

# MPS a non-human zdroje FG

---

# MiSeq FGx - Illumina

- <https://www.youtube.com/watch?v=fCd6B5HRaZ8>
- <https://www.youtube.com/watch?v=NT-bARQuRXc>
- **Forensic Genomic Workflow: Transforming your results with NGS**

# MiSeq FGx Forensic Genomics System - Illumina

- množství DNA 1 ng

## SNP

- bodové mutace v rámci celého genomu
- 4 varianty, resp. 2
- diskriminace: 40 SNP = individuální shoda

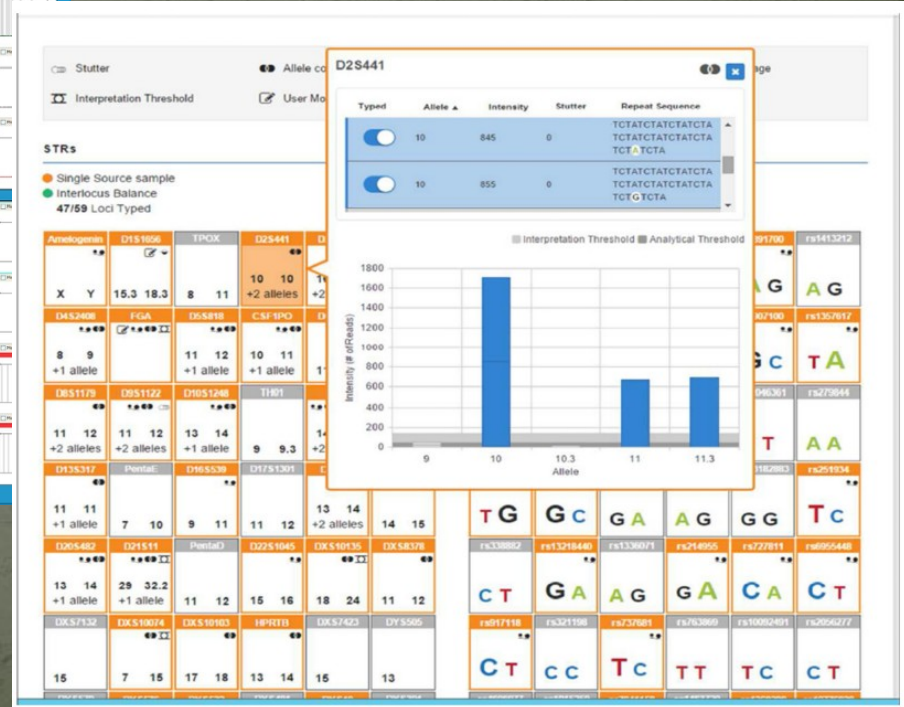
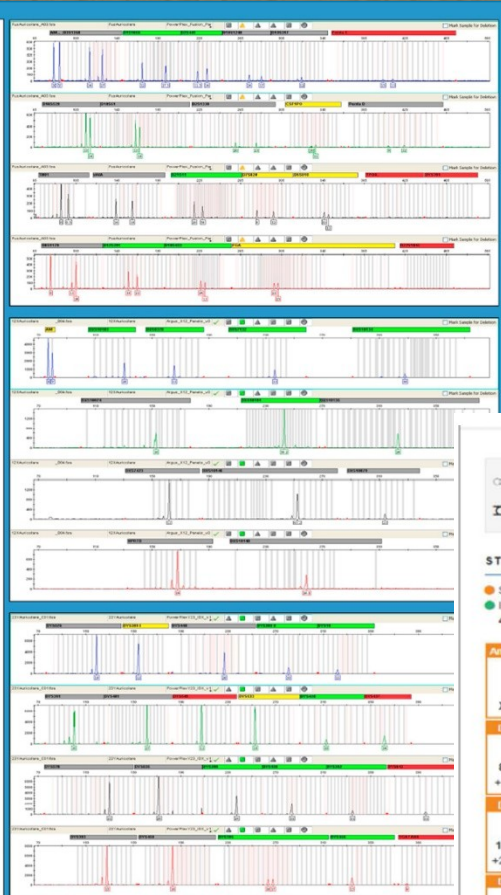
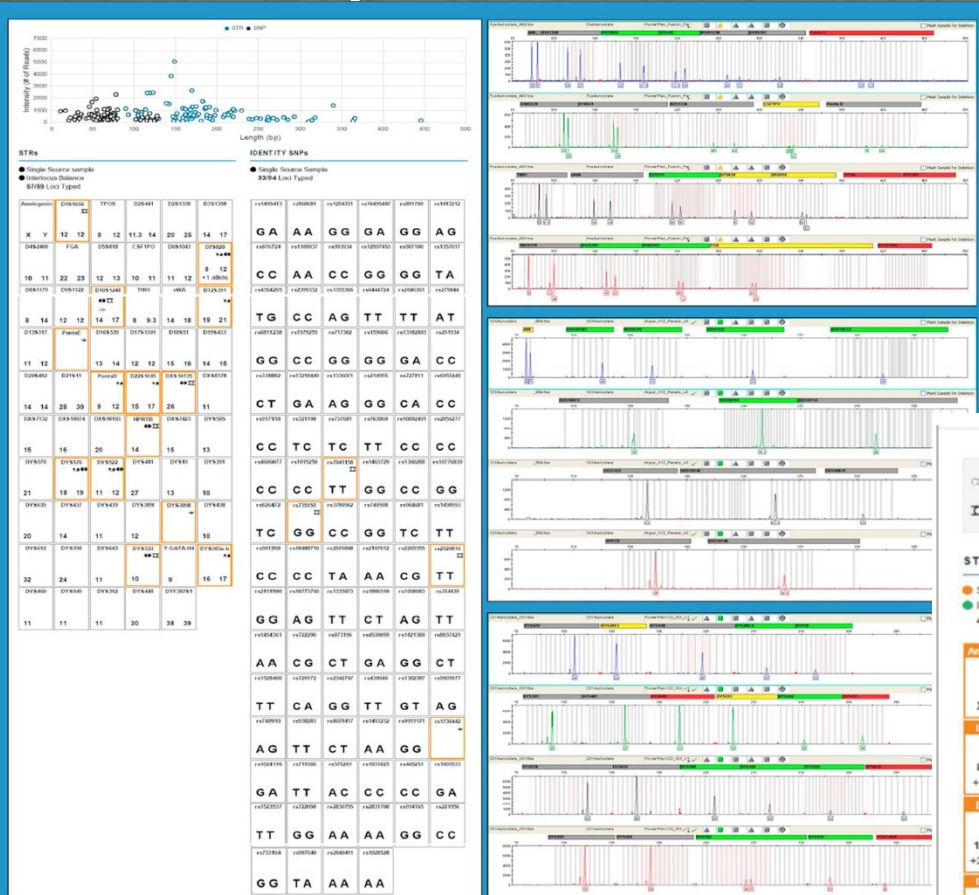
Table 1: ForenSeq DNA Signature Prep Kit—Forensic Loci

Feature	Number of Markers <sup>a</sup>	Amplicon Size Range (bp)	Included in DNA Primer Mix A	Included in DNA Primer Mix B <sup>b</sup>
Global Autosomal STRs	27	61–467	Yes	Yes
Y-STRs	24	119–390	Yes	Yes
X-STRs	7	157–402	Yes	Yes
Identity SNPs	94	63–231	Yes	Yes
Phenotypic SNPs	22	73–227	No	Yes
Biogeographical Ancestry SNPs	56	67–200	No	Yes

a. SNP and STR chromosome locations can be found in the ForenSeq DNA Signature Prep Kit Reference Guide.

b. Over 200 markers analyzed when running primer set B.

# MiSeq FGx



# MiSeq FGx

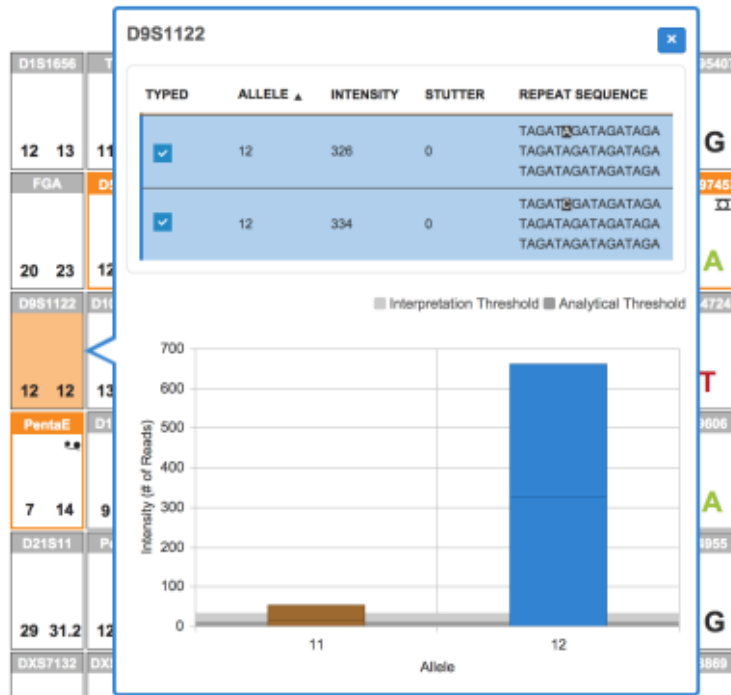


Figure 4: ForenSeq Universal Analysis Software Locus Details Screen— The pop-up Locus Detail screen shows the allele call, intensity bar graph, and stutter. View the Repeat Sequence column to see the full, base-by-base target sequence, and any intra-STR variation present in the sample.

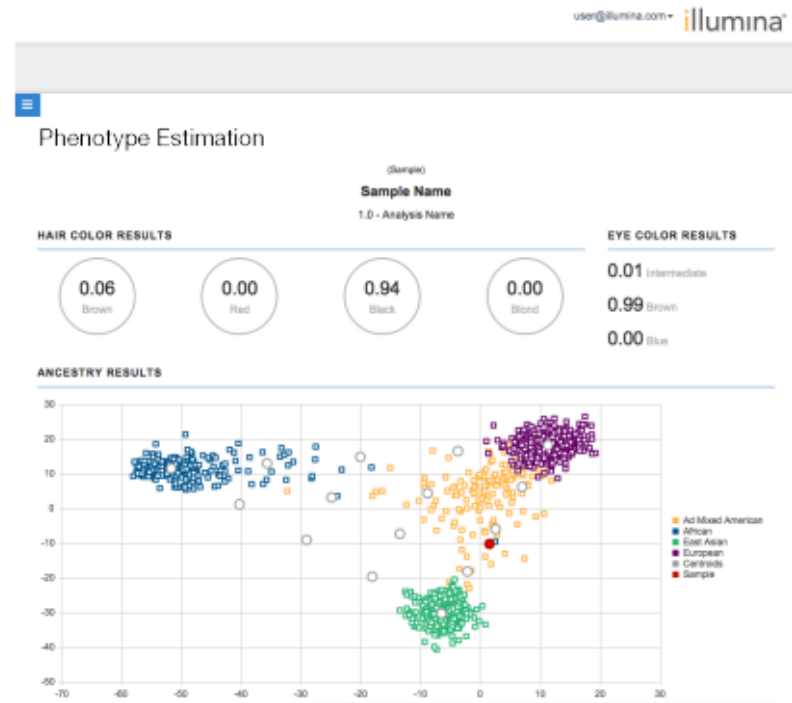


Figure 5: ForenSeq Universal Analysis Software Estimation of Visible Traits— The ForenSeq Universal Analysis Software enables estimation of visible traits including eye and hair color. Markers for biogeographical ancestry can also be tested and reviewed.

# MPS – co by mohl být problém

- velké množství dat
- jednoznačné závěry u výstupů (barva vlasů a očí)
- kompatibilita se současnou databází (CODIS)

# Určení věku jedince

- délka telomér - při narození - délka 15 až 20 tisíc párů bází (TTAGGG)
- prodlužování telomér mechanismem ATL - korelace mezi délkou telomér a věkem jedince ( $R_2 = 0.692$ ) při vyšetření 60 individuí a aplikaci metody Southern blotu se sondou hybridizující k repetitivní sekvenci teloméry – zdlouhavé a náročné na materiál
- qPCR v kombinaci s unikátním genem, qPCR Taqman STELA (Single Telomere Length Analysis) zaměřené selektivně na určení délky telomér pohlavních chromozómů
- rozdílná délka a rychlost zkracování v různých typech tkání

- mtDNA – vyšší věk spojen s vyšším počtem mutací
- novorzenec do měsíců: průkazu přítomnosti transkriptů genů pro gamma hemoglobiny (HBG<sub>1n1</sub>, HBG<sub>1n2</sub>, HBG<sub>2n2</sub> a HBG<sub>2n3</sub>) – krve
- T-lymfocyty - detekci cirkulárních produktů somatické rekombinace probíhající v T-buňkách při somatických přestavbách v genech pro receptory T-buněk (TCR), korelace -  $R_2 = 0,835$ ; se vzrůstajícím věkem se snižuje frekvence těchto přestaveb a tím i frekvence jejich vedlejších cirkulárních produktů vzniklých excizí (metoda pomocí qPCR, nevýhoda – materiál)



# Epigenetika - metylace

- metoda array - Illumina Human Methylation Microarray poskytne výsledek informující o metylaci 27 578 CpG dinukleotidů umístěných celkem ve více než 14 000 lidských genech
- s postupujícím věkem dobře korelují změny metylace v genech EDARADD, TOMA1L1 a NPTX2, byl vytvořen regresní model se schopností predikovat věk jedince s přesností 5,2 roku

# Qiagen - pyrosekvenování

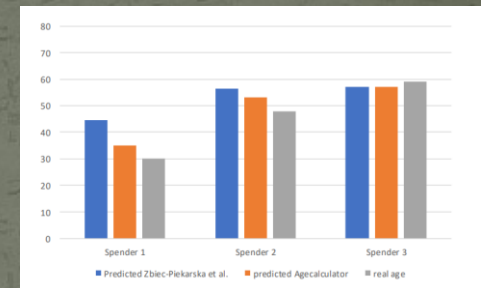
How to predict age by DNA methylation?

Region	CpG Position	DNA methylation (%)
<i>C1orf132</i>	CpG site 1	46
<i>ELOVL2</i>	CpG site 3	27
<i>KLF14</i>	CpG site 1	29
<i>FHL2</i>	CpG site 2	33
<i>TRIM59</i>	CpG site 2	40

Predicted age (years)

$$\begin{aligned} &= 3.27 - 0.36 * C1orf132 + 0.47 * ELOVL2 + 0.83 * KLF14 + 0.24 * FHL2 + 0.31 * TRIM59 \\ &= 3.27 - 0.36 * 46 + 0.47 * 27 + 0.83 * 29 + 0.24 * 33 + 0.31 * 40 \\ &= 3.27 - 16.56 + 12.69 + 24.07 + 7.92 + 12.4 \\ &= \mathbf{43.79} \end{aligned}$$

● Predicted age: 44 years



- po izolaci dochází ke konverzi nemetylovaného C na U, pyrosekvenování a přepočít věku)

# Forenzní genetika a zvířata

- domácí a divoká
- identifikace konkrétního jedince
- podobná lidské – STR
- pro kočky STR kit - 14 lokusů (260 bp)(trichologický materiál na oblečení majitele – identifikace), taktéž pro psy – 9 lokusů (350 bp), ISAC – STR k využití identifikace - 21 di a 3 tetra
- podobně jsou STR pro ovce (16 STR), skot (di - 16 STR), koně, velbloudy

# Divoce žijící zvířata

- slon – ve spojitosti se slonovinou, nález části těla
- nosorožci (12 STR)
- mtDNA
- sekvence - porovnání s referenční – určení druhu
- SNP
- hybridy – určena druhu (lama, vikuňa, alpaka a guanaco)
- CITES

# Rostlinný materiál - THC

- cesta, jak zamezit šíření drogy
- technické konopí a s obsahem THC
- 13 STR
- marihuana - nižší diverzita u technického konopí
- SNP pomocí NGS
- určení geografického původu více jak 100 STR
- Nutná databáze vzorků k porovnání

# Mikroorganismy a FG

- NGS - díky rozvoji možná identifikace, interdisciplinární obor
- určení druhu hmyzu
- určení mikrobiomu v kosterních ostatcích
- určení smrti – postmortem intervalu
- určením tělesných tekutin, mikroflora indentifikační znak – přenos spolu s tDNA osoby
- mikroorganismy v půdě a jejich přenos na obuv
- toxické látky – bioterrorismus
- 16S RNA – porovnání s databázemi + bioinformatika