



NACIONALNI FORENZIČNI LABORATORIJ
NATIONAL FORENSIC LABORATORY

Ugotavljanje identitete pogrešanih s preiskavo DNK

prof. dr. Katja Drobnič

vodja Oddelka za biološke preiskave
Nacionalni forenzični laboratorij



5. Kriminalistična sreda

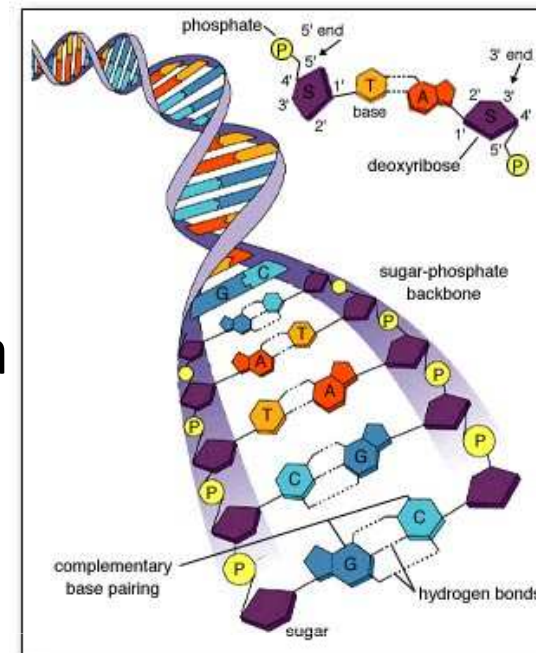
FVV, UM

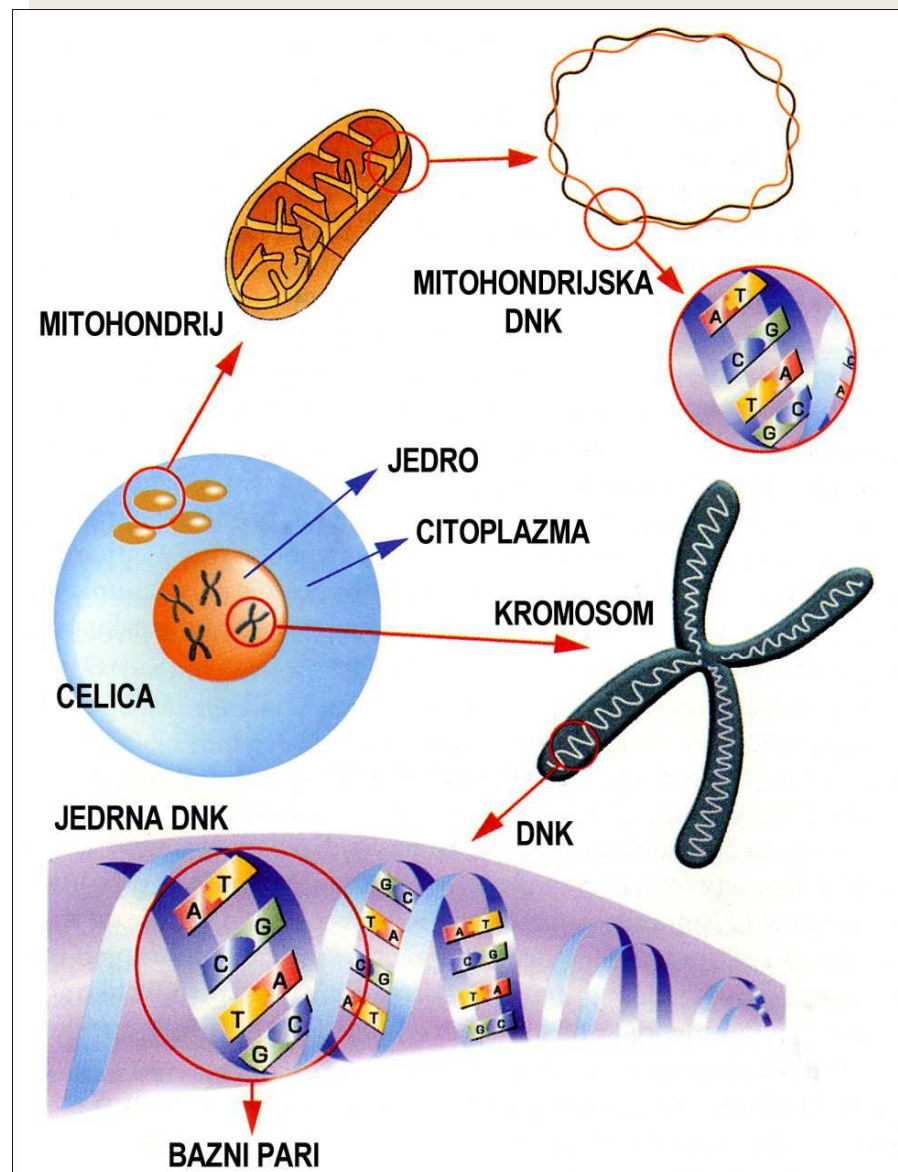
Ljubljana, 8. 3. 2017



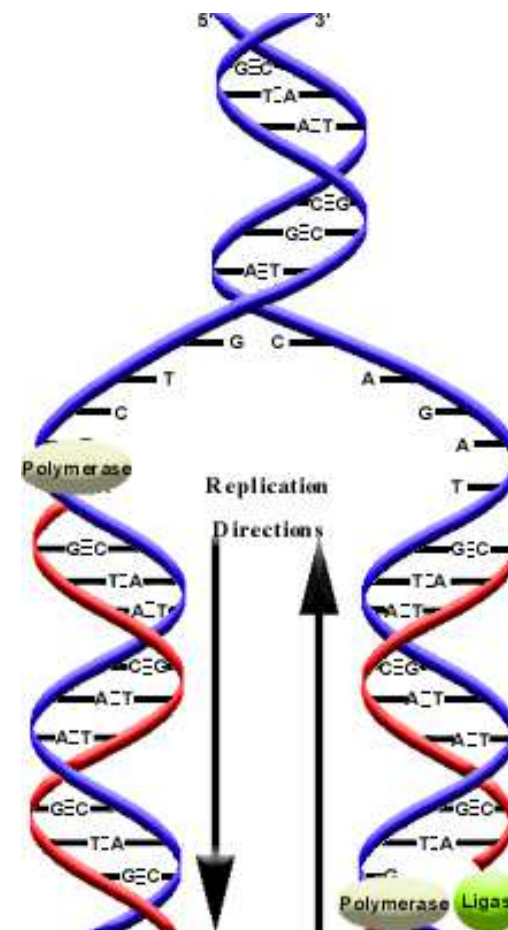
Molekularne osnove

- DNK (DNA) ali deoksiribonukleinska kislina je biokemična osnova življenja in raznolikosti – človeška dednina.
- Je v obliki dvojne vijačnice.
- Nahaja se v vseh celicah z jedrom.
- Običajno imajo vse celice posameznika enako DNK.
- Največ DNK je v jedru celice (jedrna DNK), nekaj jo je tudi v mitohondrijih (mtDNK).
- Temeljna značilnost DNK je podvajanje in prenos dedne informacije na potomce.





Materinska DNK

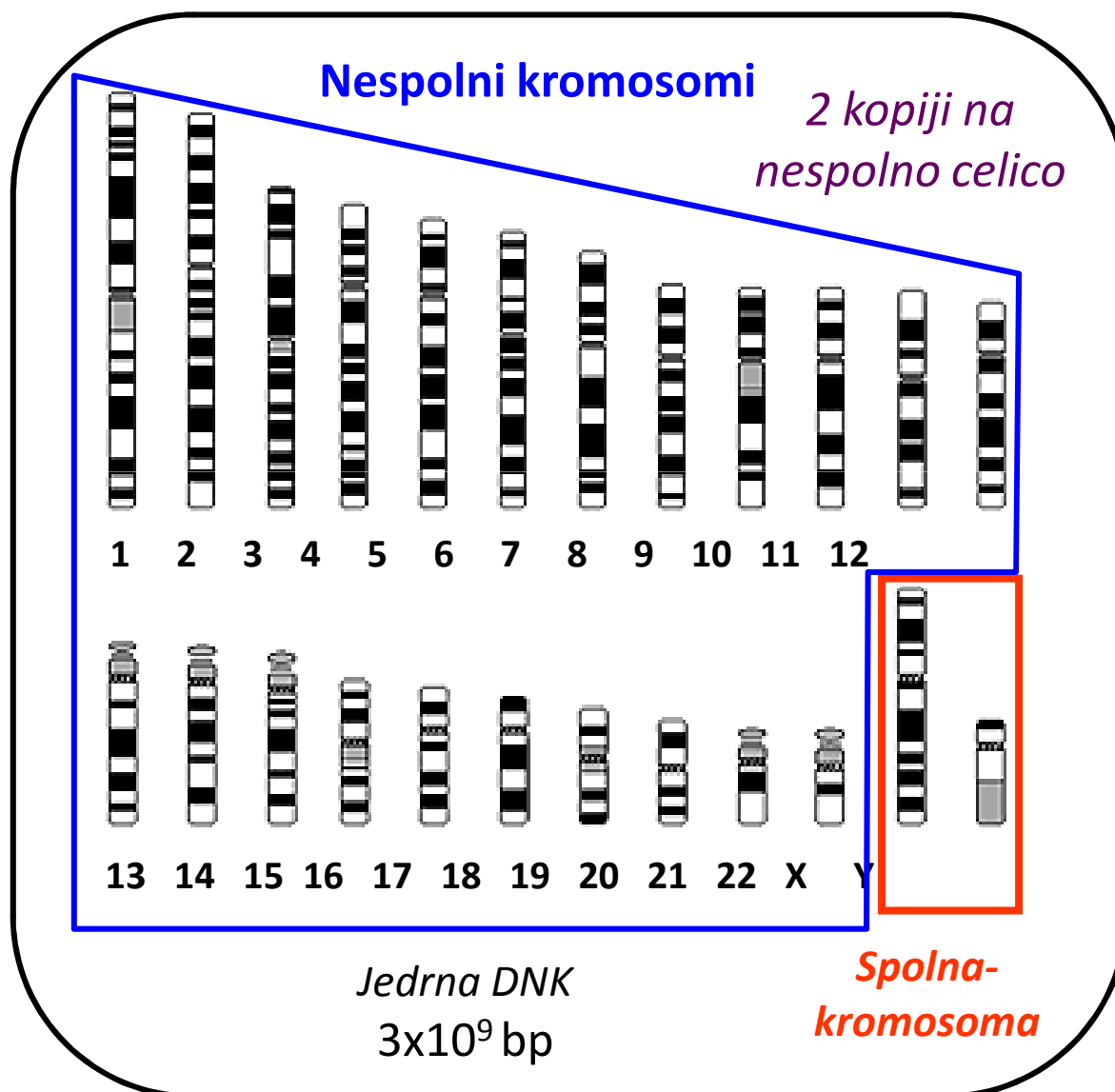


Hčerinski molekuli DNK

Shematski prikaz človeškega genoma in podvajanja DNK

Podrobnejši prikaz človeškega genoma

23 parov kromosomov + mtDNK

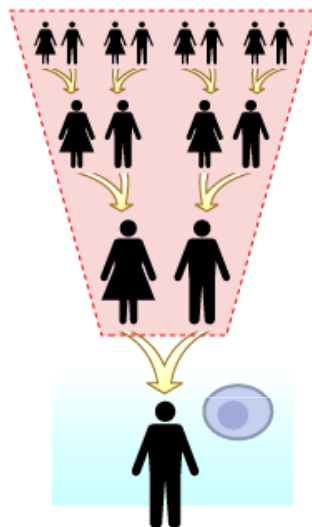
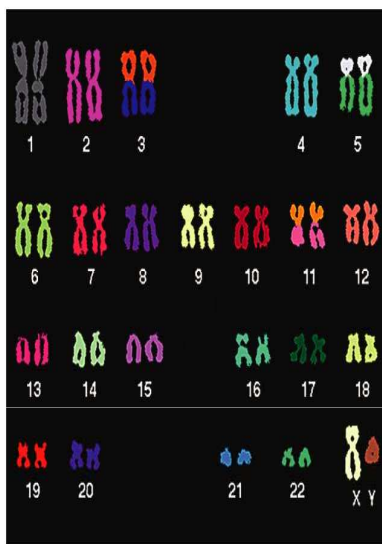


**Nahaja v
mitohondrijih (1-15
kopij)**



**Povprečno 500
kopij na celico**

Prenos dedne informacije



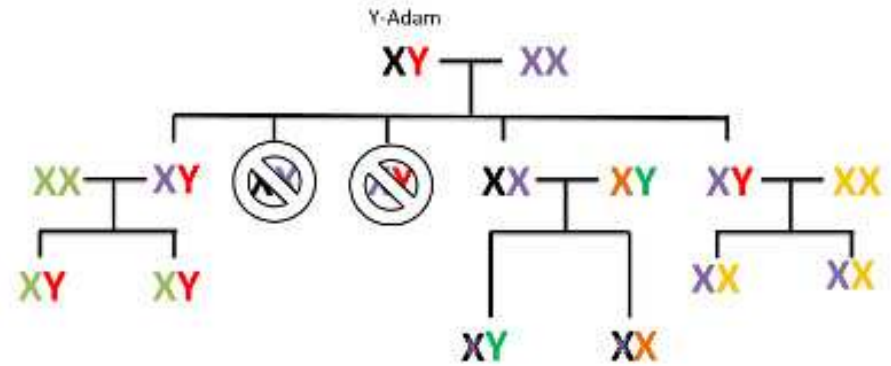
<https://ucforensic.wikispaces.com/mtDNA+analysis>

a)		Aleš		b)		Žiga	
		28	30			29	31
Ana	29	28,29	29,30	Zoja	29	29,29	29,31
	31	28,31	30,31		29	29,29	29,31
		D21S11				D21S11	

- Jedrna DNK 23 parov kromosomov
 - Enega od matere in drugega od očeta
 - En par - spolna kromosoma
 - XX –ženska, XY - moški
- Sorojenci podedujejo drugo kombinacijo jedrnih kromosomov
 - genom posameznika je enkraten – variacij 2^{23}
 - izjema so enojajčni dvojčki

Spolni kromosom Y

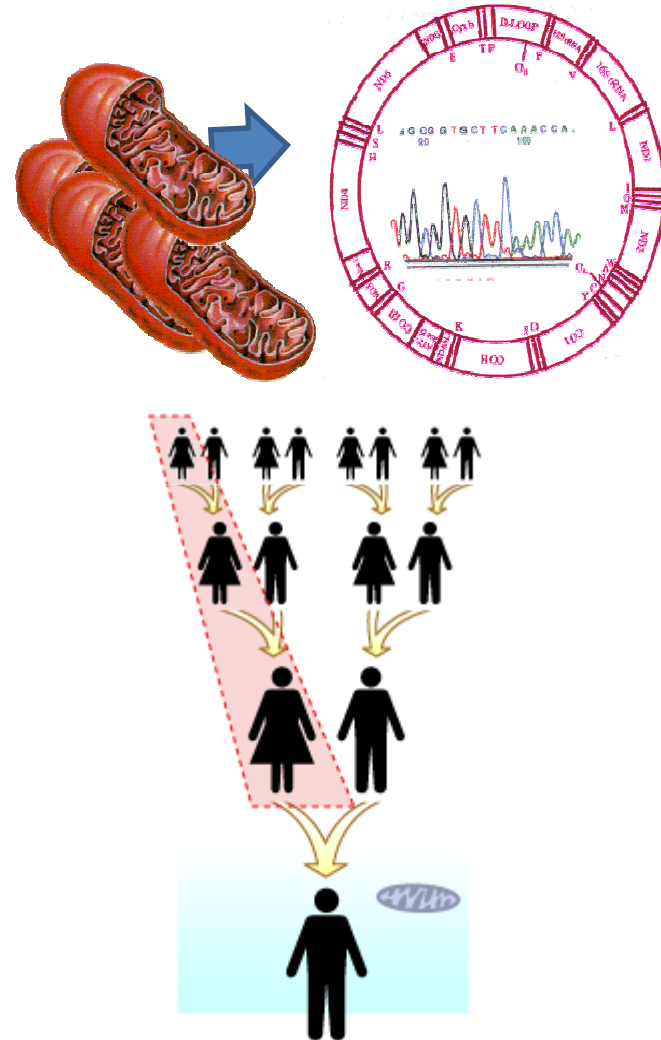
- Nahaja v jedru celice.
- Dolg 59 milijonov bp.
- Ni nujen za življenje.
- Deduje po očetu
 - prenaša z očeta na sina
 - bratje imajo enak kromosom Y
- Omogoča ugotavljanje oddaljenih sorodstvenih povezav.
- Ne omogoča individualizacije kot analiza nespolnih kromosomov.



<https://www.thermofisher.com/us/en/home/industrial/forensics/human-identification/forensic-dna-analysis/pcr-amplification-forensic-dna-profiling/y-str-analysis.html>

Mitohondrijska DNK - mtDNK

- mtDNK je bistveno manj kot jedrne DNK
- V obliki okroglega kromosoma.
- Približno 500 kopij na celico
 - jedrna DNK – nespolni kromosmi ?
- Primerna za analizo zelo razgrajene vzorce.
- Deduje po materi.
- Bratje in sestre enako mtDNK.
- Ugotavljanje oddaljenih sorodstvenih vezi.
- Ne omogoča individualizacije.





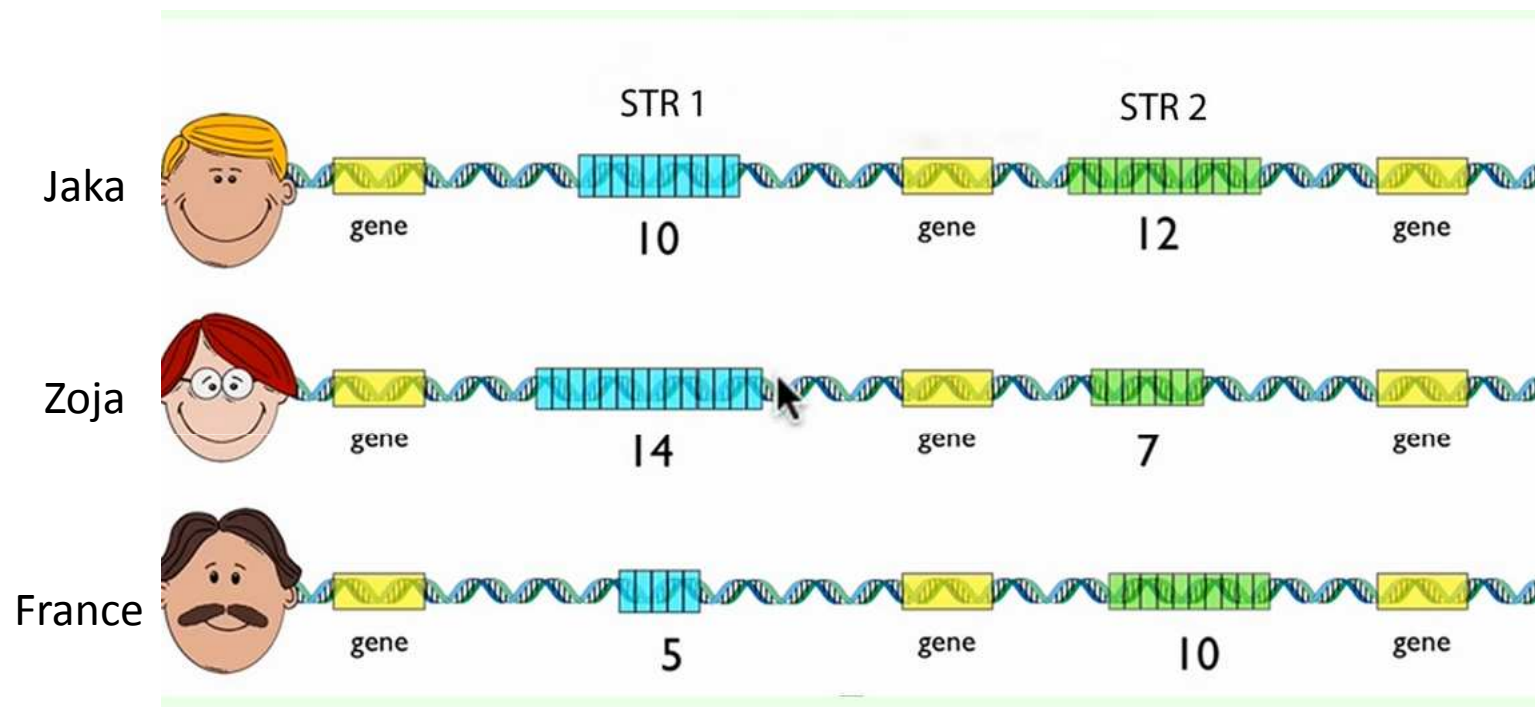
Polimorfizem DNK

- Forenzičnih genetski označevalci za ugotavljanje identitete leže v nekodogenih delih DNK – v intergenskih področjih (“junk” DNA) ali v intronih
 - lokusi STR ali HVI/HVII mtDNK
- Polimorfni in hipervariabilni
- Ločijo v dolžini ali gradniku DNK (bazi)
- Ne nosijo fizioloških značilnosti – nevtralni, nič ne povedo o posamezniku.



Lokus STR

Polimorfizem lokusov STR

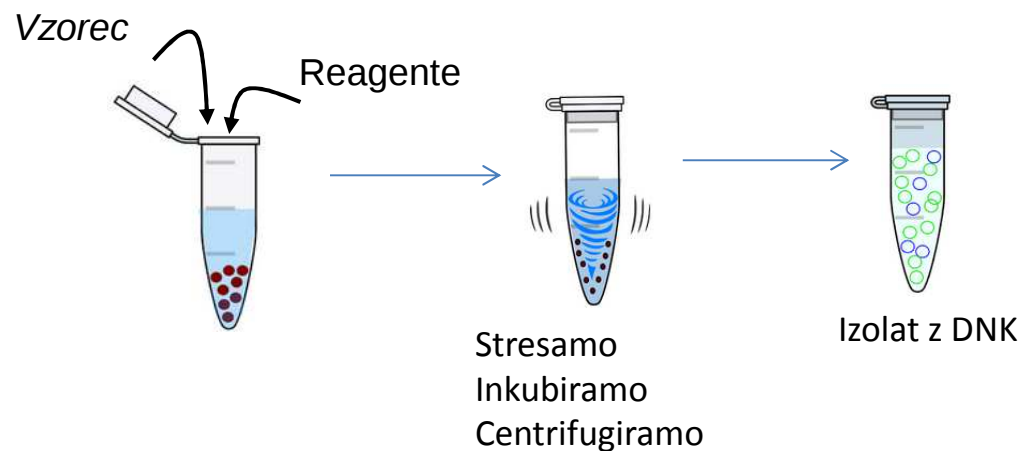


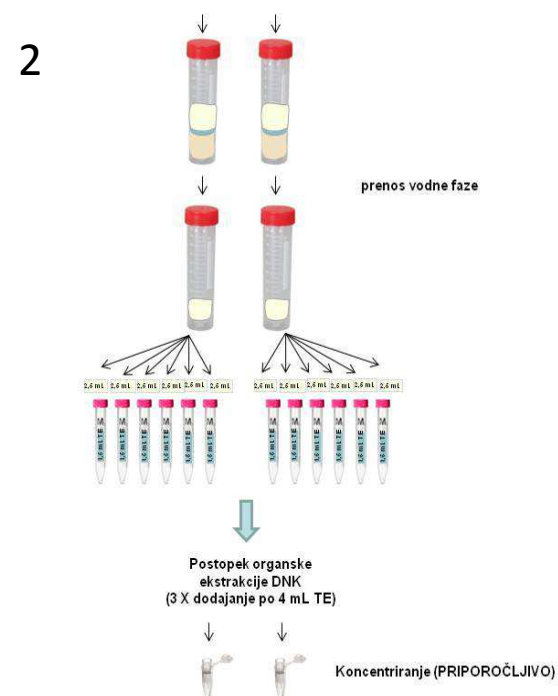
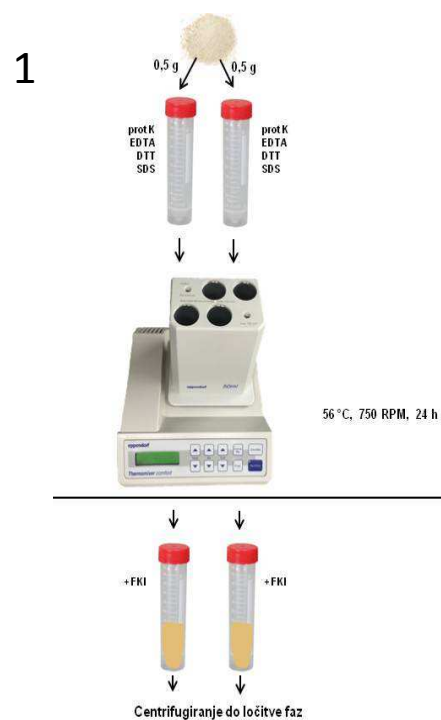
<https://sciphun.com/ross/>

- En kromosom v paru ali kromosom Y
- Večje število analiziranih lokusov STR povečuje stopnjo razločevanja → individualizacijo

Postopek analize DNK

- Izolacija DNK iz vzorcev
 - Biološka sled z osebne predmeta pogrešanega
 - Primerjalni vzorec sorodnika pogrešanega ali najdene osebe
 - Kri, tkivo, zob ali kosti iz posmrtnih ostankov

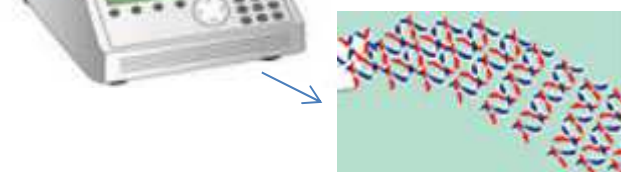




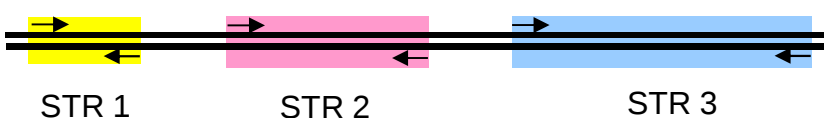
Shema izolacije DNK iz kosti zob – vir: Ž. Bogovac, NFL



Pomnoževanje
DNK



Milijon kopij

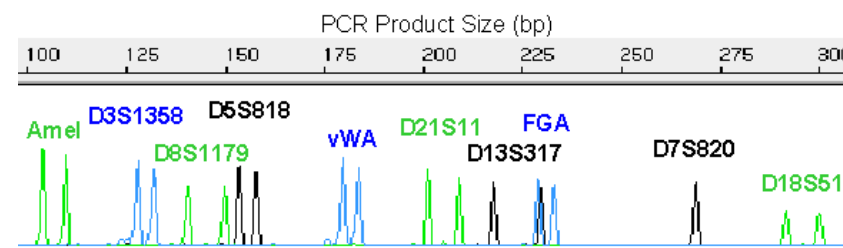
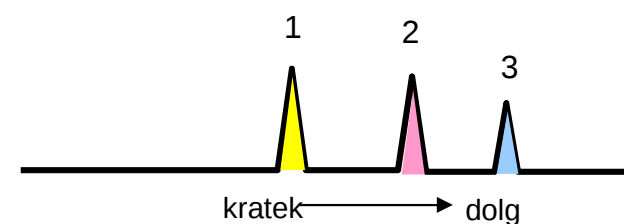


Področja DNK – lokusov (15 – 26)

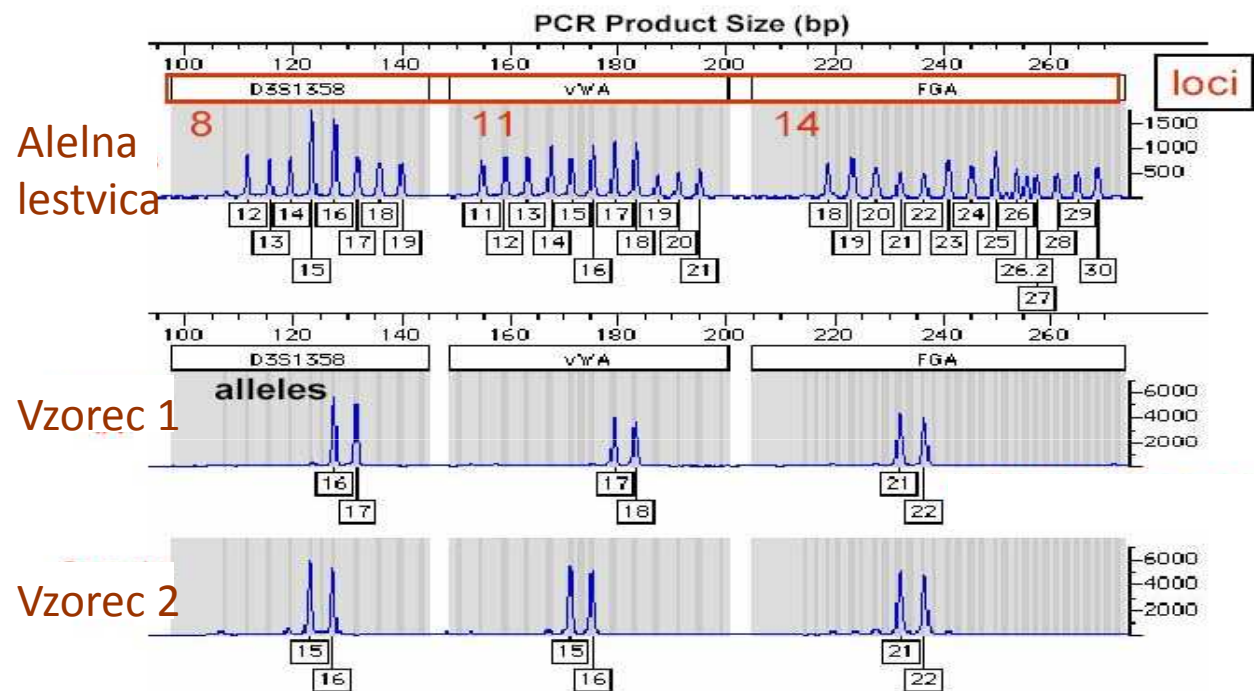
Ločevanje



Elektroforeza - ABI 3500



Elektroferogram – profil DNK

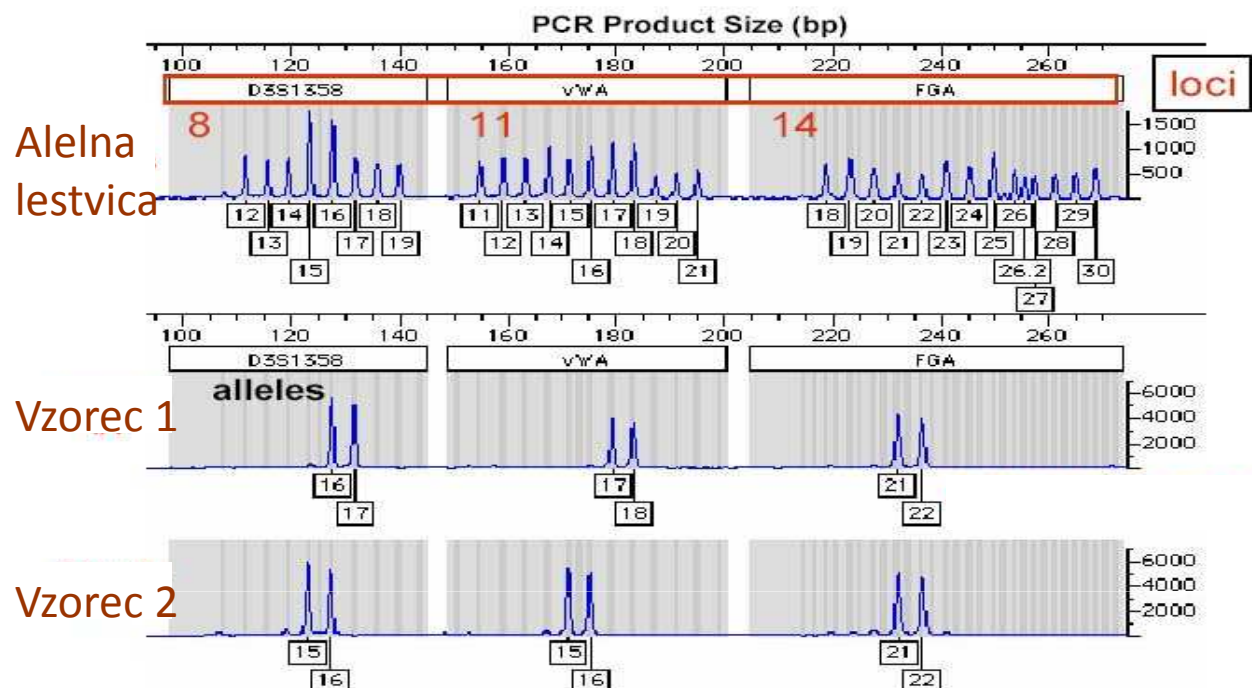


Postopek določanja profila DNK



Pogrešana oseba

- Poiskati in zavarovati osebne predmete kot “nadomestni primerjalni material” pogrešane osebe
 - ščetka, brivnik, spodnje perilo.....
 - najmanj dva predmeta
 - vzorci iz zdravniških posegov (biopsijski material)
 - v evidenci DNK kot sporni vzorec
- Primerjava z najdeno osebo (NO) ali posmrtnimi ostanki (PS) je neposredna
 - praviloma enaka profila DNK
 - omogoča višjo verjetnost dokaza DNK – individualizacijo kot pri sorodstvenem razmerju



Lokusi	D3S1358	vWA	FGA
Ščetka	16, 17	17, 18	21,22
NO ali PS	15, 16	15, 16	21,22

X

Lokusi	D3S1358	vWA	FGA
Ščetka	16, 17	17, 18	21,22
NO ali PS	16,17	17, 18	21,22

✓



Pogrešana oseba

- Oseba pogrešana dalj časa (pred analizo DNK) ali ni na voljo osebnih predmetov
- Primerjalni vzorci bližnjih sorodnikov
 - biološkima staršema, če ni obeh, vsaj enemu
 - otroku, če ga ima in očetu/mami (možu ali ženi pogrešanega)
 - sorojencem – najmanj dvema, če jih ima
 - enojajčnemu dvojčku, če ga ima
- Vzorci neprimerni pri: posvojenju in določeni umetni oploditvi
- Ni bližnjih sorodnikov – posvet z VO BIO NFL
 - Iskanje oddaljenih sorodnikov

- Primerjava pri analizi lokusov STR na nespolnih kromosomih - posredna
 - Starš/otrok
 - obligatni starševski/očetovski/materinski alel
 - izključitev brez statističnega ovrednotenja – 3 in več razlik
 - potrditev identitete oziroma verjetnost dokaza DNK statistično ocenimo
 - Ostala sorodstvena razmerja
 - statistična ocena verjetnosti dokaza DNK

		Aleš	
		28	30
Ana	29	28,29	29,30
	31	28,31	30,31
		D21S11	

- Primerjava pri analizi kromosoma Y in mtDNK - neposredna
 - Problem ne omogoča individualizacije



Lokusi	D3S1358	vWA	FGA
Slina matere	16, 17	17, 18	19, 22
Slina očeta	15, 18	19, 20	22, 25
NO ali PS	15, 16	15, 16	20, 21

X

Lokusi	D3S1358	vWA	FGA
Slina matere	16, 17	17, 18	21, 22
Slina očeta	17, 17	15, 19	20, 24
NO ali PS	16, 17	17, 19	21, 24

✓

V nadaljevanju sorodnost statistično ocenimo

Lokusi	D3S1358	vWA	FGA
Slina brata XY	16, 17	17, 15	21, 24
Slina sestre XX	17, 17	18, 19	20, 22
NO ali PS	16, 17	17, 19	21, 24

Sorodnost
ugotavljamo le s
statistično oceno

$$RI(LR) = \frac{\Pr(DNK/truplo \text{ je brat osebe } XY \text{ in } XX = H_0)}{\Pr(DNK/truplo \text{ ni v sorodu z osebo } XY \text{ in } XX = H_A)}$$

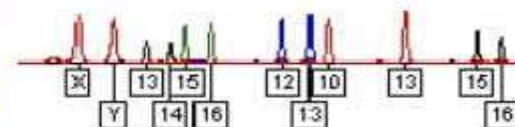


Potrditev identitete pogrešane osebe



December 14, 2003

“We got him!”



DNA Profile



Saddam Hussein's
capture verified with
DNA testing

Source: www.cnn.com; *The Scientist* Dec 19, 2003



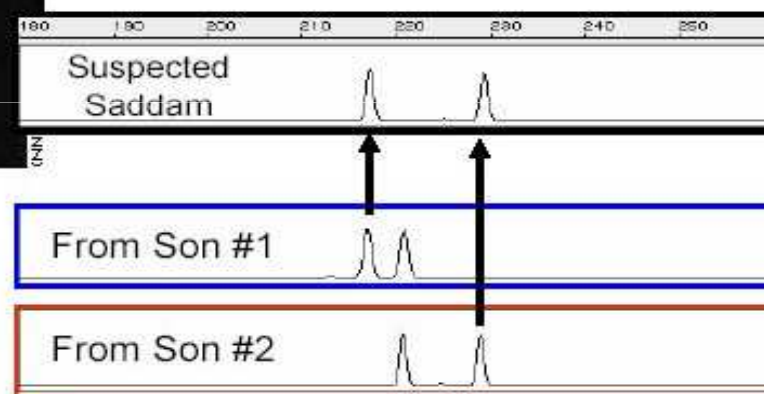
“A Forensic Paternity Test”

Captured December 13, 2003



Y-chromosome tests were also used to verify male lineage...

Portion of DNA Profile



Killed
July 22, 2003



**DNA Used as the Ultimate Biometric
for Confirming Saddam's Identity**

Source: www.cnn.com Uday and Qusay Hussein

Identiteta S.Huseina potrjena na osnovi primerjalnih vzorcev ubitih sinov



Evidenca preiskav DNK

- Zakon o nalogah in pooblastilih policije iz 2013 uvedel nove evidence:
 - Evidenca DNK vsebuje
 - Profili DNK – bioloških sledi pogrešanih
 - Profili DNK – sorodnikov pogrešanih
 - Profili DNK – neidentificiranih trupel
 - Skrbnik evidence DNK je NFL
 - Evidenco DNK trenutno vsebuje:
 - 22 profilov neznanih trupel
 - 149 profilov sorodnikov
 - V letu 2016 ugotovili identiteto > 10 truplom
 - Uvedli nov algoritem išče sorodstvene povezane starš/otrok (avgust 2016)
 - Evidenca postala sodobna in učinkovitejša



Mednarodna izmenjava

- Velik uspeh pri povečanju izmenjave s tujimi državami je ratifikacija Prümske pogodbe
 - V veljavo stopila 7. 8. 2007
 - Do sedaj en primer – ugotavljanje identitete NN trupla najdenega v Ljubljani konec leta 2015 – domnevno avstrijski državljan – po analizi DNK identiteta potrjena v roku 24 ur
 - odlično sodelovanje UIT GPU z avstrijskimi kolegi ter NFL in UIT
- Policija članica Interpola in Europol
 - v preverjanje prejmemo
 - Več 100 profilov na leto
 - Nobene identitete še nismo potrdili
 - Problem tudi v evidenci DNK – ni bilo algoritma za iskanje po sorodnikih – trenutno le starš/otrok, ne pa drugih
 - prejmemo tudi vzorce sorodnikov pogrešanih iz tujine za namene ugotavljanja identiteta posmrtnih ostankov tujega državljana v Sloveniji



Hvala za pozornost !

