

NGS a další

CE vs MPS - NGS

- kapilární elektroforéza – STR
- sekvenování – NGS
- pro forenzní účely - masivní paralelní sekvenování

MiSeq FGx - Illumina

- https://www.youtube.com/watch?time_continue=125&v=KJ7S_efaoI
- <https://www.youtube.com/watch?v=zBPKjomMcDg>
- NGS umožňuje zkoušejícím získat data, která pokrývají celý lidský genom a řeší širší spektrum otázek v jediném cíleném testu. Kromě toho jsou volání krátkých tandemových repetitivních (STR) generovaná NGS plně kompatibilní se současnými formáty databází. NGS se také může zaměřit na sady markerů jednonukleotidového polymorfismu (SNP), které nejsou běžně dostupné pomocí tradičních metod založených na CE, a vyhodnocovat forenzní mitochondriální DNA (mtDNA). Studie poskytují slibný pohled na výhody, které NGS přináší při analýze i těch nejmenších, nejvíce ohrožených a velmi smíšených důkazních vzorků.

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 ^a	Amplicon Size Range (bp)	Included in DNA Primer Mix A	Included in DNA Primer Mix B ^b
Global Autosomal STRs	27	61–467	Yes	Yes
Y-STRs	24	119–390	Yes	Yes
X-STRs	7	157–462	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.



Library Preparation

Library Preparation Kits

Novel, easy-to-use, and fast solutions for both DNA and RNA library preparation.

NGS Library Prep Education

Learn how to prepare libraries for NGS using technologies enabled by continuous innovation.



Sequencing

Illumina NGS Platforms

Explore benchtop and production-scale instruments designed to help you choose the right platform for your needs.



Data Analysis

NGS Data Analysis Tools

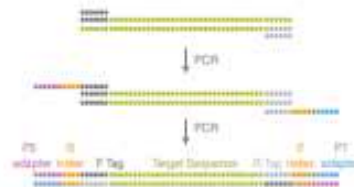
User-friendly and intuitive Illumina tools simplify sequencing data analysis, allowing you to focus on research and spend less time configuring workflows.

Prepare Input DNA



Genomic DNA, Buccal Swab,
FTA Card

ForenSeq DNA Signature Prep Kit



Library Preparation

MiSeq FGx Instrument

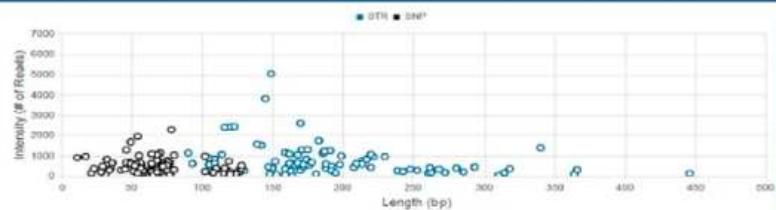


NGS Sequencing

ForenSeq Universal Analysis Software



Automated Data Analysis



STRs

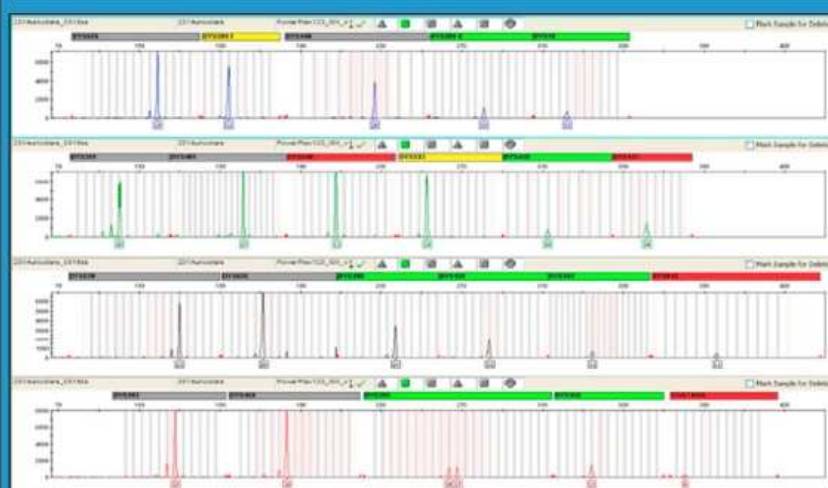
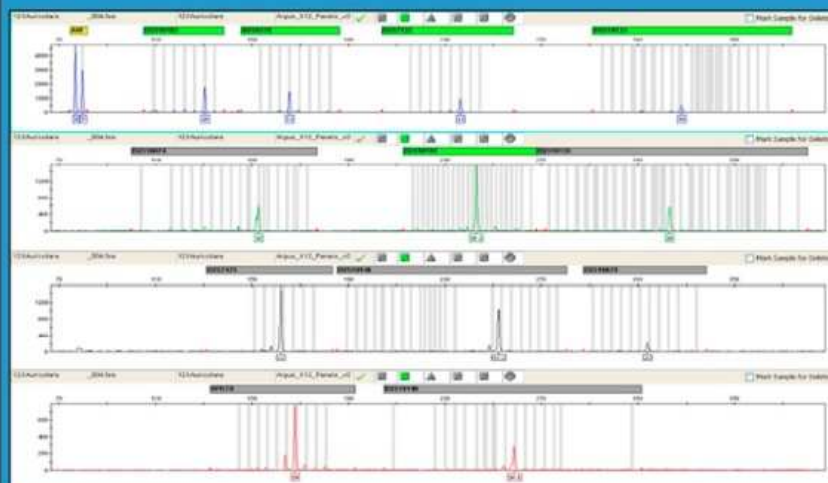
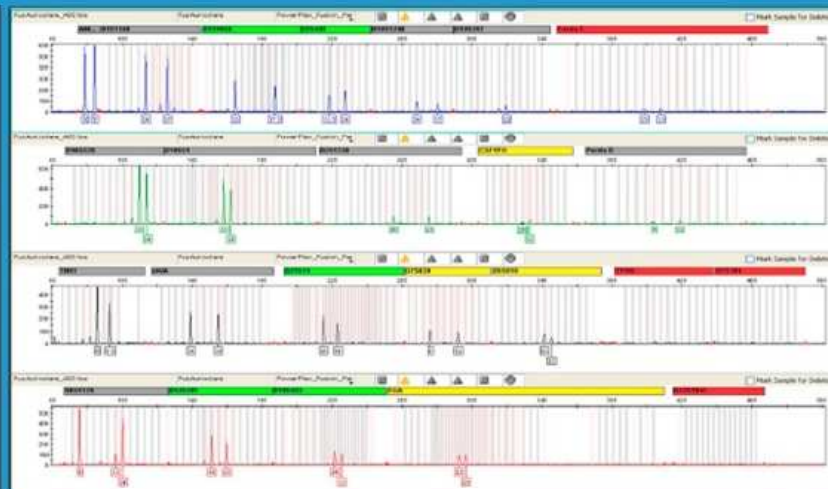
- Single Source sample
- Inertocus Balance
- 87/89 Loci Typed

Amelogenin	D1S1008	TPOR	D2S441	D3S1338	D5S1328
X Y	12 12	8 12	11.3 14	20 26	14 17
D4S288	FGA	D5S818	CSF1PO	D8S1103	D7S829
10 11	22 23	12 13	10 11	11 12	8 12 +1 allele
D6S1179	D9S1122	D10S1248	T1801	vWA	D12S291
8 14	12 12	14 17	8 9.3	14 18	19 21
D13S317	PowerPlex	D16S539	D17S1301	D18S51	D19S433
11 12		13 14	12 12	15 16	14 16
D20S482	D21S11	PowerPlex	D22S1045	D23S1115	D24S338
14 14	28 30	9 12	15 17	26	11
D25F132	D25F1004	D25F1003	HPD10	D25F1423	D25F505
15 16	20	14	15	13	
DYS576	DYS575	DYS522	DYS481	(DYS)	DYS391
21	18 19	11 12	27	13	10
DYS635	DYS417	DYS439	DYS398	DYS390	DYS438
20	14	11	12		10
DYS442	DYS399	DYS443	DYS333	Y-GATA14	DYS385a,b
32	24	11	10	9	16 17
DYS440	DYS448	DYS392	DYS448	DYS387a	
11	11	11	20	38 39	

IDENTITY SNPs

- Single Source Sample
- 93/94 Loci Typed

rs1899413	rs50081	rs1264331	rs19495887	rs881796	rs143212
GA	AA	GG	GA	GG	AG
rs875724	rs1388637	rs993934	rs12957453	rs307190	rs1352617
CC	AA	CC	GG	GG	TA
rs4364265	rs2399532	rs1355368	rs1844724	rs2840391	rs270841
TG	CC	AG	TT	TT	AT
rs811238	rs1792255	rs1717692	rs155906	rs13382883	rs251934
GG	CC	GG	GG	GA	CC
rs338862	rs4324848	rs1336351	rs216955	rs227911	rs1055648
CT	GA	AG	GG	CA	CC
rs171910	rs321198	rs731083	rs163989	rs10892481	rs2056277
CC	TC	TC	TT	CC	CC
rs486807	rs191529	rs7841158	rs1463729	rs1303268	rs10776839
CC	CC	TT	GG	CC	GG
rs264872	rs725155	rs1789962	rs140208	rs164801	rs1430553
TC	GG	CC	GG	TC	TT
rs881288	rs10488710	rs267088	rs2187912	rs2202055	rs2500910
CC	CC	TA	AA	CG	TT
rs211986	rs10772750	rs1335873	rs1886518	rs1058883	rs358428
GG	AG	TT	CT	AG	TT
rs1854361	rs722290	rs871196	rs853069	rs1821288	rs8837426
AA	CG	CT	GA	GG	CT
rs1588466	rs729172	rs2342747	rs430048	rs1382387	rs9093977
TT	CA	GG	TT	GT	AG
rs748910	rs138283	rs1678817	rs183232	rs9551171	rs1736442
AG	TT	CT	AA	GG	
rs1024116	rs719360	rs372483	rs1031825	rs445251	rs1005533
GA	TT	AC	CC	CC	GA
rs1523537	rs722098	rs2830795	rs1831798	rs1814165	rs221956
TT	GG	AA	AA	GG	CC
rs733864	rs887648	rs2646811	rs1028528		
GG	TA	AA	AA		



Stutter

Allele co

Interpretation Threshold

User Mo

D2S441

Close

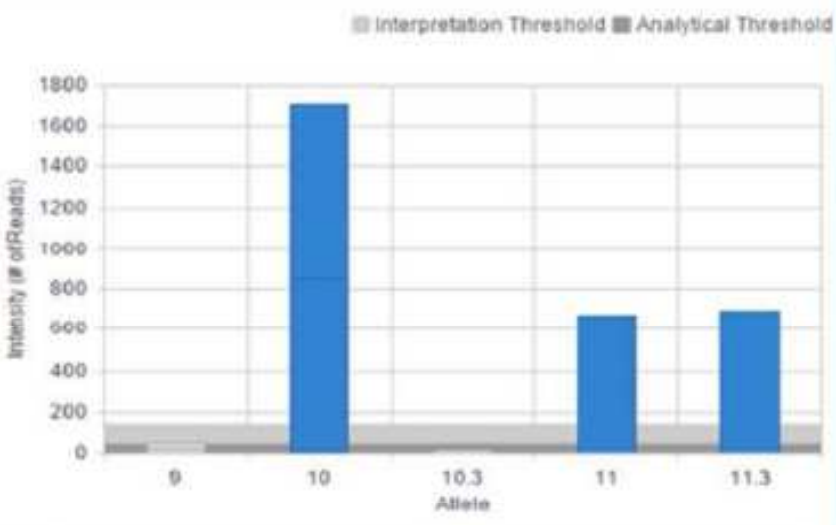
Page

STRs

- Single Source sample
 - Interlocus Balance
- 47/59 Loci Typed

Typed	Allele	Intensity	Stutter	Repeat Sequence
<input checked="" type="checkbox"/>	10	845	0	TCTATCTATCTATCTA TCTATCTATCTATCTA TCTATCTA
<input checked="" type="checkbox"/>	10	855	0	TCTATCTATCTATCTA TCTATCTATCTATCTA TCTATCTA

Amelogenin	D1S1956	TPOX	D2S441	D13S325	
X Y	15.3 18.3	8 11	10 10 +2 alleles	13 14 +2 alleles	
D4S2408	FGA	D5S818	CSF1PO	D7S2819	
8 9 +1 allele		11 12 +1 allele	10 11 +1 allele	13 14 +1 allele	
D8S1179	D9S1122	D10S1248	TH01	D12S2908	
11 12 +2 alleles	11 12 +2 alleles	13 14 +1 allele	9 9.3 +2 alleles	13 14 +2 alleles	
D13S317	PenelA	D16S539	D17S1301	D18S51	
11 11 +1 allele	7 10	9 11	11 12	13 14 +2 alleles	
D20S482	D21S11	PenelB	D22S1045	DXS10135	DXS8378
13 14 +1 allele	29 32.2 +1 allele	11 12	15 16	18 24	11 12
DXS7132	DXS10074	DXS10103	JBP1T1	DXS7423	DY5505
15	7 15	17 18	13 14	15	13



rs1700	rs1413212				
AG	AG				
rs7100	rs1357817				
GC	TA				
rs6361	rs279544				
T	AA				
rs182883	rs261934				
TG	TC				
rs338812	rs13218440	rs1336071	rs214955	rs727811	rs1095448
CT	GA	AG	GA	CA	CT
rs117118	rs321198	rs737681	rs763969	rs10082491	rs2056277
CT	CC	TC	TT	TC	CT

MiSeq FGx

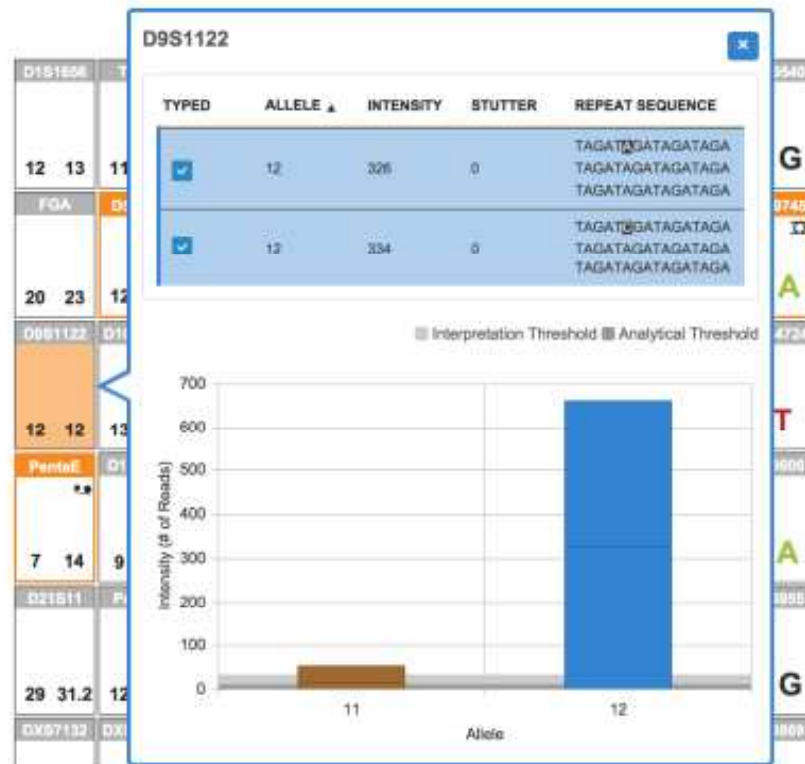


Figure 4: ForenSeq Universal Analysis Software Locus Details Screen— The pop-up Locus Detail screen shows the allele call, intensity bar graph, and stutter. View the Repeat Sequence column to see the full, base-by-base target sequence, and any intra-STR variation present in the sample.

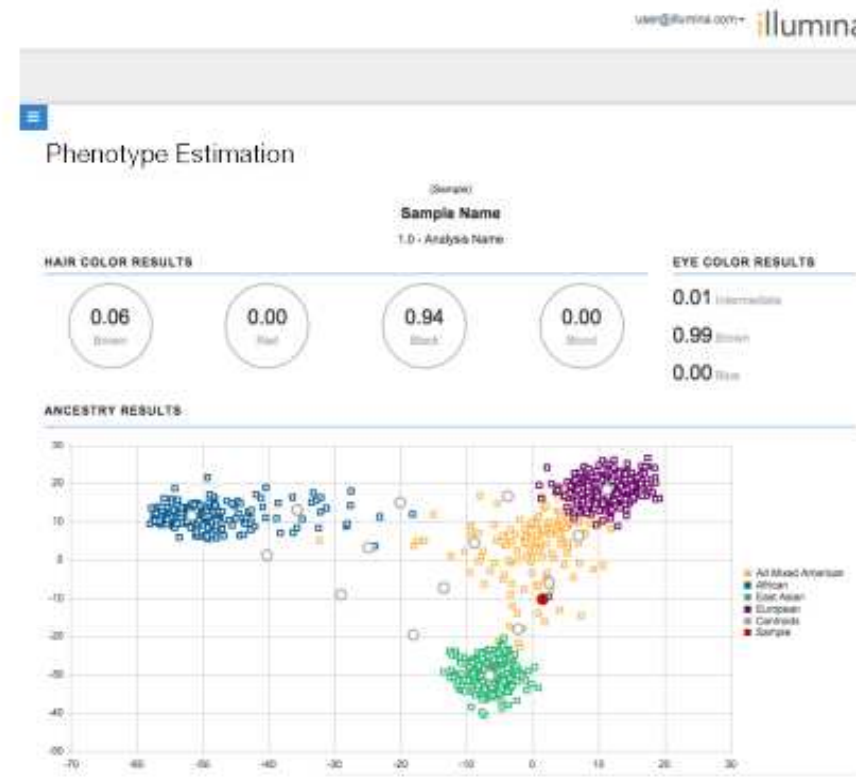


Figure 5: ForenSeq Universal Analysis Software Estimation of Visible Traits— The ForenSeq Universal Analysis Software enables estimation of visible traits including eye and hair color. Markers for biogeographical ancestry can also be tested and reviewed.

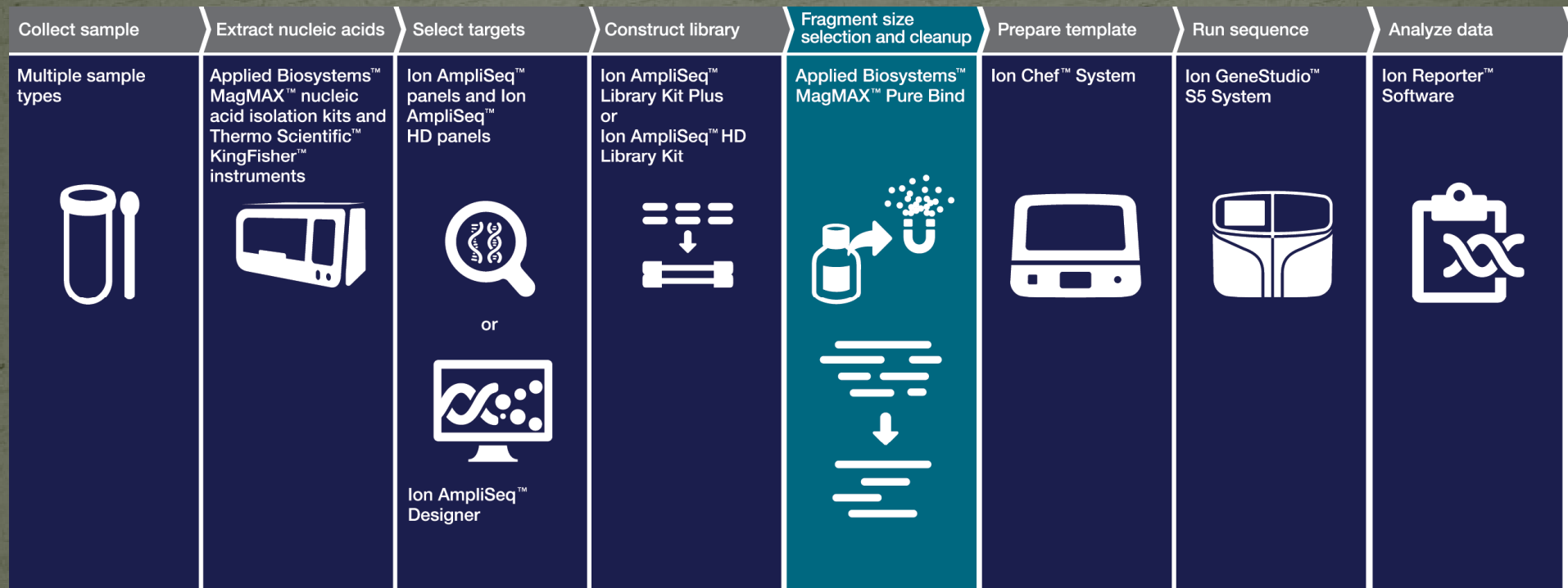
MPS

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

Avidity Sequencing™ Technology

- [Avidity Sequencing™ Technology Video \(youtube.com\)](#)
- Systém AVITI generuje polonie pomocí tzv. rolling circle amplification – RCA. • Každá polonie je souvislé vlákno DNA s mnoha sekvenačními místy (103 kopií původního templátu). • RCA eliminuje propagaci chyb PCR a přeskokování indexů a zároveň snižuje AT/GC bias

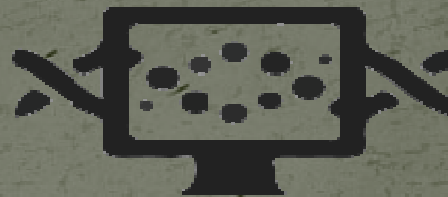
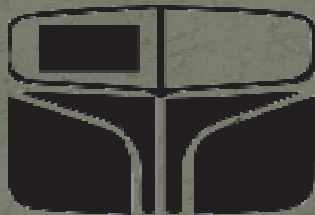
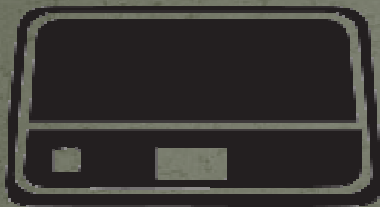
NGS systém (TF)



Ion chef a Ion GeneStudio S5

- 125 pg of DNA
- players.brightcove.net/3663210762001/default_default/index.html?videoId=6027692869001



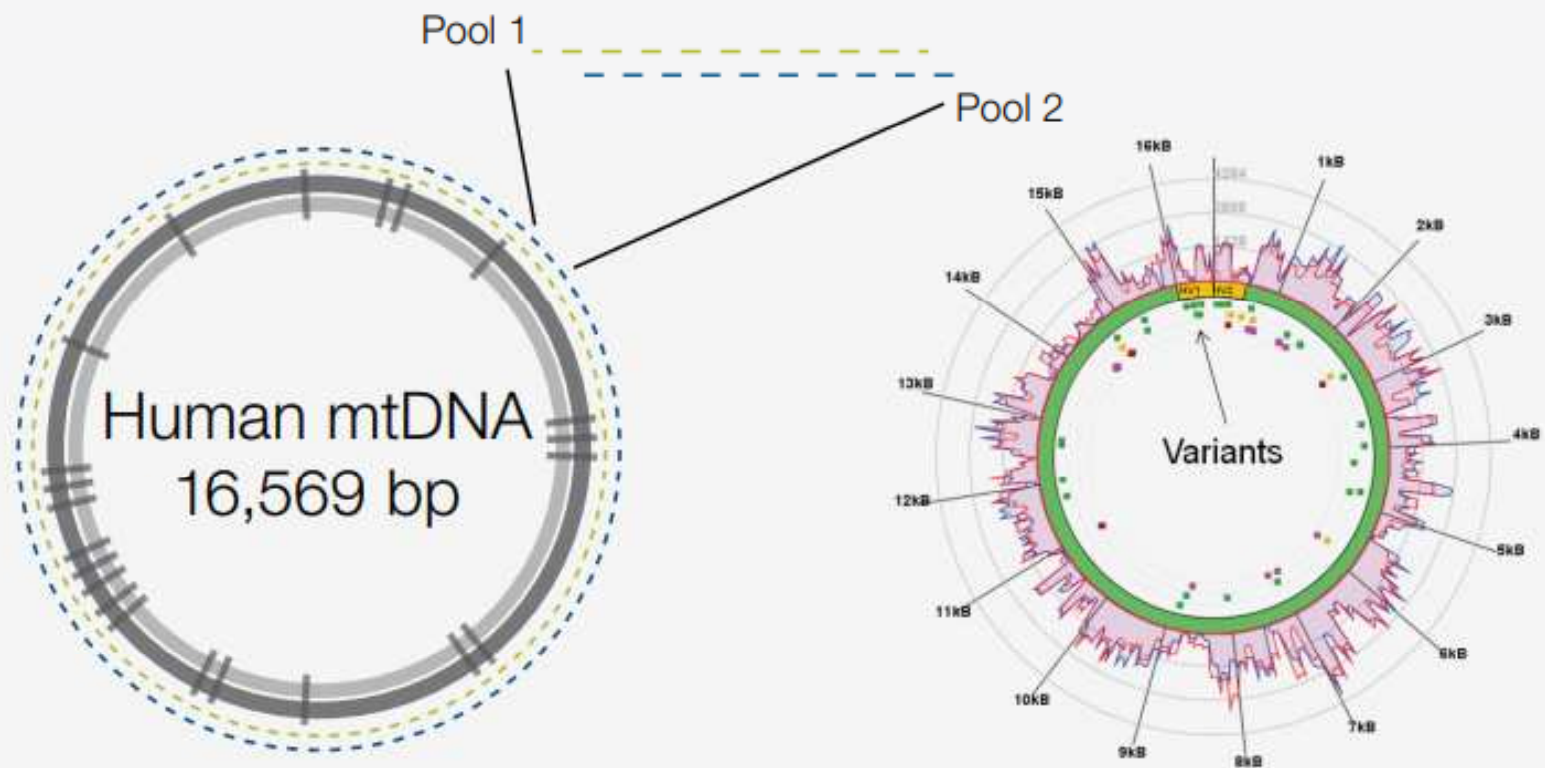


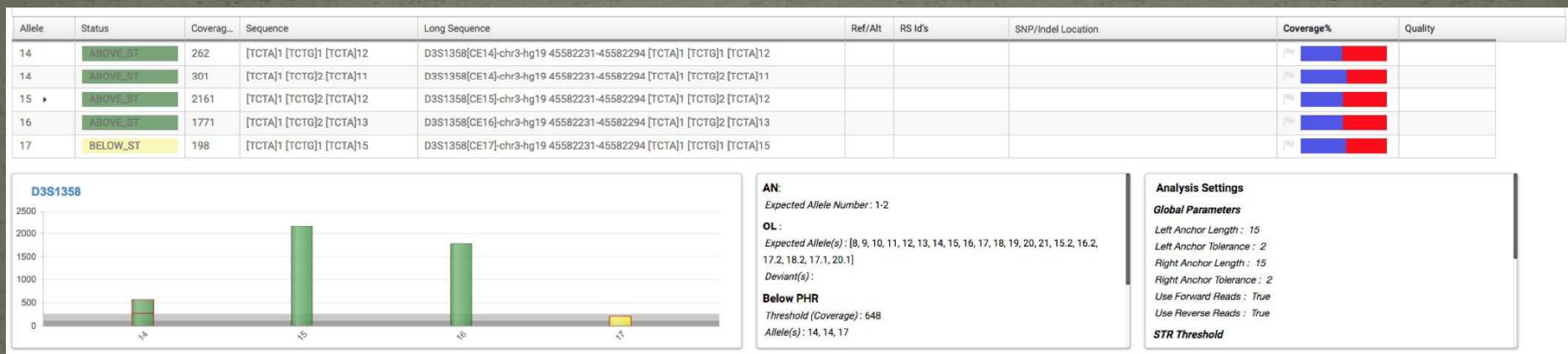
Construct library Hands-on time: 15 minutes Total time: 7 hours	Prepare template Hands-on time: 15 minutes Total time: 11 hours	Run sequence Hands-on time: <15 minutes Total time: as little as 2 hours	Analyze data Total time: as little as 5 hours
Precision ID panels and Ion AmpliSeq Community panels	Ion Chef System	Ion GeneStudio S5 System	Converge Software for mtDNA, STR and SNP analysis

Aplikace	Panel
Identifikace obětí, DVI, pohřešované osoby	Precision ID mtDNA Whole Genome Panel Precision ID mtDNA Control Region Panel Precision ID Identity Panel Ion AmpliSeq HID Y-SNP Research Panel v1 Combination: Ion AmpliSeq VISAGE-Basic Tool Research Panel, Ion AmpliSeq HID Y-SNP Research Panel v1, and Precision ID mtDNA Whole Genome Panel
Vyšetřování stopy	Precision ID Ancestry Panel Ion AmpliSeq PhenoTrivium Panel Ion AmpliSeq VISAGE-Basic Tool Research Panel
Navenek viditelné znaky	Ion AmpliSeq PhenoTrivium Panel Ion AmpliSeq VISAGE-Basic Tool Research Panel Ion AmpliSeq DNA Phenotyping Panel
Bio Geografický původ	Precision ID Ancestry Panel Ion AmpliSeq PhenoTrivium Panel Ion AmpliSeq VISAGE-Basic Tool Research Panel Ion AmpliSeq MH-74 Plex Research Panel
Počet přispěvatelů, dekonvoluce směsí	Ion AmpliSeq MH-74 Plex Research Panel Precision ID GlobalFiler NGS STR Panels

Precision ID panely

Mitochondriální DNA (mtDNA) ze vzorků nalezených při hromadných neštěstích a z jiných neidentifikovaných pozůstatků lze běžně analyzovat, což pomáhá při identifikaci člověka a určení vazeb na příbuzné členy rodiny. Panely krátkých tandemových repetitivních sekvencí (STR) poskytují genotypizaci STR s vysokým rozlišením pro analýzu složitých směsí. Analýza předků informující o původu nebo fenotypová analýza jednonukleotidových polymorfismů (SNP) může pomoci vytvořit vyšetřovací stopy v případě, že podezřelí nejsou známi. SNP testující identitu mohou přiřadit znehodnocený vzorek z místa činu ke známé referenci, pokud jsou pomocí autozomální analýzy STR získány dílčí výsledky.



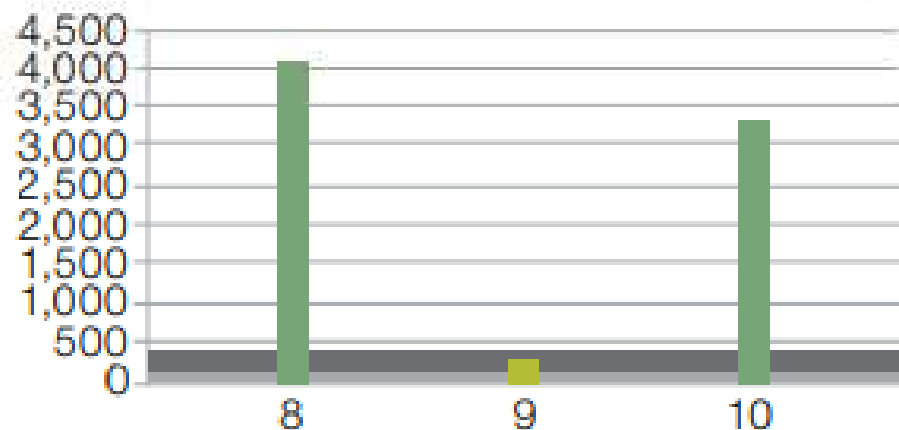


Panel NGS STR Precision ID GlobalFiler v2 společnosti Applied Biosystems obsahuje 36 markerů, včetně stejných 21 autozomálních STR, Y markerů a amelogeninových pohlavních markerů, které jsou obsaženy v sadě GlobalFiler PCR Amplification Kit, a 14 dalších informativních markerů pro forenzní analýzu. Při analýze pomocí NGS tyto markery odhalí více alel (74 %), než kolik jich bylo identifikováno pomocí tradiční analýzy CE, a to díky sekvenční diverzitě v rámci alel CE stejné velikosti. Tyto izometrické alely lze použít k řešení složitých profilů a směs.

Below ST *Above ST* *Below PHR* *Stutter* *Below AT* *AT* *ST* *SNPs in flank*

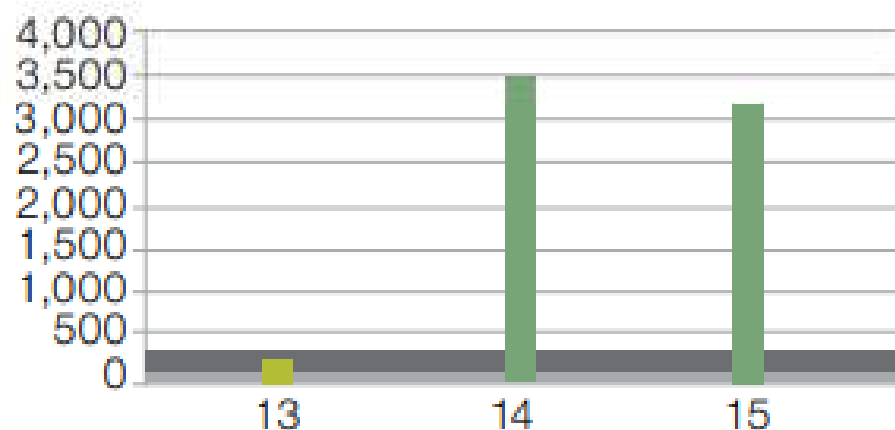
AN | OL | PHR | CC | BST

D2S1776



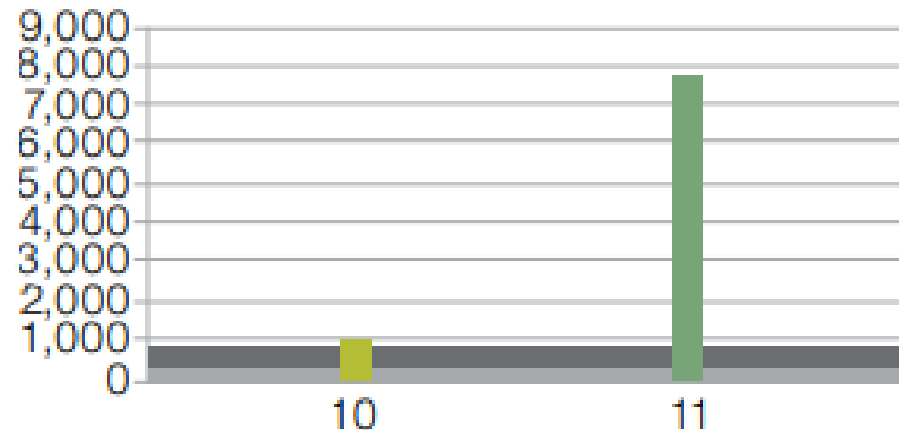
AN | OL | PHR | CC | BST

D2S441



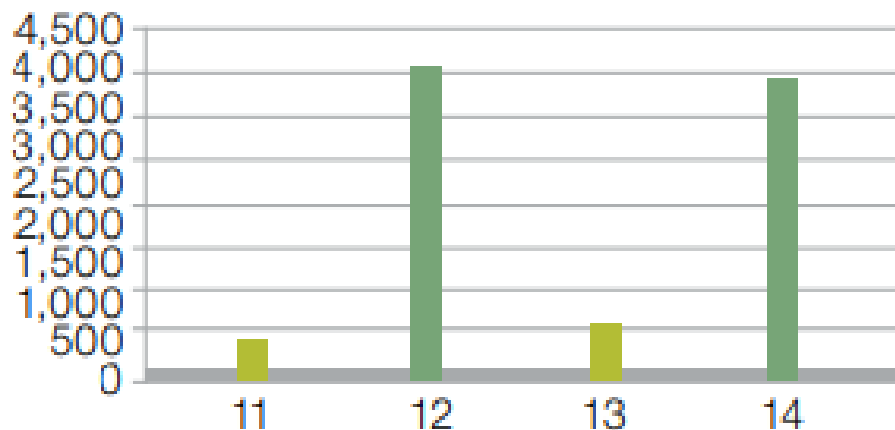
AN | OL | PHR | CC | BST

● D5S818



AN | OL | PHR | CC | BST

D6S1043



Analýza SNP

- Converge Software SNP analýza poskytuje řadu metriky pro sledování kvality sekvenování, včetně pokrytí zarovnaných čtení k hotspotu, zkreslení řetězce, počtu čtení obsahujících každou bázi v hotspotu, volání genotypu a počet genotypů. kvality a frekvence hlavních alel. Terciární biogeografie Analýza předků spočívá v generování odhadu tzv. Obrázek 9. Výsledky Y-haploskupiny z panelu Precision ID Identity Panel. Zobrazené atributy jsou HaploGroup, odvozené alely, všechny markery, které jsou v rozporu s hlášenou linií Y, a klad Y (červeně: ancestrální SNP; zeleně: mutantní SNP; šedě: žádné údaje). Předpověď příměsí (obrázek 8) a populační pravděpodobnosti (na základě algoritmů od Kena Kidda). Analýza identity se skládá z výpočtu pravděpodobnosti náhodné shody (RMP) na základě genotypových frekvencí vygenerovaných z údajů z databáze 1000 Genomes Project, jakož i z Y-haploskupiny. Předpovědi.C



– Results

Generate Report

YTree Profile

Ancestral SNP Mutant SNP No Data

HaploGroup: HaploGroup O3
 HaploGroup Tree Version: Y-DNA HaploGroup Tree 2014
 Profile: P193+,P198+,M89+,M9+,M526+,M168+,P143+,P186+,M523+
 Incompatible Loci: None
 YTree:



Locus	Profile 1038 (Precision_ID_GlobalFiler_NGS_STR_Panel)	Profile 1034 (GlobalFiler_Panel_v1)	Profile 1035 (NGM_Detect_Panel_v2)
AMEL	X,Y	X,Y	X,Y
CSF1PO	10,12		-
D10S1248	14,15	14,15	
D12S391	21,22	21,22	21,22
D13S317	11	11	-
D16S539	12,14	14	12,14
D18S51	15	15	15
D19S433	12	12,14	12,14
D1S1656	11,16	11	11,16
D21S11	29	29	29
D22S1045	15	15	15
D2S1338	19,20		19,20
D2S441	10	10,14	-
D3S1358	15	15,17	15,17
D5S818	11,12	11,12	-
D7S820	9,10		-
D8S1179	12,13	12,13	12,13
DYS391	12		-
FGA	22,23		22,23
SE33	-		21.2,29.2
TH01	8,9	8,9	8,9
TPOX	8,12		-
Y indel	2	2	2
vWA	16	16	16
D12ATA63	12,18	-	-
D14S1434	10,13	-	-
D1S1677	13,14	-	-
D2S1776	10,11	-	-
D3S4529	13,15	-	-
D4S2408	10	-	-
D5S2800	17,18	-	-
D6S1043	17	-	-

Ion AmpliSeq DNA Phenotyping Panel

- Fenotypizace DNA může být užitečná pro získání vodítek pro vyšetřování v případech, kdy profily STR nevedly ke shodě s databází. Panel fenotypizace DNA Ion AmpliSeq se používá k předpovědi barvy vlasů a očí pomocí 24 fenotypových SNP ze systému HirisPlex. Tento panel se zaměřuje na 23 SNP a jeden indel z následujících genů: MC1R, SLC45A2, ASIP/PIGU, EXOC2, HERC2, IRF4, KITLG, OCA2, TYR, SLC24A4 a TRYP1. Výsledky naznačující pravděpodobnost modré, střední nebo hnědé barvy očí spolu s odstínem černých, hnědých, zrzavých nebo blond vlasů poskytuje predikční model HirisPlex.

Ion AmpliSeq HID Y-SNP Research Panel v1

- Y-chromozomální haploskupiny přiřazené na základě mužských specifických Y-chromozomálních jednonukleotidových polymorfismů (Y-SNP) umožňují identifikaci otcovské linie a odvození otcovského bio-geografického původu, což má význam pro forenzní genetiku. Výzkumný panel Ion AmpliSeq HID Y-SNP umožňuje analýzu 859 Y-SNP k odvození 640 haploskupin Y. Předběžné forenzní vývojové validační testy ukázaly, že výkonnost tohoto nástroje Y-SNP MPS je vysoce přesná, citlivá a robustní.

Ion AmpliSeq PhenoTrivium Panel

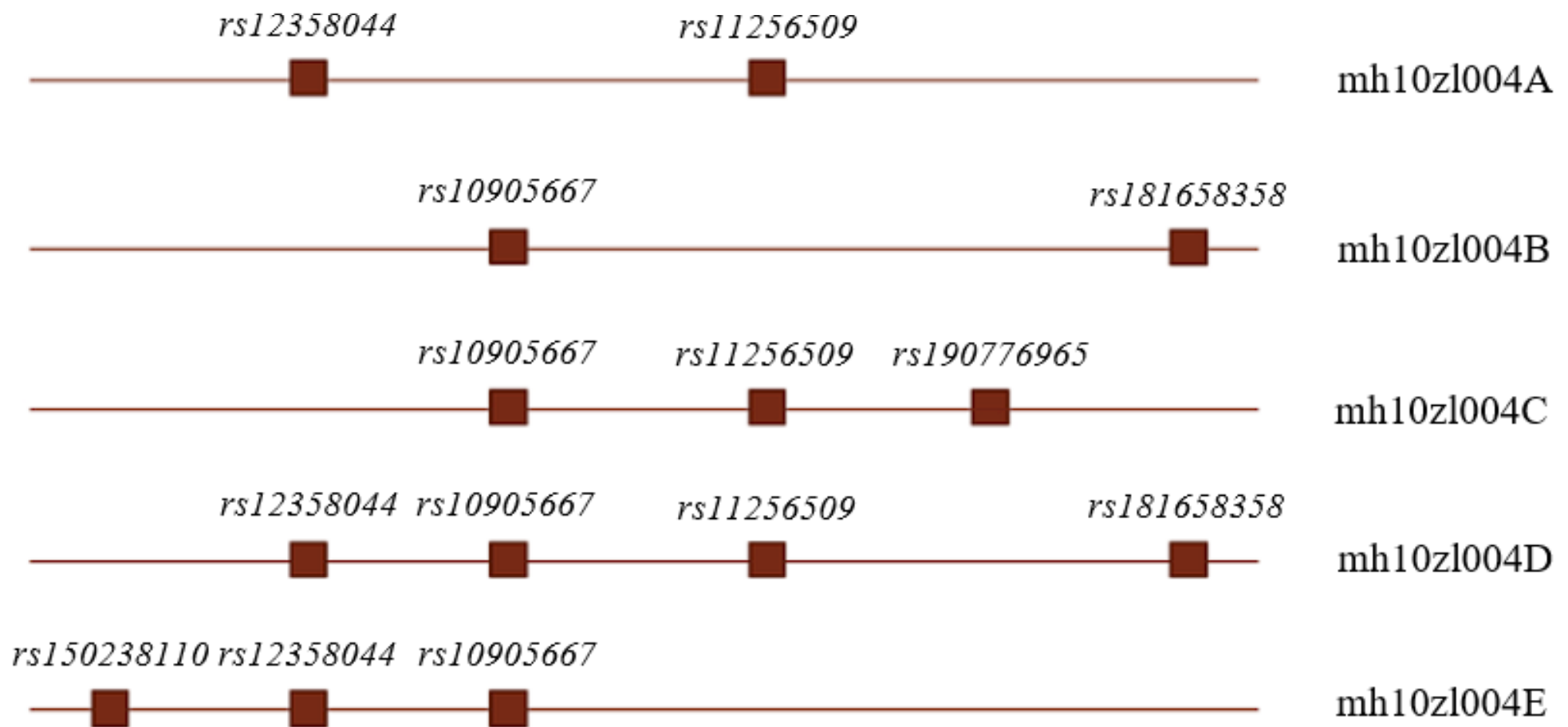
- Rostoucí výzkum v oblasti použití alternativních markerů ve forenzní genetice napomohl k určení metod, jak získat více genetických informací z náročných vzorků. Využití biogeografického původu, fenotypizace DNA a rodových markerů může poskytnout vodítka pro vyšetřování odložených případů a případů, kdy neexistují podezřelí. Panel Ion AmpliSeq PhenoTrivium obsahuje předky, fenotypizaci DNA a markery mužské linie pro celkem 200 autozomálních SNP a 120 chromozomálních SNP Y v jednom panelu. Diepenbroek et. al. ukazují, že s panelem lze získat spolehlivé předpovědi původu a fenotypu až do 125 pg genomové DNA (gDNA) a další výhody kombinace předpovědí původu, fenotypu a mužské linie na vzorcích případů.

Ion AmpliSeq MH-74 Plex Research Panel

- Analýza alternativních typů markerů může doplnit výsledky CE-STR u náročných vzorků, jako jsou komplexní směsi nebo znehodnocené vzorky, a vytvořit tak vodítka pro vyšetřování. Mikrohaplotypy vznikly jako alternativní marker k tradiční typizaci STR-CE díky aditivní vylepšené analýze směsí a možnostem predikce biogeografického původu, které upřednostňují jejich použití u forenzních vzorků. Výzkumný panel Ion AmpliSeq MH-74 Plex je test o délce 157-325 bp zahrnující 74 mikrohaplotypů (230 SNP) vybraných ze souboru 130 mikrohaplotypů dříve charakterizovaných laboratoří Kidd Laboratory. Mikrohaplotypy byly vybrány na základě vysokých hodnot A_e (efektivní počet alel) a I_n (informativnost), aby se zvýšila schopnost dekonvoluce směsí a předpovědi biogeografického původu. Oldoni et. al. prokázali citlivost až do 50 pg genomové DNA (gDNA) a užitečnost testu při analýze komplexních směsí pro doplnění výsledků typizace CE-STR.

Minihaplotypy

- sekvence DNA dlouhou několik tisíc nukleotidů obsahující pár lokusů SNP
- sekvenci DNA kratší než 300 párů bází, ve které se nachází dva nebo více lokusů SNP
- studium struktury populace z evolučního hlediska optikou vazebné nerovnováhy (LD)
- existenci specifických míst v genomu s vysokou mírou LD, definovaných jako haplotypové bloky (také haplobloky nebo LD bloky) nebo jako oblasti, ve kterých se vyskytuje jen omezený počet haplotypů, patrně kvůli nedostatečnému množství dosud proběhlých rekombinací v rámci daného regionu
- MH haplotypy – zmapování jednotlivých populací – populační studie
- NGS – Illumina nebo Ion Torrent S5
- v současné době eviduje celkem 198 mikrohaplotypových lokusů
- využití při určování původů nebo identifikaci osob, kdy se uplatnila rozlišná frekvence alel v závislosti na studované populaci a nízká míra rekombinace



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 telomery – 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
- novorozenec do 3 měsíců: průkazu přítomnosti transkriptů genů pro gamma hemoglobiny (HBG_{1n1}, HBG_{1n2}, HBG_{2n2} a HBG_{2n3}) – 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)

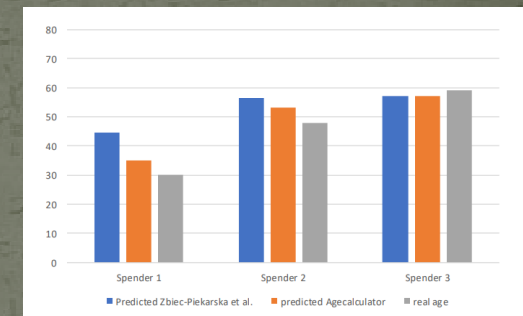
$$= 3.27 - 0.36 * C1orf132 + 0.47 * ELOVL2 + 0.83 * KLF14 + 0.24 * FHL2 + 0.31 * TRIM59$$

$$= 3.27 - 0.36 * 46 + 0.47 * 27 + 0.83 * 29 + 0.24 * 33 + 0.31 * 40$$

$$= 3.27 - 16.56 + 12.69 + 24.07 + 7.92 + 12.4$$

$$= 43.79$$

● Predicted age: 44 years



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

Forenzní genetik 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), 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 – určení 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
- určení 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

Odborné vyjádření

- mnohem stručnější, než znalecký posudek
- prioritně zajímá odpověď na položenou otázku
- co, kdy, kde, kdo a komu
- co bylo předloženo
- otázky dožadujícího
- výsledky zkoumání dle otázek (výsledky testů, stav profilu DNA, jeho použitelnost, informace o porovnání, zda byl profil DNA uložen)
- co se stalo se stopami a srovnávacími vzorky

Znalecký posudek

- pevnější struktura
 - soud není oprávněn hodnotit závěry znalce po věcné stránce, může však srovnávat obsah znaleckého posudku s ostatními provedenými důkazy
 - znalecký posudek by se zásadně neměl vyjadřovat k právním otázkám, ale omezit se pouze na řešení otázek odborných
 - znalecký posudek musí být prostý úvah a domněnek, musí však bezezbytku odpovídat na zadané dotazy.
-
- I. Nález – co bylo ke zkoumání předloženo, co má být zjištěno a jaké metody byly použity, výsledky
 - II. Posudek – otázka – zkrácená odpověď
 - znalecká doložka, vč. Informace jak bylo se stopami a izoláty naloženo
 - jiná razítka, jinak svázaný (vč. trikolórního provázku, přelepení hřbetu)

Pro zopakování:

- ohledání místa činu – vyhledání relevantních biologických stop - zajištění stopy přímo (např. na odběrový tampon) popř. i s nosičem (např. oblečení)
- v laboratoři provedení orientačních a specifických testů – určení druhu x latentní stěry
- izolace DNA - dle typu materiálu
- kvantifikace DNA - určení několika parametrů v 1 kroku při minimální spotřebě materiálu
- amplifikace DNA – namnožení lokusů dle použitého kitu
- kapilární elektroforéza – fragmentační analýza STR
- vyhodnocení – upotřebitelný x neupotřebitelný profil DNA; shoda s osobou x se stopou x není shoda
- databáze DNA (FODAGEN, Info DNA, CODIS, Info Web, IS Shoda)