

Aplikace DNA profilování na aDNA

Workshop aDNA

- S sebou: !čistý! plášť, přezůvky, laboratorní kalhoty a triko, popř. čisté tepláky
- Sraz 10 min. před začátkem v před místností 347, A36 koridor

Zkušební termíny

- Studijní materiály do 30. 11. 2015
- Písemná část – povinná
- Ústní část – dobrovolná

K čemu je DNA profilování

- Recentní DNA – forenzní genetika
- Identifikace osob – oběti a pachatelé trestných činů, osoby pohřešované, imigranti, oběti hromadných neštěstí
- Určování příbuzenství – paternitní a maternitní spory
- Ztotožňování stop – násilná a majetková trestná činnost

K čemu je DNA profilování

- aDNA
- identifikace historických osobností
- interpretace pohřebního ritu, kulturní zvyklostí
- hledání recentních příbuzných, příslušnost ke šlechtickým rodům

Historie použití DNA profilování

- **1986 v Anglii při imigračním sporu**
- **V kriminalistice v roce 1987 genetikem Alecem Jeffersem**
- **Československo 1992 prof. Ferák**



Sir Alec Jeffreys



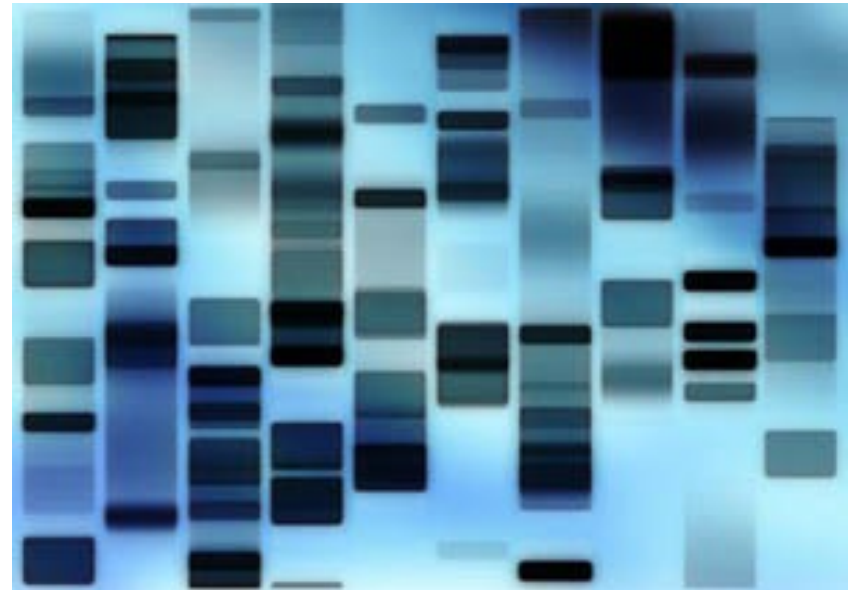
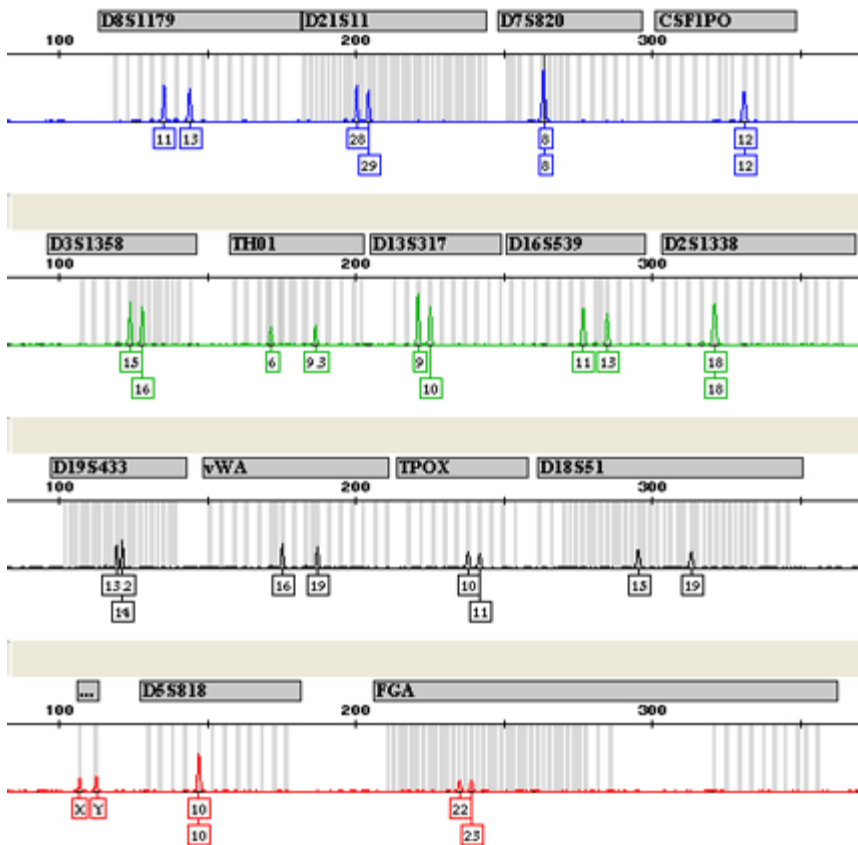
Prof. RNDr. Vladimír Ferák, CSc.

Typy sekvencí pro DNA profilování

- Minisatelity
- Mikrosatelity
- SNP

Postup DNA profilování

- PCR – komerční soupravy
- RFLP – štěpení restriktčními enzymy a ELFO
- STR – fragmentační analýza



Mikrosatelity a minisatelity

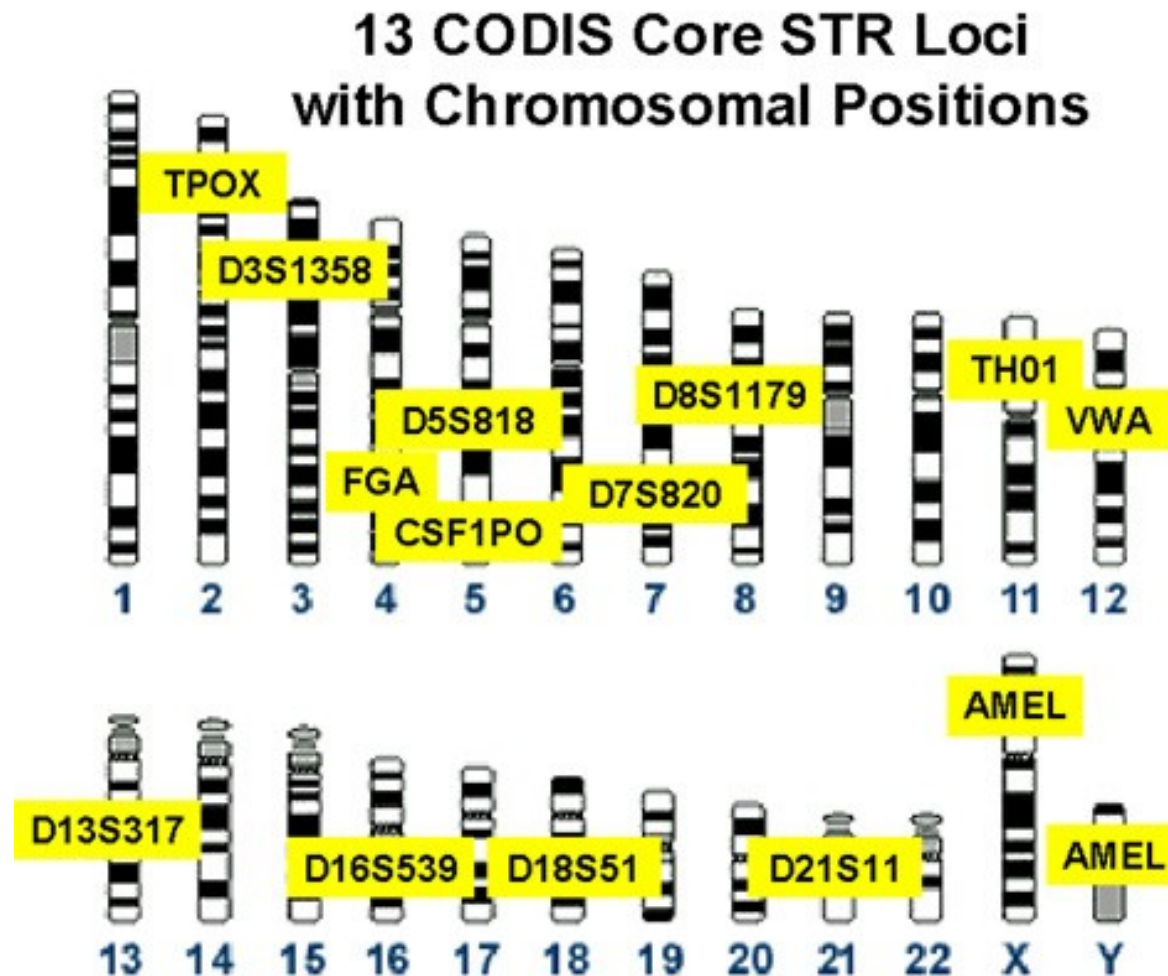
MINISATELITY

- Délka základní repetice >6bp
- Počet opakování repetice 10 – 100 (1000)
- Výskyt především v telomerických oblastech
- Odhadovaný počet: cca 10^4
- Mutační frekvence: vysoká, až 10^{-3}
- Využití: omezené- dříve individuální identifikace
- Biologický význam: neznámý, asi selfish DNA

MIKROSATELITY (STR)

- Délka základní repetice 2 - 6bp
- Počet opakování repetice 2 – 100
- Výskyt rovnoměrně po genomě
- Odhadovaný počet řádově 10^5
- Mutační frekvence: cca 10^{-3}
- Využití: rozsáhlé; individuální identifikace, nepřímá DNA diagnostika, identifikace genů
- Biologický význam: neznámý, asi selfish DNA
- Nejčastější: „CA-repeat“ (asi 50 000 genomu)

Mapa 13 STR lokusů systému CODIS



CODIS

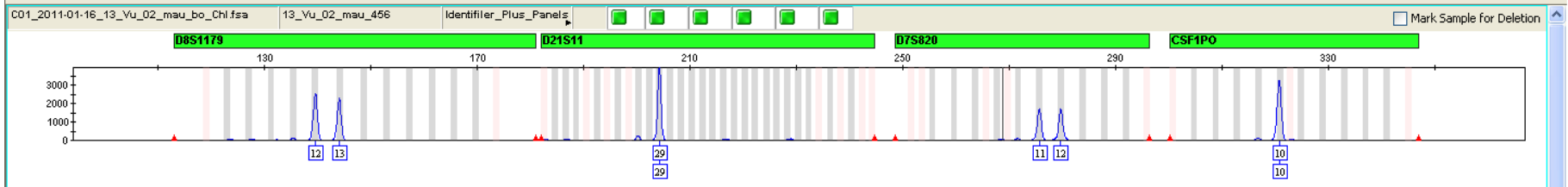
- The Combined DNA Index System (CODIS)
- Mohutný nástroj prevence a represe závažných trestných činů
- Databáze DNA profilů kriminálních a stop z míst činu
- Americký software, používaný i u nás
- DNA zákon se liší mezi USA státy, u nás chybí
- The National DNA Index (NDIS) má více než 10,269,778 DNA profilů kriminálních a 399,071
- profilů stop (říjen 2011)
- CODIS poskytl 164,000 zásahů a pomohl při 158,000 vyšetřování (říjen 2011)

Hodnocení genetických profilů

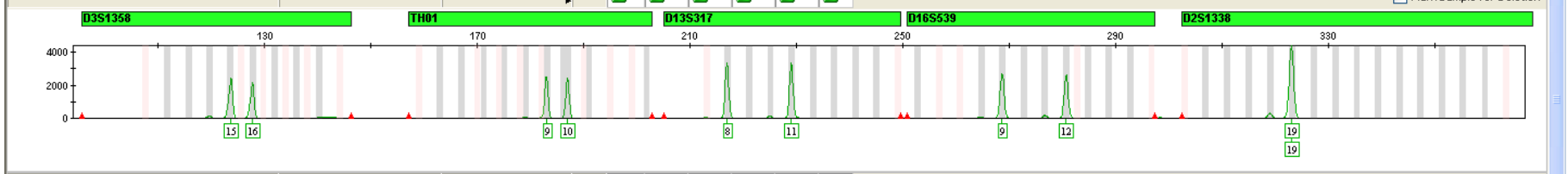
- Hodnocení získaného profilu proti standardnímu žebříku
- Hodnocení peaků:
Jejich polohy, výšky, výskytu, tvaru...

Plot Setting: Mixture Analysis Defaults Panes: 4

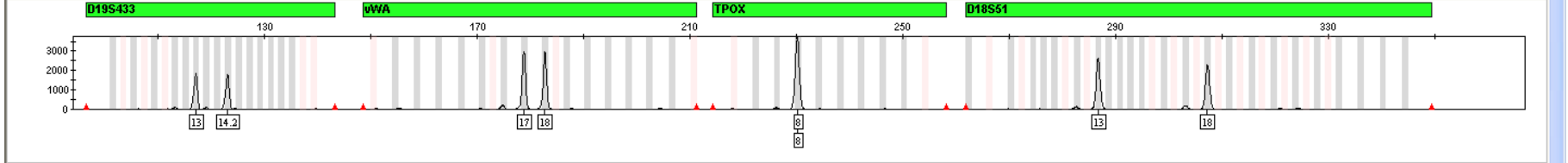
Sample File	Sample Name	Panel	SQO	SOS	SQ	SSPK	MIX	OMR	CGQ
C01_2011-01-16_13_Vu_02_mau_bo_Chl.fsa	13_Vu_02_mau_456	Identifiler_Plus_Panels	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



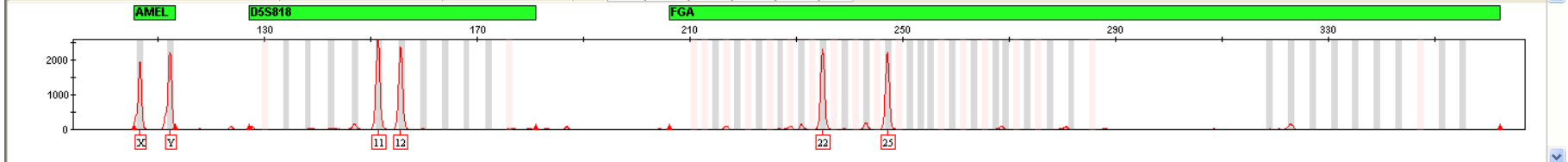
Sample File	Sample Name	Panel	SQO	SOS	SQ	SSPK	MIX	OMR	CGQ
C01_2011-01-16_13_Vu_02_mau_bo_Chl.fsa	13_Vu_02_mau_456	Identifiler_Plus_Panels	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Sample File	Sample Name	Panel	SQO	SOS	SQ	SSPK	MIX	OMR	CGQ
C01_2011-01-16_13_Vu_02_mau_bo_Chl.fsa	13_Vu_02_mau_456	Identifiler_Plus_Panels	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Sample File	Sample Name	Panel	SQO	SOS	SQ	SSPK	MIX	OMR	CGQ
C01_2011-01-16_13_Vu_02_mau_bo_Chl.fsa	13_Vu_02_mau_456	Identifiler_Plus_Panels	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



[X 229.38 Y 176] [Peak: Data Point 5640 Size 268.74 Height 68]

aDNA a genetické profilování

- Použití:

Individuální identifikace

Určení příbuzenství

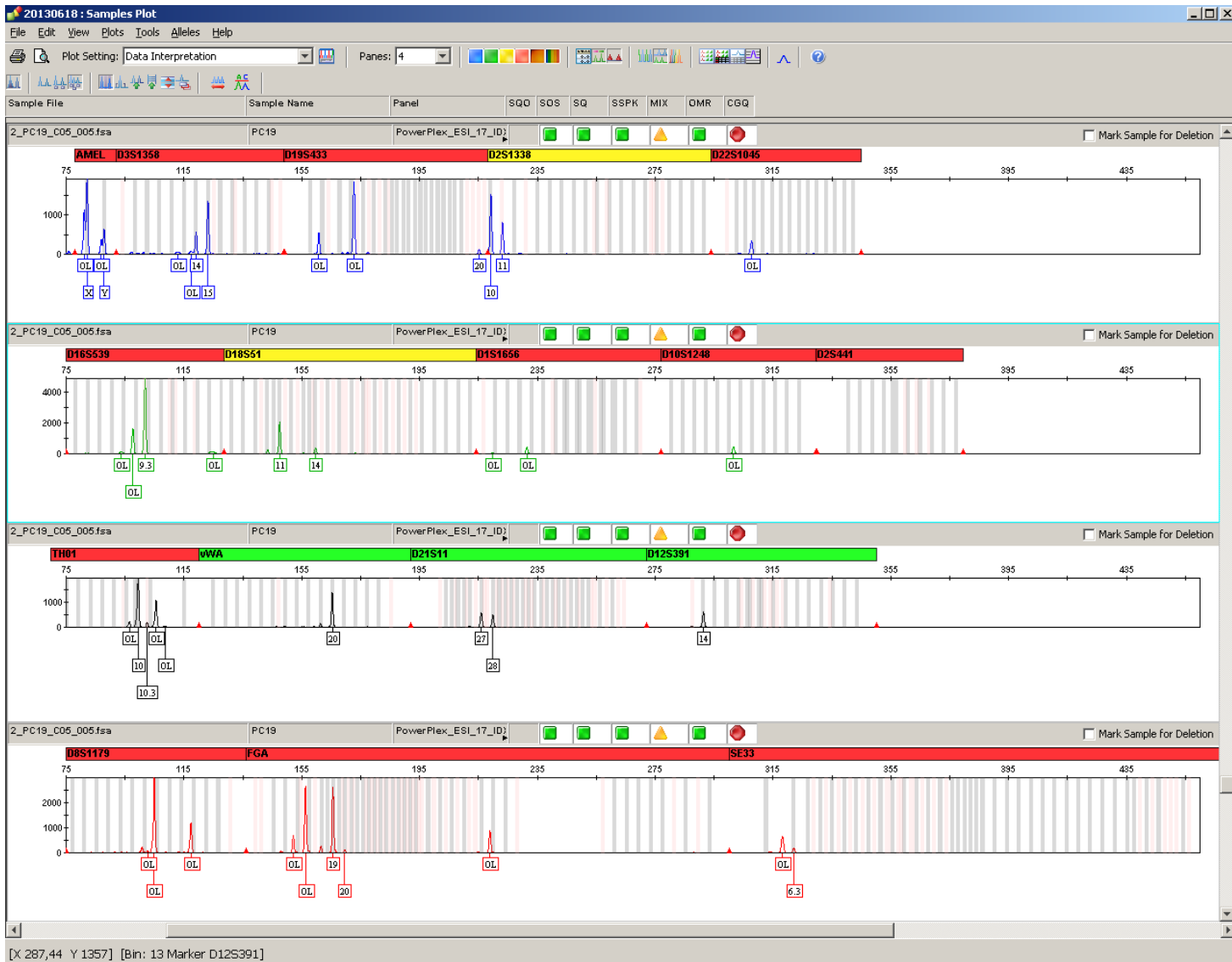
Populační studie

- Metodické přístupy:

Využití forenzních kitů v kombinaci a analýzou mitochondriální DNA a STR na chromozomu

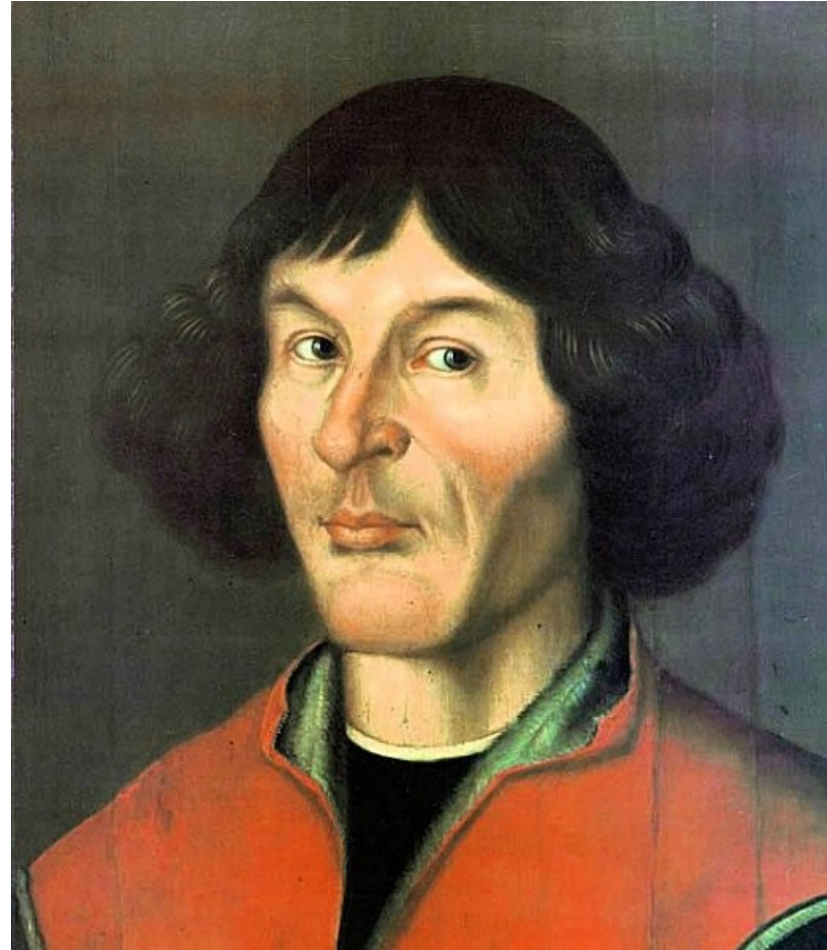
aDNA – fragmentární, množství inhibitorů –

Problematické využití komerčních souprav



Mikoláš Koperník (1473–1543)

- Exhumován v roce 2005, katedrála ve Fromborku v Polsku
- Analýza DNA z horních stoliček mtDNA (Německo, matka slezského původu)
STR
Y DNA (Rakousko, Německo, Polsko a Česká republika)
Porovnáno z výsledky analýzy DNA vlasů nalezených v jeho osobním kalendáři *Calendarium Romanum Magnum*, který je uložen v muzeu v Uppsale, Švédsko
- Projekce lebky do obrazů
- SNP v *HERC2* genu - C/C genotyp, který má za následek světlé (modré) oči



Jack Rozparovač

- Polský přistěhovalec Aaron Kosminski
- Vraždy min. 5 prostitutek ve viktoriánském Londýně
- 125 let starý hedvábný šátek



Richard III.

- Zář 2013 – parkoviště v Leicesteru, dříve místo františkánského kostela
- Dříve hrobka roku Plantagetů
- Padl v bitvě u Bosworthu v roce 1485
- Kostra muže, asi 30 let, radiokarbonová metoda potvrdila, že žil mezi lety 1455 až 1540
- Vážná skolióza
- Mnoho zranění, zejména na hlavě
- DNA skeletu porovnána s DNA truhláře Michalem Ibsenem – potomek Richardovy sestry Anny z Yorku
- Richard by tedy měl haplotyp Y totožný jako dnešní muži z rodu Somersetů, kteří odvozují svůj původ po meči až k Richardovu prapradědovi Eduardovi III



Goethe a Schiller

- Výmarská knížecí krypta - Friedrich Schiller a Johann Wolfgang von Goethe
- Schiller pohřben přemístěn do hrobky 21 let po smrti

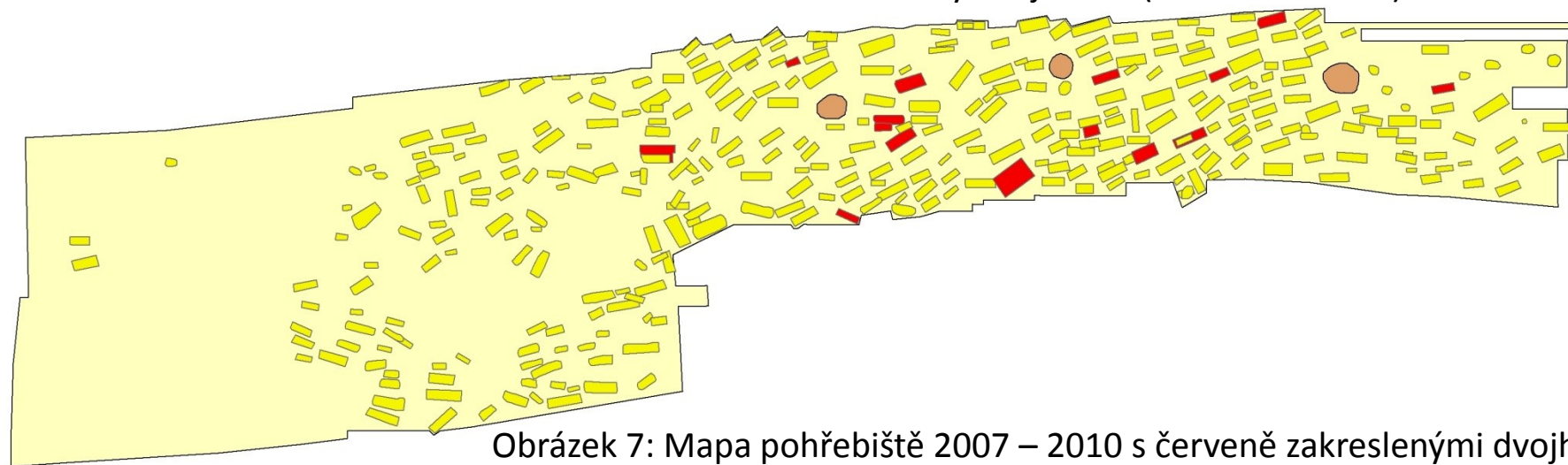


Dvojhroby – určování příbuzenství

- 14 dvojhrobů
- Žena s dítětem
- Dvě děti
- Dva dospělí
- Příbuznost?



Obrázek 6: Příklady dvojhrobů (Foto: Kratochvíl)

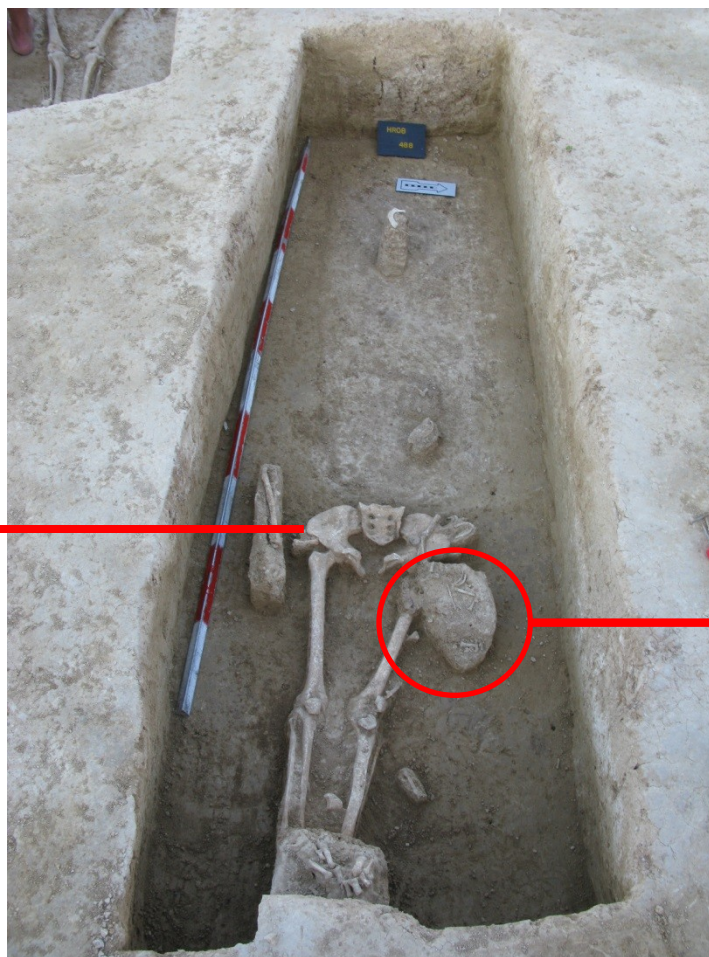


Obrázek 7: Mapa pohřebiště 2007 – 2010 s červeně zakreslenými dvojhroby

488A

488B

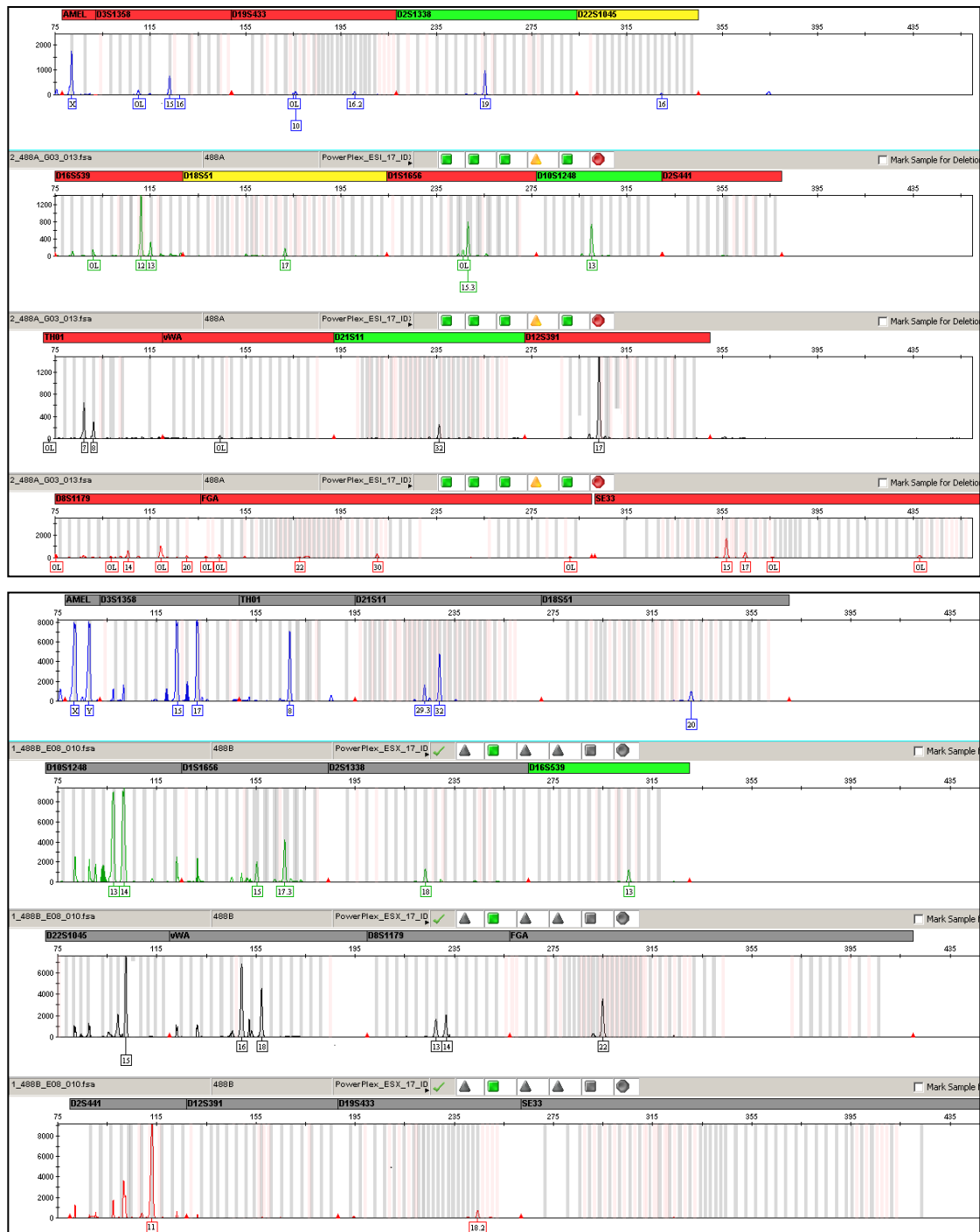
- Rok 2008
- Žena
- 33 let
- $150,2 \pm 4,49$ cm
(Drozdová, 2011)



- Novorozenec
- Hrob bez milodarů
a druhotně
poškozen
- Kostí ve velmi
dobrém stavu
- (Drozdová, 2011)

Obrázek 12: Dvojhrob 488 A,B (Foto: Kratochvíl)

	488A		488B	
amel	X		X	Y
D3S1358	15		15	17
D19S433	10	16. 2	18.2	
D2S1338	19		18	
D22S1045	16		16	
D16S539	12	13	13	
D18S51	17		20	
D1S1656	15.3		15	17.3
D10S1248	13		13	14
D2S441			11	
TH01	7	8	8	
vWA			16	18
D21S11	32		29.3	32
D12S391	17			
D8S1179	14	20	13	14
FGA	22	30	22	
SE33	15	17		



Tabulka 4: Profil jedinců z dvojrobu 488