pro další cyklus reakce (Bustin, 2004).

Tento cyklus se opakuje 28 krát a dojde tímto k namnožení cílových úseků DNA na 800 kopií. PCR reakce končí závěrečnou extencí. Vzorek je ponechán při 72°C po dobu 5 až 15 minut, aby mohlo dojít k dokončení syntézy a renaturaci jednovláknových produktů (Bustin, 2004).

Dalším krokem je kapilární elektroforéza, což je ve srovnání s vysokotlakou kapalinovou chromatografií a plynovou chromatografií relativně nová separační metoda (URL 11). Kapilára je naplněna základním elektrolytem, který vede proud. Její konce jsou ponořeny do zásobníků s elektrolytem, společně s elektrodami z inertního materiálu (Pt). Mezi elektrody se aplikuje vysoké napětí (10 – 30 kV). Malý objem vzorku se dává do konce kapiláry. Kapilára prochází přes detektor, obvykle fotometrický (sledování absorpce ultrafialového záření). Záznam závislosti odezvy detektoru na čase se nazývá elektroforegram. Elektroforegram je podobný chromatogramu. Poloha píků určuje kvalitu, plocha nebo výška píků kvantitu (Klouda, 2003).

4.2 Kost

Kostní nálezy jsou pro odborníky také velmi přínosné na informace. Kvalita a množství informací je ale samozřejmě závislá na stáří materiálu. Obecně platí, že čím mladší nález, tím více informací. Pro kosterní nálezy se využívá ke zjištění informací několik metod. Základní metodou je fenol-chloroformová extrakce (Makovec a Hradil., 2002).

Prvním krokem je lýza buněk, ze kterých chceme nukleové kyseliny získat. V laboratoři nejdříve musí dojít k mechanickému rozrušení materiálu a to většinou rozdrcením ve třecí misce. Kost je možno ještě předtím zmrazit tekutým dusíkem. Pro zvýšení čistoty izolované DNA se někdy k lyzačnímu roztoku přidává enzym proteináza K, který štěpí bílkoviny, včetně histonů vázaných na strukturu DNA.

Buněčný obsah včetně nukleových kyselin se z lyzovaných buněk uvolní do pufrovaného roztoku, který kromě detergent obsahuje etylendiamintetraoctovou kyselinu (EDTA). Ta chelatuje ionty vápníku, které jsou potřebné jako kofaktor nukleáz. Nukleázy bez vápníku nepracují, takže vychytáním vápníku zabráníme rozštěpání čerstvě uvolněné DNA nukleázami, které se z lyzovaných buněk také uvolní. Jako inhibitor nukleáz fungují také některé detergenty, které se používají při lýze buněk – zejména laurylsíran sodný a N-laurylsarkosin.

Tradiční fenol-chloroformová metoda extrakce ponechává nukleové kyseliny rozpuštěné ve vodném prostředí (pufri) a odstraňuje ostatní složky lyzátu, především proteiny. K lyzátu je přidána směs fenolu, chloroformu a izoamylalkoholu. Chloroform je organické rozpouštědlo a nemísí se s vodným roztokem buněčného lyzátu, takže se směs rozdělí na dvě fáze – horní vodnou a dolní chloroformovou. Protřepáváním dochází k mísení fází, při kterém fenol sráží proteiny přítomné ve vodném lyzátu. Izoamylalkohol zvyšuje rozpustnost fenolu v chloroformu, takže po skončení protřepávání přejde fenol do chloroformové fáze. Po protřepání je roztok odstředěn pro dokonalé oddělení fází. Na rozhraní mezi fázemi se obvykle objeví bílý prstenec sražených proteinů. Horní vodná fáze obsahuje nukleové kyseliny a je přenesena do nové čisté zkumavky. Pro dokonalé odstranění proteinů je nutno extrakci opakovat opětovným přidáním směsi fenol-chloroform-izoamylalkohol a protřepáváním tak

dlouho, dokud se na rozhraní nepřestane po odstředění objevovat bílá proteinová sraženina. U izolace z rostlin, hub a některých bakterií je někdy nutné odstranit i polysacharidy extrakcí s cetyltrimetylamonium bromidem (CTAB). Nakonec je nutné extrahovat ještě jednou směsí jen chloroformu s izoamylakoholem (24:1), aby byly odstraněny i stopy fenolu v roztoku, které by mohly interferovat např. s použitím enzymů při dalším opracování izolovaných nukleových kyselin.

Z přečištěného vodného roztoku je možné nukleové kyseliny vysrážet přidáním koncentrovaného etanolu, po odstředění se na dně zkumavky objeví mléčně zkalený sediment (pelet). S nukleovými kyselinami se srážejí (koprecipitují) i soli, které zvyšují účinnost srážení nukleových kyselin a dávají peletu bílé zbarvení. Soli je pak potřeba odmýt 70% etanolem. Čisté nukleové kyseliny je možné po odsátí supernatantu rozpustit ve vodě nebo ve vhodném pufru. Protože více než 95% objemu nukleových kyselin v buňce tvoří RNA, převažuje RNA i v tomto roztoku. Pokud potřebujeme pracovat s čistou DNA, musí být RNA odstraněna působením RNázy. Roztok musí být poté znovu přečištěn fenol-chloroformovou extrakcí a DNA sražena etanolem (URL 12).

Tato metoda je časově náročná, ale umožňuje získat velmi čistou vysokomolekulární frakci DNA. Další dvě metody izolace jaderné DNA, chelexová extrakce a extrakce pomocí FTATM papírků, jsou maximálně zjednodušené, aby snadným a rychlým způsobem připravily DNA pro amplifikační reakci (PCR) (Makovec a Hradil, 2002).

4.3 VLAS

Vlasy, chlupy a srst se souhrně označuje jako trichologický materiál. Jsou to vlastně zrohovatělá vlákna vyskytující se prakticky na celém povrchu těla, s výjimkou dlaní, chodidel, postranních částí a hřbetů distálních článků všech prstů, červeného lemů rtů, vnitřních stran labia majora (stydké pysky), labia minora (malé stydké pysky), preputia a glans penis. Hustota vlasu je jednak individuální a jednak regionální. Hustota porostu vlasu na hlavě se pohybuje v rozmezí 200–300 vlasů/cm². Oproti tomu hustota ochlupení hřbetu ruky je v rozmezí 15-20 chlupů/cm². Délka vlasu je prakticky neomezená, tloušťka činí 0,05-0,6 mm. U rovných vlasů je možné na příčném řezu pozorovat kruhové profily, u kruhových vlasů jsou tyto profily oválné, popřípadě ledvinovité.

Na některých místech těla je růst chloupků regulován pohlavními hormony, především androgeny. Androgeny jsou většinou steroidní hormony, které stimulují aktivitu samčích pohlavních orgánů a vývoj sekundárních pohlavních znaků. Jedním typem androgenů jsou anabolické steroidy. Tyto hormony způsobují v období puberty u chlapců proměnu silně pigmentovaných chloupků v obličeji ve vousy a u dívek se mění jemné chlupy v oblasti podpažní jamky a v oblasti na mons pubis na silné chlupy sekundárního ochlupení. Spojitost s pohlavními hormony vykazuje u mužů také plešatění (URL 13).

4.3.1 Stavba vlasu (chlupu)

Každý vlas (chlup) se skládá z několika částí (obr. 9). Rozdělujeme je na část vyčnívající nad pokožku, scapus pili a na část do kůže šikmo zasazeného vlasového kořene, radix pili. Konec kořene se zduřuje a přechází ve vlasovou cibulku, bulbus pili, která zvonovitě nasedá na vazivovou papili, papilla pili. Kořen vlasu obalují pochvy, a to zevní a vnitřní epitelová pochva a pochva vazivová, které vytvářejí trubicovitý útvar, v němž je vlas pevně uchycen. Souhrně se používá označení vlasový (chlupový) váček, folliculus pili.

Volná část vlasu je pružné vlákno, které vyrůstá z vlasového kořene. Volný vlas i kořen vlasu se skládají z centrálně uložené dřene, kterou periferně obaluje kůra, krytá vlasovou kutikulou.

Dřeň vlasu

V tlustých chlupcích, jako jsou vousy a řasy, je u člověka vyvinuta dřeň vlasu, *substantia medullaris pili*. U tenkých vlasů je místy přerušena, u velmi slabých, převážně kožních chlupů, chybí zcela. Dřeň se skládá z 1 až 2 sloupců buněk, které při vlasové cibulce ještě obsahují jádra a mají polygonální tvar. Směrem ke *scapus pili* buňky dřeně postupně keratinizují a přeměňují se ve svrašťelé rohové váčky, vyplněné vzduchem. Přítomnost vzduchu v keratinizovaných elementech a intercelulárních prostorech způsobuje, že vlasová dřeň se v dopadajícím světle jeví jako světlá a v procházejícím světle jako tmavá. Kromě vzduchových vakuol zrohovatělé buňky dřeně obsahují obvykle lipidové kapky a zrnka pigmentu.

Barva vlasů závisí na obsahu melaninu v buňkách vlasové kůry. Pigment buňky získávají cytotkrinní sekrecí z melanocytů, které leží na rozhraní mezi vlasovou papilou a vnitřními epitelovými buňkami vlasové cibulky. Počet a velikost pigmentových zrn stejně jako jejich rozložení v korových buňkách dosti kolísá. Velmi mnoho melaninu obsahuje kůra u tmavých vlasů. V plavých vlasech je pigmentu poměrně málo. Je zjištěno, že s přibývajícím věkem melaninu v kortexu ubývá a že v buňkách, ale i intracelulárně, se množí vzduchové vakuoly, způsobující šedivý vzhled vlasů.

Kůra vlasu

Kůra vlasu (*substantia corticalis pili*) obklopuje sloupec dřeňových buněk a je složena ze silně zrohovatělých, vřetenovitě protažených buněk, které k sobě velmi pevně lnou, takže je nelze běžnými prostředky od sebe oddělit. Vysoká soudržnost buněk se vysvětluje zvláštnostmi keratinizačního procesu a u *substantia corticalis pili*, kde buňky i po zrohování zůstávají na rozdíl od epidermis stále mezi sebou pevně spojeny. V buňkách se netvoří keratohaylin, což je prekurzor keratinu, a jádra v nich nikdy úplně nemizí, ale perzistují v různém rozsahu. Rohování kůry začíná v oblasti kořene a v porovnání s epidermis probíhá nespojitě, tj. diskontinuálně. Keratinizace buněk *substantia corticalis pili* se označuje jako rohová, nebo tvrdá keratinizace a pokládá se za protiklad epidermální (měkké) keratinizaci, která je charakteristická pro pokožku.

Kutikula vlasu

Kutikula vlasu (epidermikula) kryje povrch kůry vlasu. V oblasti vlasové cibulky ji tvoří vrstva kuboidních až cylindrických buněk, které se hned bezprostředně nad ní vertikálně protahují, oplošťují a současně velmi rychle rohovějí. Buňky epidermikuly se překrývají jako tašky na střeše a jejich volné konce směřují ke scapus pili. Buňky vlasové kutikuly se diferencují na vlasu jako poslední.

Vlasová cibulka

Vlasová cibulka (bulbus pili) je ekvivalentem ke stratum germinativum epidermis a skládá se z dělivých buněk. Jejich diferenciací vzniká nejen dřev, kůra a vlasová kutikula, ale i elementy vnitřní epitelové pochvy vlasového folikulu.

Proliferace buněk vlasové cibulky se střídá s klidovými fázemi, což je příčinnou diskontinuálního růstu vlasů (chlupů).

Vlasová papila

Vlasová papila (papilla pili) je výběžek vaziva škály, na který sedlovitě nasedá vlasová cibulka. Papila obsahuje četné krevní vlasečnice, které zajišťují výživu buněk cibulky. Poškození kapilární pleteně ve vlasové papile má za následek odumření cibulky a ztrátu vlasu.

Vlasový chlupový váček

Vlasový, resp. chlupový váček je trubicovitý útvar obalující kořen každého chloupku či vlasu, jehož stěna se skládá z vnitřní epitelové pochvy a z vazivové pochvy.

Vnitřní epitelová pochva vyrůstá podobně jako vlas z vlasové cibulky a končí v místech, kde do váčku vyúsťuje mazová žláza. Tato část se označuje jako krček folikulu. Buňky vnitřní epitelové pochvy od cibulky směrem ke krčku postupně rohovatější, takže při vyústění mazové žlázy pochvu tvoří již jen keratinizované zbytky buněk. Ty se posléze odlučují a mísí se s kožním mazem.

Vnitřní epitelová pochva vlasu se skládá ze tří vrstev. Jsou to kutikula vnitřní epitelové pochvy, Huxleyova vrstva a Henleova vrstva.

Kutikula vnitřní epitelové pochvy

Kutikula vnitřní epitelové pochvy (*cuticula vaginalis*) má podobnou stavbu jako *cuticula pili*, avšak volné okraje rohových šupinek nasměrují ke kožnímu povrchu, nýbrž k vlasové cibulce. Protichůdná orientace buněk v obou kutikulách způsobuje, že jejich volné okraje do sebe přesně zapadají, čímž je zajištěno velmi pevné zakotvení chlupu či vlasu ve folikulu.

Huxleyova vrstva

Huxleyova vrstva (*stratum epitheliale granuliferum*) leží uprostřed vnitřní epitelové pochvy a skládá se z 1 až 3 buněčných vrstev. Buňky na vlasové cibulce, původně malé, se ještě pod středním úsekem vnitřní pochvy, což je úsek mezi cibulkou a krčkem folikulu, zvětšují a mění na polyedrické. Jádra jsou v buňkách obvykle zachována a jejich cytoplazma obsahuje velká trichohyalinová zrna. Je to obdoba keratohyalinových zrn se *stratum granulosum epidermis*.

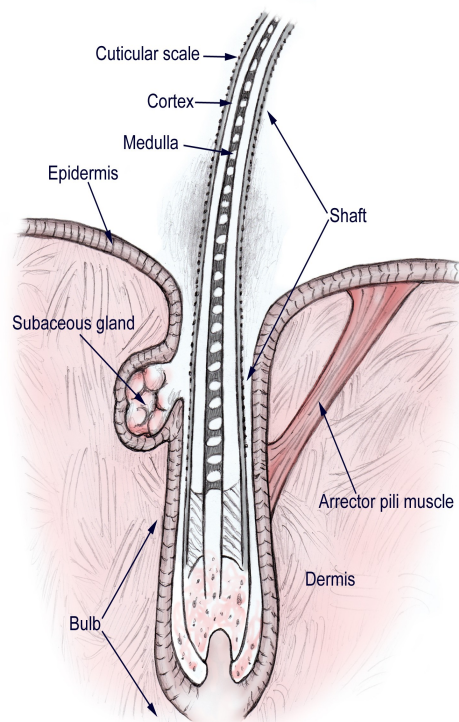
Henleova vrstva

Henleova vrstva (*stratum epitheliale pallidum*) se skládá z plochých bezjaderných a zrohovatělých buněk, rozložených v jedné vrstvě. Trichohyalinová zrnka jsou přítomna, jsou však velice jemná.

Zevní epitelová pochva představuje vlastně do koria vchlípenou epidermis. Až po ústí mazové žlázy se stavebně shoduje s pokožkou, od ústí mazové žlázy směrem k vlasové cibulce se její stavba mění v tom smyslu, že mizí *stratum corneum* a pochva se ztenčuje až na jednu vrstvu buněk, které nakonec splynou s buňkami vlasové cibulky.

Vazivová pochva je tvořena zhuštěným vazivem koria. Je trojvrstevná a skládá se ze sklovité blanky (*lamina vitrea*), na kterou nasedá epitel zevní epitelové pochvy vlasu, vnitřní cirkulární a zevní longitudiální vrstva lišících se navzájem orientací a uspořádáním kolagenních a elastických vláken okolo chlupového váčku.

Musculus arrector pili je svazeček z hladkých svalových buněk, který se rozpíná mezi dolním koncem vazivové pochvy vlasového folikulu a povrchními vrstvami škáry. Nachází se na té straně váčku, která s kožním povrchem svírá tupý úhel. Při kontrakci tohoto svalu se v kůži šikmo uložený vlas napřímí, tzv. husí kůže. V prostoru mezi stěnou folikulu, svalem a pokožkou je uložena mazová žláza (URL13).



Obr. 9 Stavba vlasu: cuticular scale (kutikula), cortex (kůra), medulla (dřeň), epidermis (pokožka), subaceous gland (mazová žláza), bulb (cibulka), arrector pili muscle (svalové buňky) (URL 20)

4.3.2 Typy vlasů, chlupů

Lidské vlasy a chlupy můžeme rozpoznat od chlupů jiných savců. Lidské vlasy a chlupy mají rozmanitou strukturu. Podle této struktury můžeme rozdělit vlasy a chlupy do šesti typů:

- vlasy hlavové – mají kruhový příčný průřez. Konečky vlasů jsou často roztřepené v důsledku stříhání
- řasy a obočí – mají kruhový příčný průřez a kuželovité zakončení. Řasy a obočí jsou krátké délky
- vousy – jsou tužší, obvykle vlnitější než vlasy a často mají trojúhelníkový příčný řez
- tělesné chlupy – chloupky z ostatních částí těla jsou krátké, jemné, tenké a jejich hrot je často zakulacený třením o šaty
- chlupy v podpaží – mají oválný příčný průřez. Tyto chlupy jsou vždy mechanicky poškozeny, silně zohýbány, jejich hrot je obroušen a zakulacen.

Někdy na nich můžeme najít žlutavé masy, pocházejí od zaschlého potu.

- pubické ochlupení – je zpravidla pružné a má oválný nebo trojúhelníkový příčný průřez. Ženské pubické ochlupení je zpravidla kratší a vlnitější (Jandásek, 2008)

4.3.3 Zpracování vlasu

Pokud je na místě činu nalezen vlas, popřípadě chlup, je pro vyšetřovatele také velmi přínosným materiálem. Z vlasu lze vyčíst krevní skupinu, popřípadě příslušnost jeho majitele k etnické skupině. U lidí, kteří žijí ve stejné zeměpisné oblasti se stejným klimatickým prostředím, se zpravidla i jejich strava skládá z prakticky stejných složek. Od toho se odvíjí i podobná struktura minerálních látek ve vlasu. Dle dlouhodobých vědeckých výzkumů jsou vytvořeny jakési normy, kam podle zjištěných hodnot neznámého vzorku můžeme vlas zařadit. Složení vlasů občanů České republiky odpovídá normě stanovené pro středoevropskou populaci. K těmto analýzám se používá moderní metoda atomové absorpční spektrometrie (AAS), kterou se zjišťuje kvantitativní analýza prvků ve vlasech. Lze rozpoznat i kosmetiku, kterou původce používá. Dále můžeme získat DNA, což vede ke zjištění konkrétní osoby, zjistit přítomnost prvků jako těžké kovy, olovo, toxické látky, drogy, minerální látky atd. v těle.

4.3.3.1 Krevní skupina z vlasu

Zjištění krevní skupiny z vlasu či chlupu se provádí stejným způsobem, jako zjištění krevní skupiny z kosti. Používá se absorpčně eluční metoda (AE). Tato metoda je založena na spojení antigenu a protilátky v absorpční fázi. Poté se vymyjí přebytečné protilátky. V eluční fázi (za tepla) se protilátky ze substrátu opět odloučí. Nakonec se uvolnění protilátek dokazuje (Paoli, 1986).

Vlas se musí nejdříve promývat ve vodě a etanolu, aby došlo k odstranění voskové vrstvy, která je na povrchu vlasu. Poté je vlas nastříhán na asi 0,5 – 1 cm a v třecí misce nadrcen. V případě kosti používáme též kostní prášek. Navážeme si 5 mg materiálu a dáme do dvou zkumavek. Do jedné budeme přidávat anti-A a do druhé anti-B protilátky. Pro kontrolu je dobré si zkumavky popsat. Zkumavku do které se bude

přidávat anti-A popíšeme červeně a zkumavku do které přijde anti-B modře. Do všech červeně popsaných vzorků přidáme k nadrceným vlasům nebo kostem za chladu 600 μ l monoklonální protilátky anti-A naředěné v poměru 1:100 ve fyziologickém roztoku. Stejně tak přidáme do modře popsaných zkumavek stejný objem protilátky anti-B. Takto je necháme inkubovat ve 4°C minimálně přes noc, ale je zapotřebí několikrát zkumavky protřepat. Po inkubaci vložíme stojan se zkumavkami obsahující vzorky do ledové lázně a odsajeme opatrně, aby jsme neodsáli i vlasy či kosti, supernatant. Poté asi 5x promyjeme ledovým sterilním fyziologickým roztokem. Po promytí přidáme do každé zkumavky 400 μ l pufru a temperujeme v 56°C 15-20 minut. Během této doby celý stojan se zkumavkami asi 3x protřepeme. Po vyjmutí z termostatu odsajeme supernatant do Eppendorfových zkumavek a napipetujeme do každé 10 μ l 3% suspenze erytrocytů. Zkumavky opět temperujeme po dobu 30 min ve vlhké komůrce, kde je teplota 37°C. Poté zkumavky vyjmeme a vložíme do centrifugy, kde je stočíme 1 minutu při 3000 rpm. Po vyjmutí je důkladně protřepeme a znovu zcentrifugujeme. Opět velmi důkladně protřepeme a vylijeme na plastovou destičku a proti bílému podkladu hodnotíme aglutinaci, která potvrzuje výskyt daného antigenu v materiálu (Paoli, 1986).

Aglutinace

Aglutinace, neboli shlukování, patří k nejstarším sérologickým metodám. Její podstata spočívá v reakci protilátky s korpuskulárním antigenem, která vede ke vzniku aglutinátu. Korpuskulární antigen musí na svém povrchu nést větší počet antigenních determinant. Při aglutinaci dochází vlastně k provázání antigenních determinant a tím i antigenních částic přes F_{ab} fragmenty protilátek. Výše popsaný proces označujeme jako aglutinaci přímou. Dalším typem je aglutinace nepřímá, kdy se reakce zúčastní tzv. inkompletní protilátky. Tyto protilátky sice obsadí vazebná místa na antigenu, ale nedojde k aglutinaci. Na průkaz inkompletních protilátek se používá např. Coombsův test, kdy se inkompletní protilátky navázané na povrch antigenních částic prokazují pomocí antiglobulinového séra. Přídavek tohoto antiglobulinového séra způsobí aglutinaci pouze v případě, jsou-li ve vzorku inkompletní protilátky přítomny.

Další modifikací je tzv. hemaglutinace, kdy korpuskulárním antigenem jsou erytrocyty. Výsledný shluk erytrocytů je dobře pozorovatelný pouhým okem a je dostatečně pevný při standartní způsobu třepání.

Aglutinační metody se obvykle hodnotí tzv. na čtyři křížky, přičemž plný počet křížků určuje aglutinaci stálou a při třepáním nedochází k nejmenšímu rozpuštění shluků (Žáková, 2011).

4.3.4 Srovnávací materiál

Pokud je potřeba zajistit a zpracovat srovnávací materiál, tak odběr vlasů probíhá na pěti různých místech hlavy a pokaždé je odebráno 5 – 10 kusů vlasu odstřížením těsně nad pokožkou hlavy a dalších asi 20 – 25 kusů se zajistí lehkým pročešáním vlasů čistým hřebenem.

Při odebírání srovnávacího materiálu srsti zvířete se odběr provede na více místech těla, aby byly zastoupeny chlupy všech typů.

4.4 Sperma, poševní sekret

Stopy ejakulátu mají vysokou důkazní hodnotu pro identifikaci pachatele analýzou DNA. V praxi se tyto stopy vyskytují často ve směsi, někdy s dalšími sekrety z penisu, slinami apod. Jeví se jako mapovitá šedobělavá až žluto-běžová znečištění na těle, oděvu nebo jiných předmětech na místě činu. Často jsou jen těžko viditelné nebo zcela neviditelné. V UV záření svítí sperma bíle. K jeho vyhledávání se používá kombinace světla lampy a filtru na odražené světlo.

Na oběti se stopy spermatu či poševního sekretu vyskytují nejčastěji na povrchu těla, ve vagíně, řitním otvoru, ústní dutině, na vlasech, dále pak na oděvu, který měla oběť na sobě v době činu nebo po něm. Dále je můžeme nalézt na spodním prádle, zejména na slipech, ale také na hygienických potřebách, jako jsou vložky nebo tampony a v neposlední řadě na věcech, které byly použity k očištění, např. kapesníky.

Na pachateli jsou tyto stopy k nalezení na povrchu jeho těla a vlasech, ale také na oděvu nebo prádle.

Na místě činu se prohledává postel, povlečení a matrace, sedačky motorového vozidla, látkové i papírové kapesníky, kondomy, ale i zem (tráva, půda).

4.4.1 Zajištění spermatu, poševního sekretu

Většinou se zajišťují cele předměty, na kterých se tyto stopy vyskytují (ložní povlečení, oděvní součásti, kalhotky, použité prezervativy apod.).

Z povrchu, který není možný celý transportovat se stopa spermatu setře do zvlhčeného obvazového tamponu pomocí čistých nástrojů a umístí se do prodyšného obalu, jako je např. papírová obálka, kde může vyschnout. Můžeme použít i sterilní tampony Dispolab.

Každá takto zajištěná stopa musí být zabalena odděleně a zřetelně popsána (Hlaváček, 2006).

4.4.2 Zpracování stopy

I z velmi malého množství spermatu se dá opět vyčíst jedinečný kód DNA, který je opět typický jen pro jednoho jedince a vede k jeho odhalení. Používají se k tomu stejné metody, jako u analýzy DNA z krve.

4.5 Sliny, nosní sekret

Hlavní funkcí slin je to, že zvhčují a rozmělnují potravu. Sliny obsahují 99.4% vody a zbytek jsou organické a anorganické látky. Člověk průměrně za den vytvoří 2 litry slin. To také závisí na tom, jestli má člověk vyvolaný podnět k bazální sekreci nebo hydrataci organismu. Látky ve slinách ničí bakterie a choroboplodné zárodky (Jandásek, 2008).

Všechny stopy sekretu mají vysokou důkazní hodnotu při identifikaci osob, protože z nich lze provést analýzu DNA. Proto je potřeba tyto stopy pečlivě vyhledávat a zajišťovat.

Stopy slin a nosního sekretu se často stříbřitě lesknou a připomínají stopy slimáka. Vyskytují se především na okraji lahvích, sklenic, šálků, na jídelních příborech. Velké množství materiálu se nachází také na nedopalcích cigaret, žvýkačce nebo zubním kartáčku. Zdrojem mohou být i bezpečnostní skleněné stěny u bankovních přepážek (pachatel při mluvení prská), vyděračské dopisy (olíznutá obálka a poštovní známka), oděvní svršky (maskovací kukla v okolí úst, košile, tričko, svetr v oblasti pod bradou).

Nosní sekret se nejčastěji vyskytuje na kapesnicích a na oděvních svršcích, především na rukávech (Hlaváček, 2006).

4.5.1 Zajištění stop slin a nosního sekretu

Velikost, charakter, formu a lokalizaci stopy je nutno zadokumentovat písemně i fotograficky s měřítkem. Zajišťování se provádí opět v rukavicích, popřípadě i ochranném oděvu, aby nedošlo ke kontaminaci vlastním biologickým materiálem. Nad stopou zásadně nehovoříme. Nedopalky cigaret se zajišťují pomocí čistých nástrojů a v rukavících, bez přímého kontaktu. Sliny z netransportovatelného nosiče je třeba setřít do zvlhčeného obvazového tamponu pomocí čistých nástrojů a tento tampon se umístí do prodyšného obalu. Stopy slin a nosního sekretu na hmotném nosiči se zajišťují i s tímto nosičem, kterým je například oděv a uloží se do čistého obalu. Stopy nalezené na hmotných nosičích velkých rozměrů, jako jsou třeba sedačky nebo tapety, je třeba zajistit vyříznutím nosiče čistým nástrojem a vložit do čistého obalu. V tomto případě musí dát

předem souhlas majitel věci.

4.5.2 Zpracování slin a nosního sekretu

Ze slin a nosního sekretu určujeme krevní skupinu. K tomu se využívá metoda absorpčně inhibiční (AI), jejímž principem je inhibice hemaglutinace. Je založena na vysycení vazeb míst Ag přítomných ve slinách přidáním aglutinačního sérum vhodného titru a následným stanovením množství nenavázaných Ab přidáním určeného množství 5% suspenze odpovídajících erytrocytů. Intenzita aglutinace je nepřímo úměrná množství skupinových substancí ve slinách. AI je složena ze dvou fází:

1. absorpce – k vyšetřovanému vzorku (antigenu) se dodá známé množství protiláky.

Dojde k vazbě antigen-protilátka.

2. aglutinace – v této fázi je zjišťována kvantita nenavázaných protilátek poklesem jejich titru. Pokles se projeví inhibicí aglutinace přidáním náplavem známých krvinek o známém objemu a koncentraci.

4.5.2.1 Postup při provádění AI metody

Nejdříve je nutná příprava séra. Jako vhodná ředění sér byla experimentálně vybrána 1:8 pro anti-B, 1:32 pro anti-A a 1:2 pro lektin anti-H.

Jako další se připraví 5% suspenze diagnostických erytrocytů. Používá se kapilární krev skupin A, B a 0. 100 μ l krve se v označených zkumavkách dvakrát promyje fyziologickým roztokem a zcentrifuguje do 15 000 ot/min. Po odstranění supernatantu se přidá 900 μ l fyziologického roztoku.

Sliny vyšetřovaných osob se zahřívají v čisté skleněné nádobce v množství asi 2 ml při teplotě 100°C ve vodní lázni po dobu 10 minut k inaktivaci enzymů, aby nedošlo k natrávení, a tím snížení množství skupinových substancí. Varem ztratí sliny svou vazkost, stanou se tekutějšími a lépe se zpracovávají. Sliny se pak centrifugují při 2000 ot/min po dobu 10 minut, tím se odstraní koagulovaný hlen a buněčný setrit. Čirá tekutina se ze supernatantů pipetuje do sterilní zkumavky.

Sliny naředíme fyziologickým roztokem na základní ředění 1:100. Do první a druhé zkumavky v každé řadě (A, B a H) dáme po 30 μ l naředěných slin. Do všech zkumavek

kromě prvních (tzn. 2, 3, a 4) pipetujeme 30 μ l fyziologického roztoku a provedeme titraci 30 μ l s ředícím koeficientem 2, tzn. obsah druhé zkumavky promícháme a přeneseme 30 μ l do třetí zkumavky, promícháme, přeneseme 30 μ l do čtvrté zkumavky, promícháme a odebereme 30 μ l slin i z této poslední zkumavky. Totéž provedeme pro řady B a H. Výsledná ředění slin ve zkumavkách jsou 1:100, 1:200, 1:400 a 1:800.

U kontrolních zkumavek se sliny nahrazují fyziologickým roztokem, proto pipetujeme po 30 ml fyziologického roztoku do všech 12-ti zkumavek.

Do 4 zkumavek řady A přidáme po 20 μ l séra anti-A naředěného v poměru 1:8, do zkumavek řady B po 20 μ l séra anti-B naředěného v poměru 1:32 a do zkumavek řady H po 20 μ l séra anti-H naředěného v poměru 1:2. Směs promícháme a necháme při laboratorní teplotě po dobu 20 minut.

Poté přidáme 20 μ l 5% suspenze erytrocytů, vždy příslušných danému séru. Zkumavky jemně promícháme a necháme 10 minut odstát při laboratorní teplotě.

V jednotlivých řadách skupin A, B a H je tedy množství sér i erytrocytů konstantní, liší se pouze množství slin, a to sestupně.

Dalším krokem je centrifugace všech zkumavek při 1000 ot/min po dobu jedné minuty. Anti-A a anti-B jsou absorbovány snadno, centrifugace je dostatečná. Protilátky anti-H nereagují tak dobře, proto jsou třeba zkumavky této řady ještě protřepat a znovu centrifugovat.

Po centrifugaci jsou zkumavky připraveny k hodnocení. Je-li ve vyšetřovaných slinách vyšetřovaný antigen a přidané erytrocyty se neshlukují značí to, že antigen slin vysytil diagnostický titr aglutininu a můžeme s určitostí říci, že jde o sliny vylučovatele. Jde-li o sliny nevylučovatele, případné krvinky jsou diagnostickým sérem aglutinovány (Jelínková, 2005).

4.6 Pot a uvolněné pokožkové buňky

Pot a uvolněné pokožkové buňky mají velký význam pro identifikaci osob analýzou DNA a lze podle nich uvažovat o určitých zraněních. Proto je nutné tyto stopy silně vyhledávat, zajišťovat a chránit.

Tyto stopy mohou být podle materiálu a stáří velice variabilní co do tvaru a zbarvení. Proto jsou často obtížně rozeznatelné. Vyskytují se jako šupinaté otěry částic tkáně nebo jako drolivé částice tkáně. V čerstvém stavu mají žlutavé až hnědé zbarvení, eventuálně jsou červené v důsledku znečištění krví. Časem vysychají a pak vypadají tmavě žlutě až tmavě hnědě nebo dokonce černě (Hlaváček, 2006).

4.6.1 Zajištění stopy

Nejčastěji se tento druh stopy vyskytuje v otiscích prstů, na oděvních svrščích, na ručníku, na holicím strojku, na držadlech nástroju.

Pro zajišťování platí opět stejné postupy, jako pro jakýkoliv jiný druh biologického materiálu. Je nutné pracovat sterilně, dokumentuje se tvar, velikost, barva a místo nálezu, pokud je to možné, zajišťují se celé předměty, na kterých se daná stopa nachází, nebo dochází k jejímu přenosu na vatové tampony. Které se dále zpracovávají v laboratořích.

5 Národní databáze DNA

Všechny získané DNA profily jsou uloženy do Národní databáze DNA (ND DNA). Jedná se o informační systém, který umožňuje registrovat, uchovávat a porovnávat genetické profily osob, které byly získány z biologických stop nalezených na místě činu nebo ze vzorků odebraných od podezřelých osob pomocí bukálních stěrů.

O založení takovéto databáze bylo rozhodnuto už v roce 1997. V současnosti je snaha o vybudování takovéto databáze v co nejvíce zemích v rámci European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI – síť evropských kriminalistických, resp. forenzních ústavů).

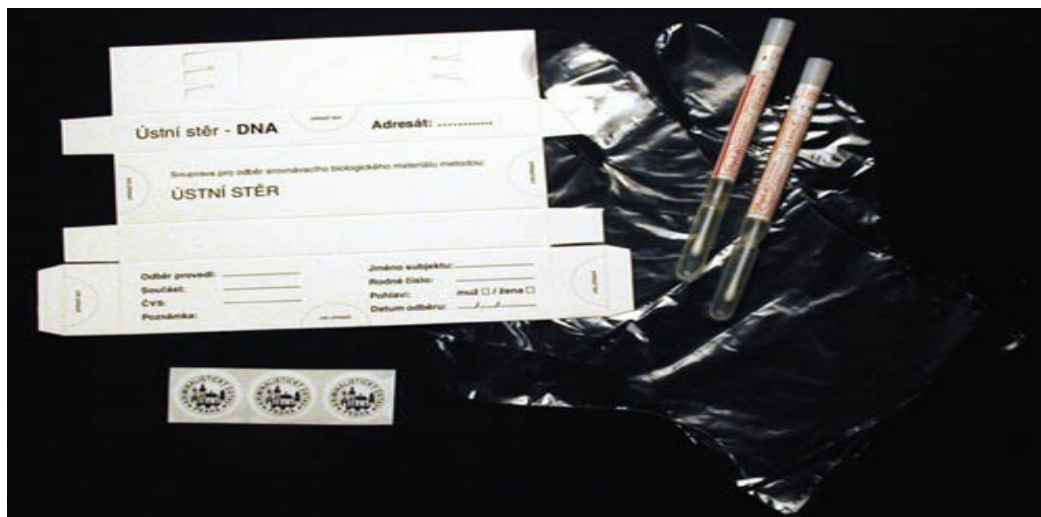
Ke sjednocení jednotlivých databází slouží databázový systém CODIS (Combined DNA Analysis systém), který byl vyvinut FBI jako speciální software. Je nejrozšířenější databází, umožňuje archivovat a rychle vyhledávat tzv. DNA profily.

ND DNA obsahuje profily DNA osob obviněných a pravomocně odsouzených zejména za závažné trestné činy, profily DNA osob získaných ze stop z míst dosud neobjasněných trestných činů (ev. mimořádných událostí) a profily DNA mrtvol, kosterních nálezů a částí lidských těl neznámé totožnosti. V rámci prověřování a objasňování trestné činnosti se budou odebírat i biologické vzorky dalších osob (např. tzv. domácích osob), které budou sloužit pouze k porovnání v systému CODIS a nestanou se součástí ND DNA, pokud pro to nevznikne jiný důvod (např. trestního stíhání této osoby) (Kriminalitiska 3/2003).

DNA profily obviněných a pravomocně odsouzeným jsou v registru ponechány do 80 let jejich věku. V případě úrtí před tímto věkem, jsou uchovány ještě 20 let po jejich smrti s ohledem na případnou dosud neodhalenou trestnou činnost.

5.1 Odběr bukálního stěru

Odběr vzorku pro srovnání může být i vynucený, pokud s ním obviněný nesouhlasí. Dobrovolně poskytnout srovnávací vzorek je povinností každého občana České republiky. Odběr, tzv. bukální stěr, se provádí pomocí odběrové soupravy pro zajištění srovnávacího biologického materiálu (obr. 10).



Obr.10 Odběrová souprava pro zajištění srovnávacího biologického materiálu (URL 21)

Tato odběrová soustava obsahuje sterilní vatové tampony, které v žádném případě neohrožují zdraví ani důstojnost osoby, které je stěr odebrán. Alespoň hodinu před odběrem by se nemělo jíst, pít, kouřit a ani provádět ústní hygienu. Odběrový tampon se vyjme z obalu, nedotýkáme se ho rukou, a asi 30 vteřin jím přejíždíme po vnitřní straně tváře (po bukalní sliznici dutiny ústní). Některé sady v návodu uvádějí, že odběr má být proveden rolováním kartáčku po sliznici a to asi 10x. Po odběru kartáček nikde nepokládáme, ve svislé poloze ho necháme dostatečně oschnout na suchu a v žádném případě se ho nedotýkáme. Pokud by nebyl vzorek dostatečně vysušen, mohlo by dojít k degradaci DNA. Oschlý tampon se vloží zpět do obalu, ten do krabičky, která je řádně popsána a zaslána ke genetické expertýze.

Není-li možno odebrat srovnávací vzorek od určité osoby, lze provést identifikaci genetickým vyšetřením nejbližších přímých příbuzných, ať rodičů, nebo potomků. Tento postup se používá např. při identifikaci neznámých mrtvol (Makovec a Hradil, 2002).

6 FOGADEN

Fogaden je celostátní informační systém, který používá Policie ČR. Uživatelé informačního systému jsou kriminalističtí technici na krajských, obvodních a městských ředitelstvích Policie ČR, experti na kriminalistickém ústavu Praha a Odboru kriminalistické techniky a expertíz. Systém umožňuje on-line přístup k informacím o evidovaných osobách a údajích o nich všem kriminalistickým technikům v Policii České republiky (Jandásek, 2008).

Informační systém FOGADEN poskytuje přehled o osobách, u kterých byly v souvislosti s jejich trestnou činností nebo i v jiných případech provedeny identifikační úkony, jakou jsou:

- základní údaje o osobě (systém FOGADEN je propojen s evidencí obyvatel – CRO)
- dokonalý a terminologicky přesný popis osoby
- kriminalistickou fotografii osoby (třídílná fotografie, fotografie tetování a dalších zvláštních znamení)
- informaci o sejmutých daktyloskopických otiscích osoby
- informaci o odebraných biologických materiálech pro genetickou expertízu
- registruje pohyb karet a bukálních stěrů od odběrového místa do kriminalistické laboratoře

Z praktického hlediska je IS FOGADEN velmi cenný pro všechny policejní útvary, neboť poskytuje informaci zda osoba, která je v daném okamžiku policií prověřována v souvislosti s její prokázanou činností, již někdy v minulosti byla podrobena provedení identifikačních úkonů.

Centrální databáze IS FOGADEN je vedena v databázovém centru Policie ČR u OSŘI PP. Údaje jsou aktualizovány prostřednictvím datové sítě intranet MV ČR (Hlaváček, 2006).

7 Závěr

Metody využívané k odhalení pachatelů trestných činů se dnes hojně využívají i v komerční oblasti, kdy různé kliniky, kosmetické salony a léčitele na základě expertízy vlasů sestavují diety přímo na tělo jedince, popřípadě soukromé kanceláře nabízejí porovnáním genetického materiálu z vlasu diskrétní určené otcovství, nebo v případě dodaného srovnávacího materiálu i odhalení nevěry.

K určení otcovství v případě smrti osoby lze použít i zubní kartáček mrtvého, na kterém se nachází dostatek materiálu pro srovnání a zjištění příbuznosti dítěte.

V této práci jsem se věnovala nejčastěji se vyskytujícím biologickým stopám, způsobu jejich zjištění, zajištění a zpracování. Seznámila jsem se se základními technikami jejich zpracování, které vede spolu se srovnávacím materiálem ke zjištění totožnosti oběti nebo pachatele. Dnešní kriminalistika by se bez analýz biologických stop prakticky neobešla. Kriminalistické laboratoře se dnes potýkají také v problémem financí, protože s přibývajícím množstvím materiálu čekajícího na provedení expertíz, nepřichází do resortu dostatečné množství peněz pro jejich zpracování. Proto se přednostně provádí expertízy u stop spojených s vážnými trestnými činy.

Téma této práce je pro mě velmi přínosné a zajímavé. Hlavně je v dnešní době velmi aktuální a atraktivní.

Seznam zkratek

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AI	absorpčně inhibiční metoda
CL	chemiluminiscence
DNA	deoxyribonucleic acid (deoxyribonukleová kyselina)
KÚP	Kriminalistický ústav Praha
ND DNA	Národní databáze DNA
RELP	restriction fragment length polymorphism (polymorfismus délky restrikčních fragmentů)

Seznam použité literatury

- BUSTIN, S. A.: A-Z of quantitative PCR, International University Line, 2004
- CAMPBELL, A. K.: Chemiluminescence, Principles and Applications in Biology and Medicine, Ellis Horwood, 1988
- DANIELS, G.: Human blood groups, Blackwell science, 2. vydání, 2002
- GUNDERMANN, K. D., MCCAPRA, F.: Chemiluminescence in Organic Chemistry, Springer Verlag, 1987
- HLAVÁČEK, J., ŠIMKOVÁ, R., HRADIL, R.: Vytvoření Národní databáze DNA je pro Policii ČR prioritou, Kriminologický sborník, 2. vydání, 2002
- JELÍNKOVÁ, P., hodnocení výsledků serologické metody při vyšetření skupinových vlastností AB0 ve slinách, diplomová práce, Brno, 2005
- KLOUDA, Pavel, Moderní analytické metody, 2. vydání, 2003
- KUDLIČKA, Luboš, Kriminologie-učební text pro SPŠ Brno, 2010
- MAKOVEC, Petr, HRADIL, Roman, Molekulárně genetická expertizní vyšetření v laboratořích Policie České republiky, Kriminologie – čtvrtletník pro kriminologickou teorii a praxi, 2002
- MALASKA, Z.: Základy imunohematologie a krevní transfúze (Příručka pro zdravotnické pracovníky), Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 1. vydání, 1957
- PAOLI, G., FRANCALACCI, P., DEL SANTO, MT, BORGOGNINI TARLI, SM: AB0 blood typing in Italian Medieval skeletons: Adsorption-Elution and Haemagglutination Inhibition techniques, Homo, 1986
- PORADA, V., Kriminologie, Brno: CERM, 2001

ROB, Lukáš, MARTAN, Alois, CITTERBART, Karel a kolektiv: Gynekologie, Praha: Galen, 2.vydání, 2008

ŠIMKOVÁ, Radka, Kriminalistika 3 - čtvrtletník pro kriminalistickou teorii a praxi, Praha, 2003

VÁCHA, Martin, BIČÍK, Vítězslav, PETRÁSEK, Richard, ŠIMEK, Vladimír, FELLNEROVÁ, Ivana, rovnávací fyziologie živočichů, Brno, 2004

ŽÁKOVSKÁ, Alena, Imunologie-cvičení, učební text, Brno, 2011

Internetové zdroje a články

- URL 1: <http://www.policie-cr.cz/12-spartakiadni-vrah-jiri-straka.html>
- URL 2: http://anthro.palomar.edu/blood/ABO_system.html
- URL 3: <http://www.policie.cz/clanek/celorepublikove-utvary-kriminalisticky-ustav-praha-zpravodajstvi-test-3.aspx?q=Y2hudW09MQ%3D%3D>
- URL 4: <http://www.policie.cz/clanek/celorepublikove-utvary-kriminalisticky-ustav-praha-zpravodajstvi-test-3.aspx?q=Y2hudW09NA%3d%3d>
- URL 5: http://anthro.palomar.edu/blood/ABO_system.htm
- URL 6: <http://www.policie.cz/clanek/celorepublikove-utvary-kriminalisticky-ustav-praha-zpravodajstvi-test-3.aspx?q=Y2hudW09Mw%3d%3d>
- URL 7: <http://www.policie.cz/clanek/celorepublikove-utvary-kriminalisticky-ustav-praha-zpravodajstvi-test-3.aspx?q=Y2hudW09NQ%3d%3d>
- URL 8: <http://www.seratec.com/faq/12>
- URL 9: http://technet.idnes.cz/tajemstvi-kriminalistiky-strikance-krve-odhali-jak-byl-vrah-brutalni-1ec/tec_tec_tecnika.asp?c=A080428_120257_tec_tecnika_kuz
- URL 10: http://user.mendelu.cz/urban/frvs-doc/FRVS_2030_2007-Izolace.pdf
- URL 11: Zacharis, Constantinos (2009, 18. ledna). Capillary Electrophoresis. *SciTopics*. Kapilární elektroforéza. *SciTopics*. Retrieved March 19, 2011, from http://www.scitopics.com/Capillary_Electrophoresis.html
- URL 12: <http://biologie.upol.cz/metody/Izolace%20nukleovych%20kyselin.htm>
- URL 13: http://www.med.muni.cz/histol/MedAtlas_3/bin-release/MedAtlas.html#app=d8c4&92c7-selectedIndex=1&2b7a-

[selectedIndex=0&694b-selectedIndex=0&1268-selectedIndex=0](#)

http://www.malvern.com/labeng/industry/nanotechnology/nanoparticles_definition.htm

<http://biochemie.sweb.cz/x/metody/chromatografie.htm>

<http://www.genservis24.com/cz/zpusoby-odberu>

<http://lem.ocol.cz/cs/info/hmotnostni-spektrometrie>

[http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/7bd44c20b0dc562649256502001b65e9/146fd852cd5e269049256f32001a133e/\\$FILE/B17.pdf](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/7bd44c20b0dc562649256502001b65e9/146fd852cd5e269049256f32001a133e/$FILE/B17.pdf)

<http://www.chemweb.estranky.cz/clanky/ksicht---serial/infracervena-spektrofotometrie>

http://www.malvern.com/labeng/industry/nanotechnology/nanoparticles_definition.htm

Obrázky:

Obr.1: URL 14: <http://www.cez-okno.net/clanok/zdravie/nanocastice-ve-vaccine-mohou-spusobit-smrt>

Obr. 2: URL 15: <http://www.policie.cz/clanek/celorepublikove-utvary-kriminalisticky-ustav-praha-zpravodajstvi-test-3.aspx?q=Y2hudW09NQ%3d%3d>

Obr.3: URL 16: <http://www.diabet03.ru/catalog/220/2375/>

Obr.4: URL 17: <http://www.seratec.com/faq/12>

Obr.5: URL 18: http://technet.idnes.cz/tajemstvi-kriminalistiky-strikance-krve-odhali-jak-byl-vrah-brutalni-1ec-/tec_technika.asp?c=A080428_120257_tec_technika_kuz

Obr.6,7,8: URL 19: http://technet.idnes.cz/tajemstvi-kriminalistiky-strikance-krve-odhali-jak-byl-vrah-brutalni-1ec-/tec_technika.asp?c=A080428_120257_tec_technika_kuz

Obr.9: URL 20: <http://www.md4arab.com/main/articles/lectures/37-Clinical-procedure/572-Skin-Anatomy.html>

Obr.10: URL 21:
http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/casopisy/kriminalistika/2002/02_02/makovec.html