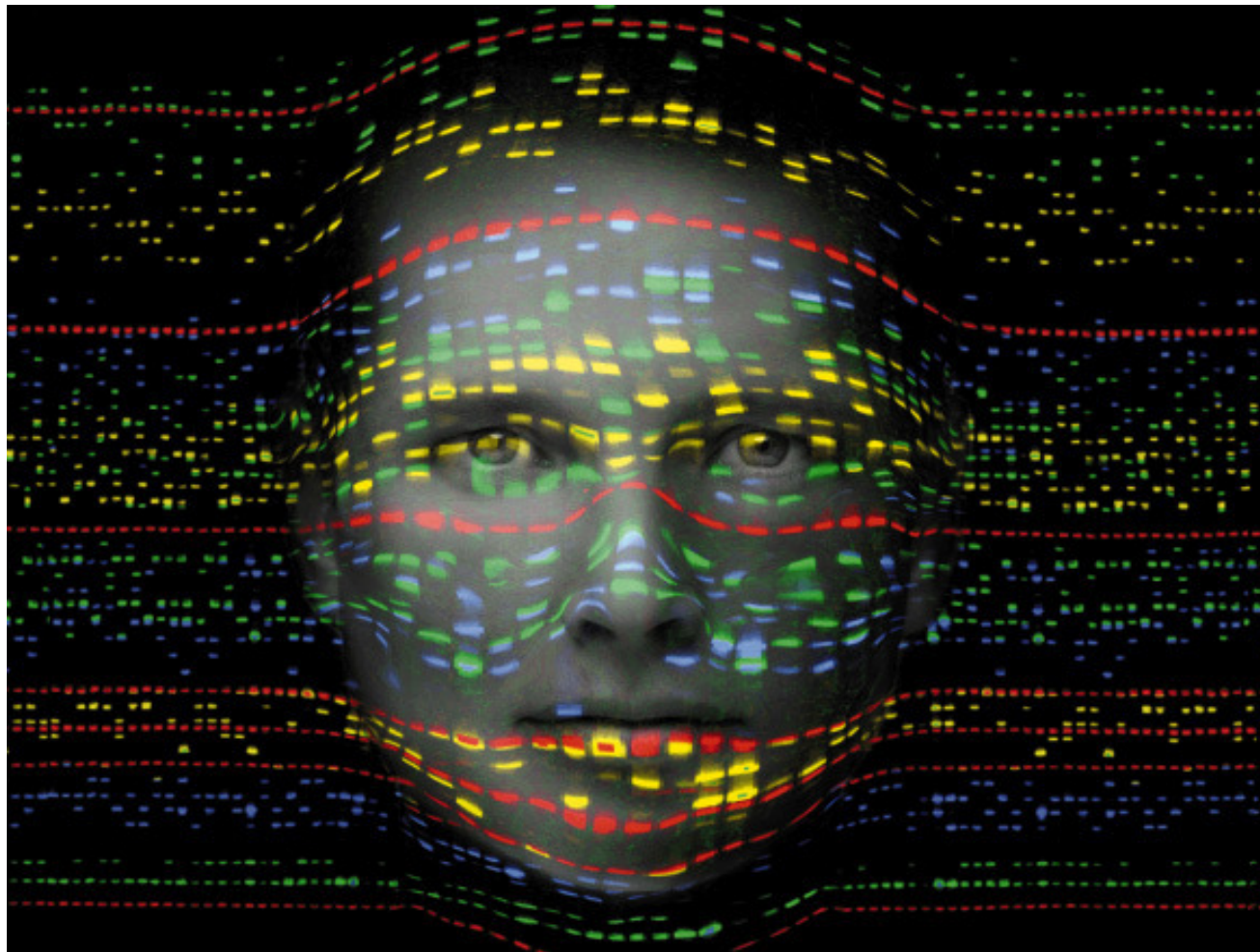


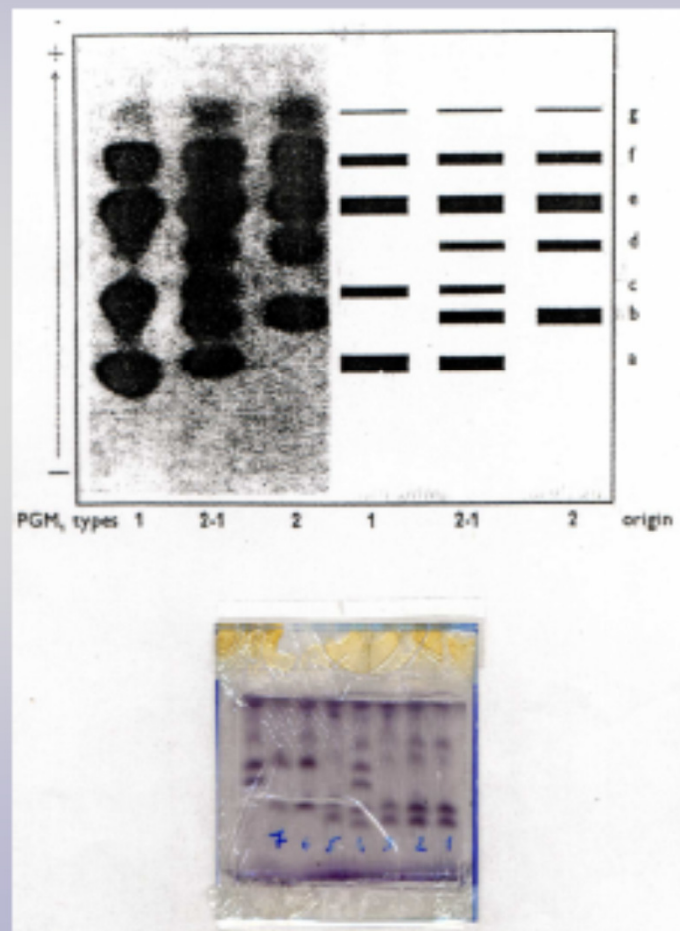
GENETIKA ÉS POPULÁCIÓGENETIKA

Genetikai polimorfizmusok II - Igazságügyi Genetika



ELTE TTK Genetikai Tanszék

Molekuláris polimorfizmusok



konformációs

és

konfigurációs

különbségek

DNS polimorfizmusok, lokalizáció

■ Sejtmagi DNS

■ Autoszómák

- Repetitive markerek (VNTR's, STR's)
- Single nucleotide polymorphisms (SNP's)

■ Ivari kromoszómák

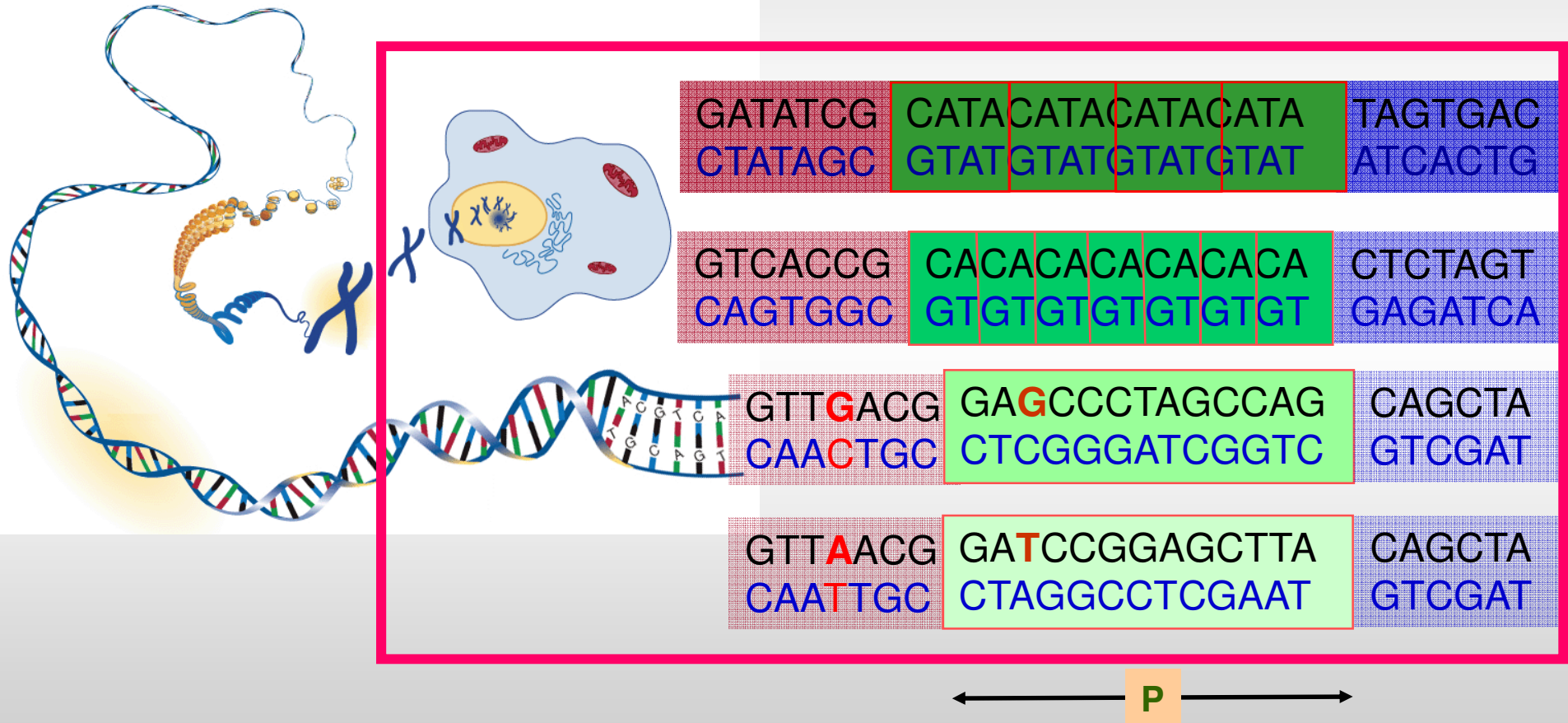
- Repetitive markerek (VNTR's, STR's)
- Single nucleotide polymorphisms (SNP's)

■ Mitokondriális DNS

- Cytochrome (b)
- Kontroll régió (HVI, HVII, CR)
- SNP's

DNS polimorfizmusok

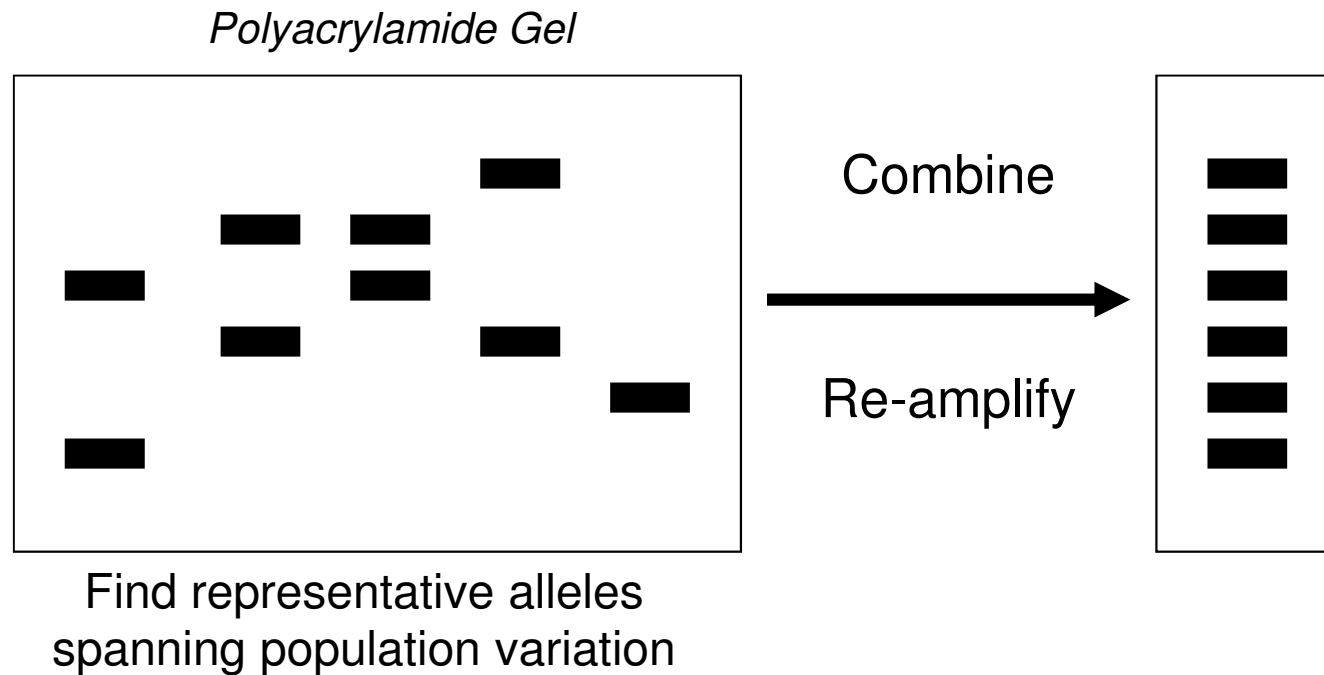
polimorfizmus - célrégió a PCR vizsgálatokban



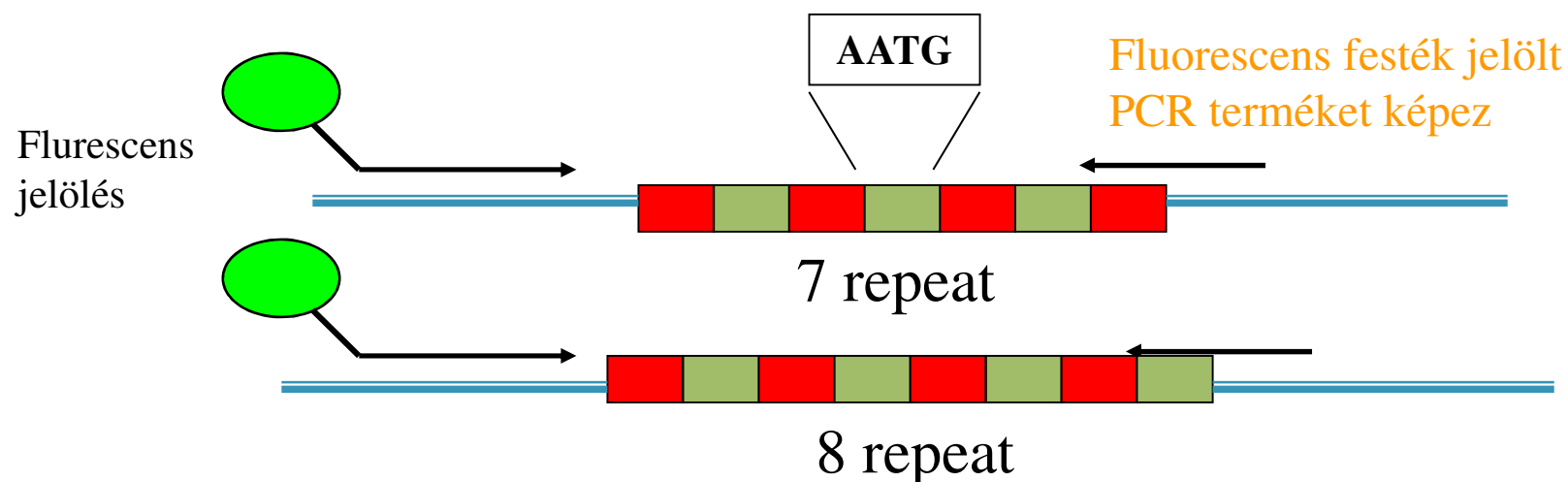
P : polimorf célszakasz (marker, lokusz, allél)

STR allélek genotipizálása: multiallélek

Separate PCR products from various samples amplified with primers targeted to a particular STR locus



Mikroszatellita - STR - markerek (Short Tandem Repeat)



a repeat régió variábilis az egyes minták között míg a flanking régió ahol a PCR primerek tapadnak állandó

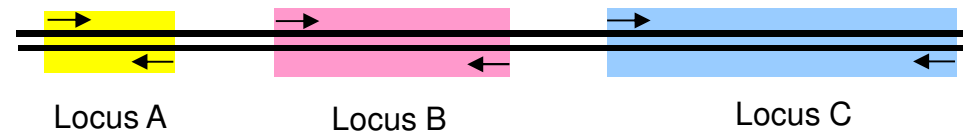
Homozigóta = a két allél megegyezik

Heterozigóta = allélek különbözők és egymástól elválaszthatók

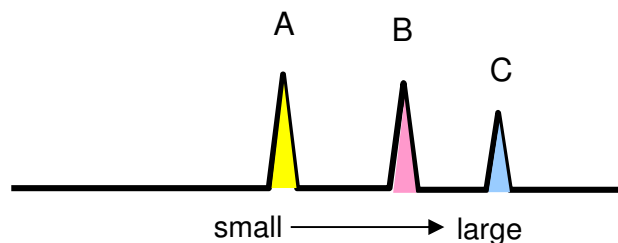
A primerek kötési helye meghatározza a PCR termék méretét!

Multiplex - PCR

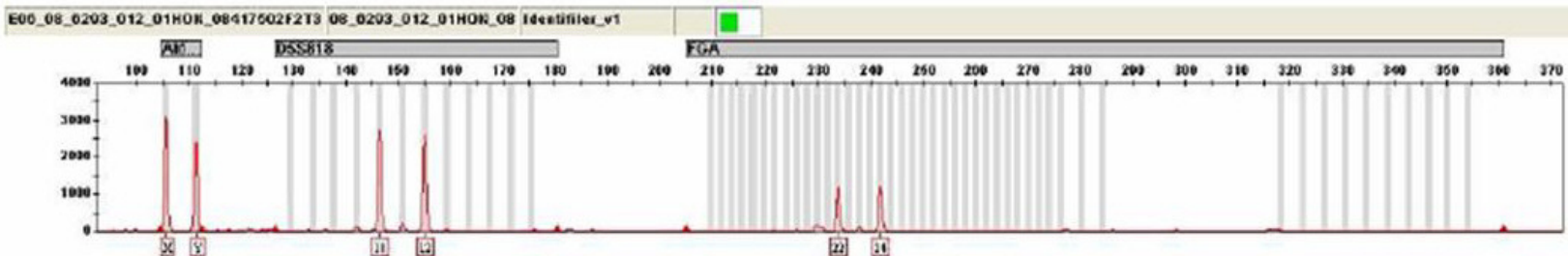
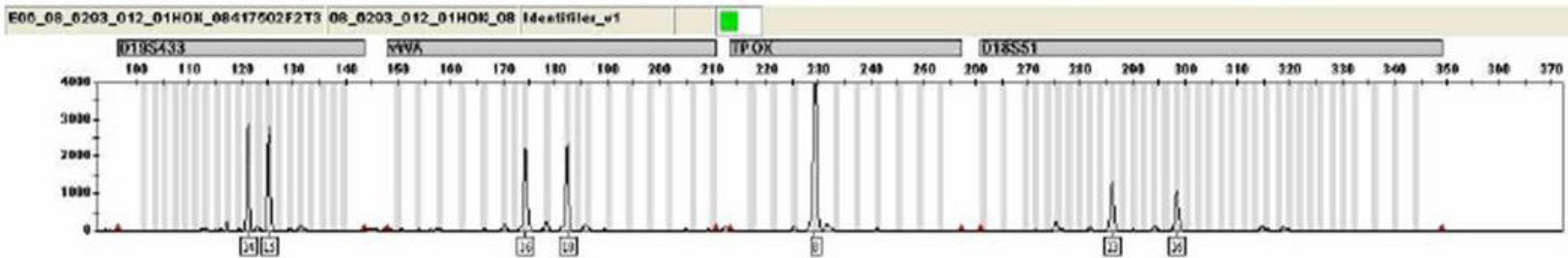
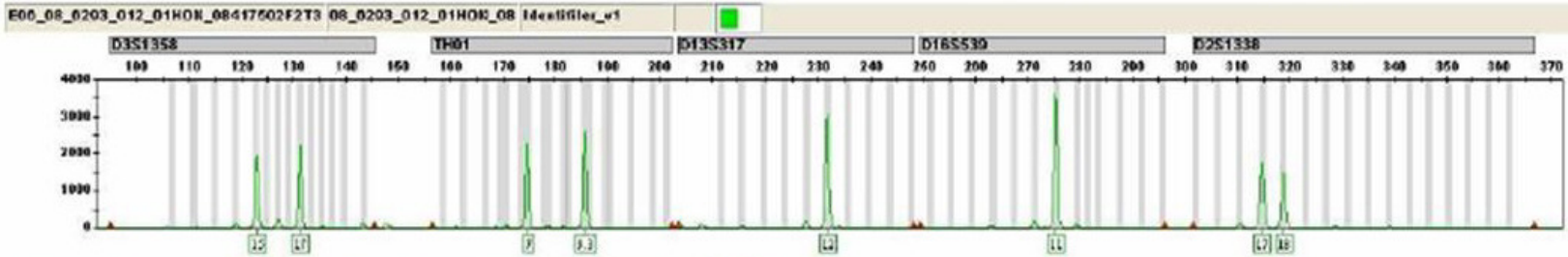
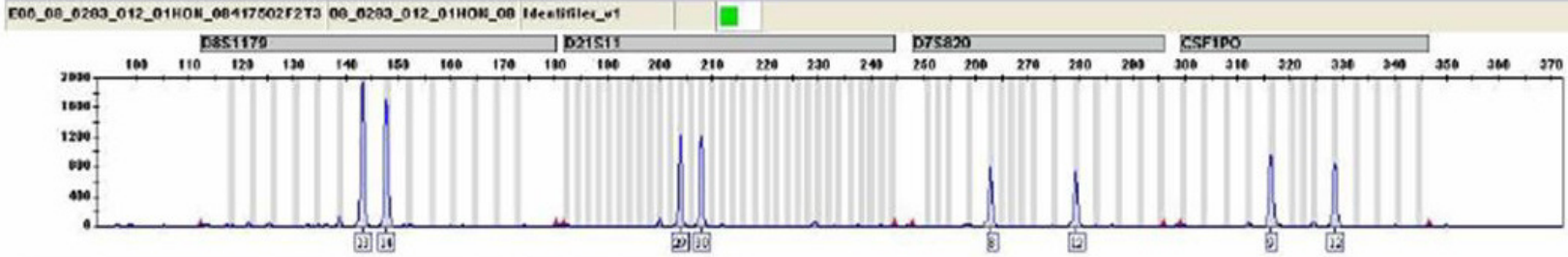
(A) Három lokusz szimultán amplifikálása egy reakcióban



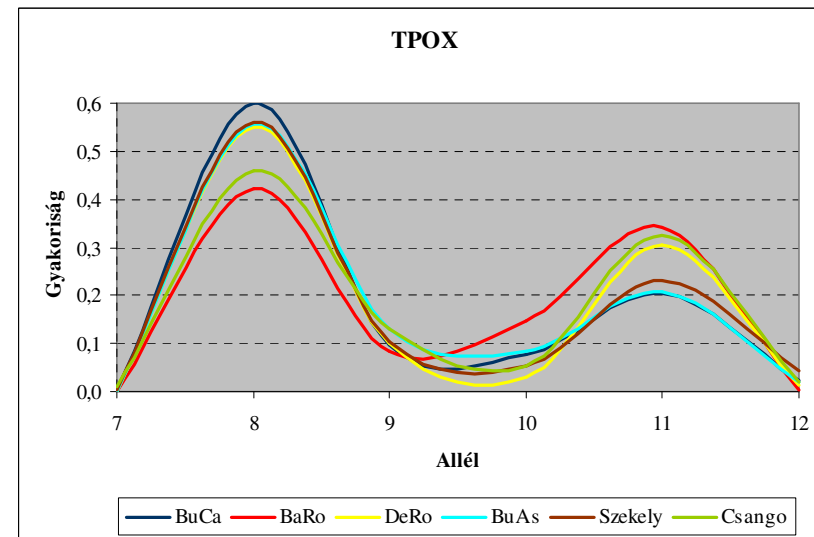
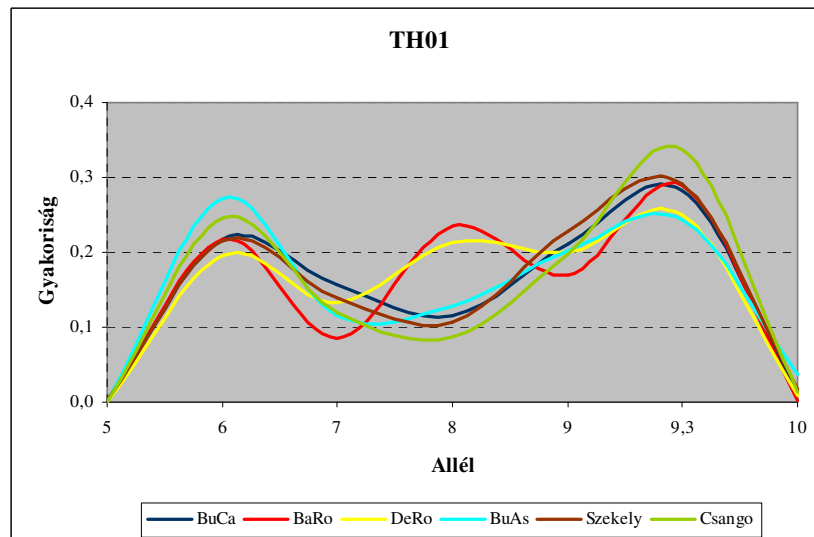
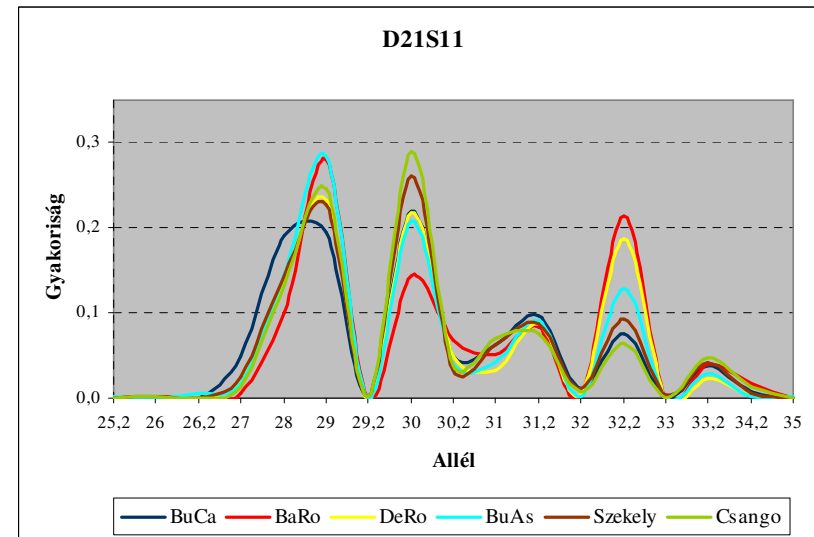
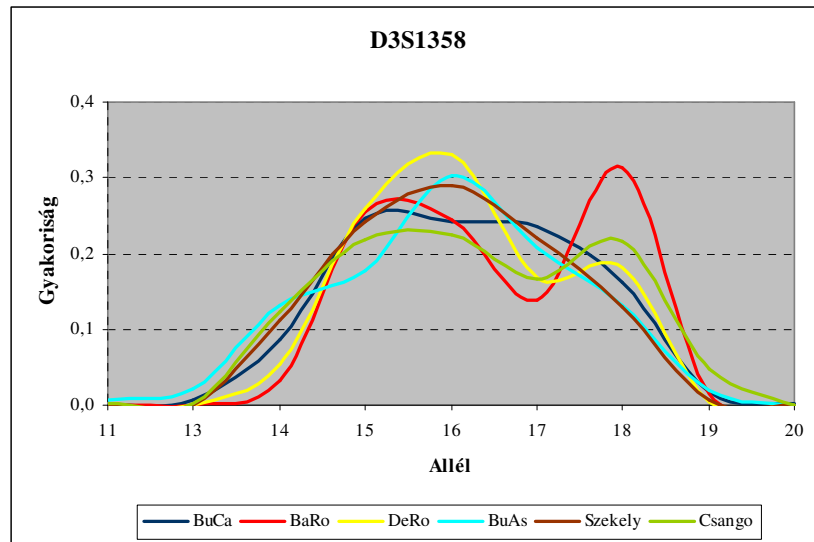
(B) PCR termékek elválasztása fragmens méret alapján



15 autoszómás lókuszt ...

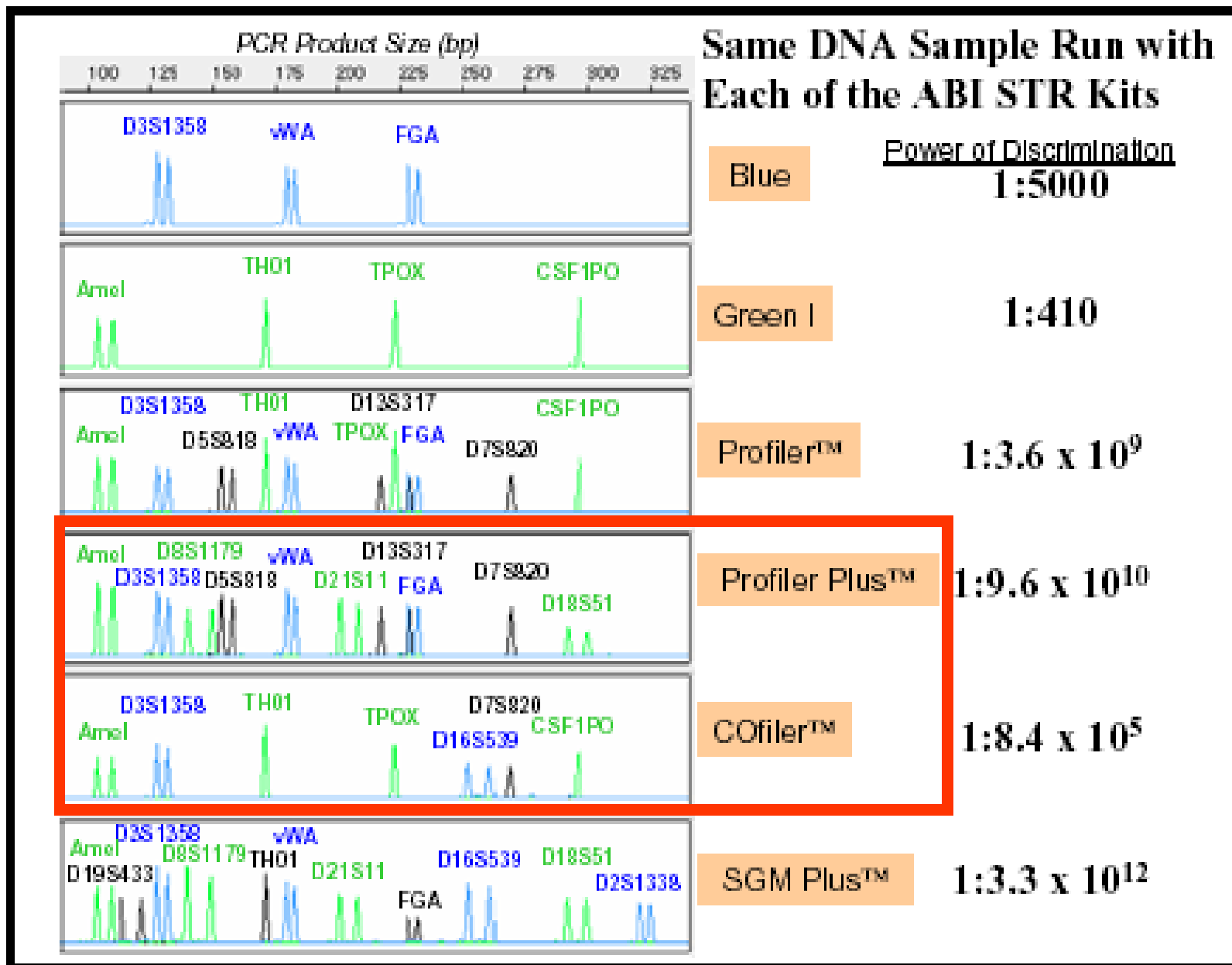


Mikroszatellita allélgyakoriság diagramok



Genotípus gyakoriságok statisztikai interpretálása

- **Allél-gyakorisági adatok** generálása a vizsgált populációban gyűjtött minták sorozatából (általában 100-200 nem rokon egyed / populáció autoszóma STR lókuszok esetén)
- **Allél-gyakorisági értékek meghatározása** minden lókuszon és az összes megfigyelt allélra
- Allél-gyakorisági értékek felhasználásával **a kérdéses DNS-profil előfordulási gyakoriságának kiszámolása**
 - Homozigóta (p^2), Heterozigóta ($2pq$)
 - Product rule: független lókuszok genotípus gyakoriságának multiplikálhatósága $PM = (P1)(P2)\dots(Pn)$



Bayes-féle hipotézis tesztelés

■ Vád hipotézise (H_p):

- Pl.: A helyszínen talált vércsoma XY-tól származott

■ Védelem ellenhipotézise (H_d):

- Pl.: A vércsoma az adott népességből véletlenszerűen kiválasztott másik, NN személytől származott

■ Bayes-formula (valószínűségi tesztelés)

$$\frac{\Pr(H_p|I)}{\Pr(H_d|I)} \times \frac{\Pr(E|H_p, I)}{\Pr(E|H_d, I)} = \frac{\Pr(H_p|E, I)}{\Pr(H_d|E, I)}$$

a priori
valószínűségi
hányados
(PrPR)

valószínűségi
hányados
(genetikai bizonyíték)
a posteriori
valószínűségi
hányados
(PoPR)

Pr: valószínűség

E: bizonyíték

I: információ

H: hipotézis

p: ügyész

d: ügyvéd

A valószínűségi hányados

- Ha a biológiai nyom egy személytől származott, és a laboratóriumi hiba kizárt, $\Pr(E | H_p, I) = 1$.

$$LR = \frac{\Pr(E | H_p, I)}{\Pr(E | H_d, I)} = \frac{1}{\Pr(G_c | G_s, H_d, I)} \approx \frac{1}{\Pr(G_c | H_d, I)}$$

Egyezési valószínűség

Profilgyakoriság

Pr: valószínűség

E: bizonyíték

G: genetikai profil

I: információ

H: hipotézis

p: ügyész

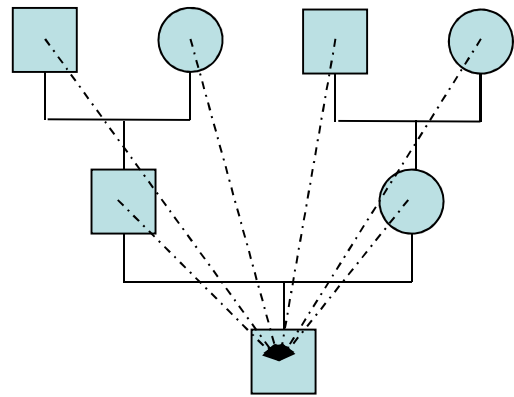
d: ügyvéd

c: helyszín

s: gyanúsított

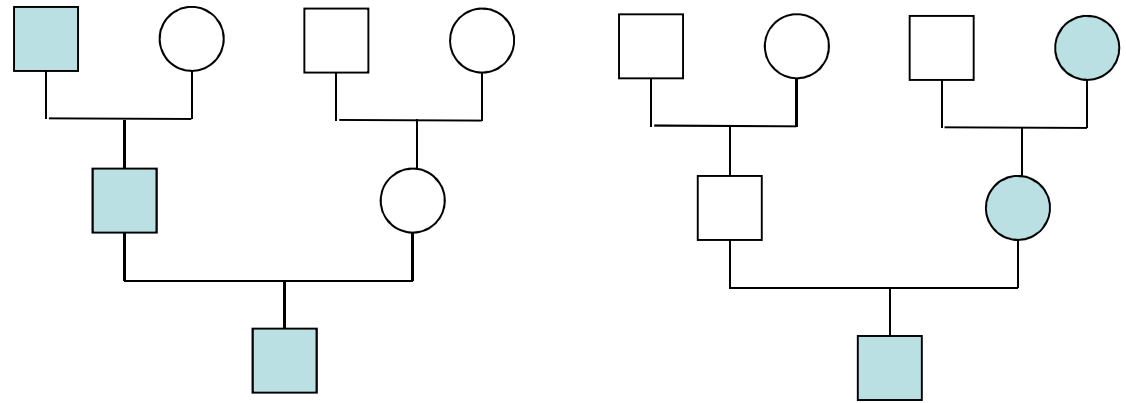
- A valószínűségi hányados – legegyszerűbb formájában – a genetikai-profil előfordulási gyakoriságának reciprokával egyezik meg.

Eltérő öröklődési mintázatok



Autoszómás marker
(az összes felmenőntől örököljük részletekben)

Leszármazási markerek



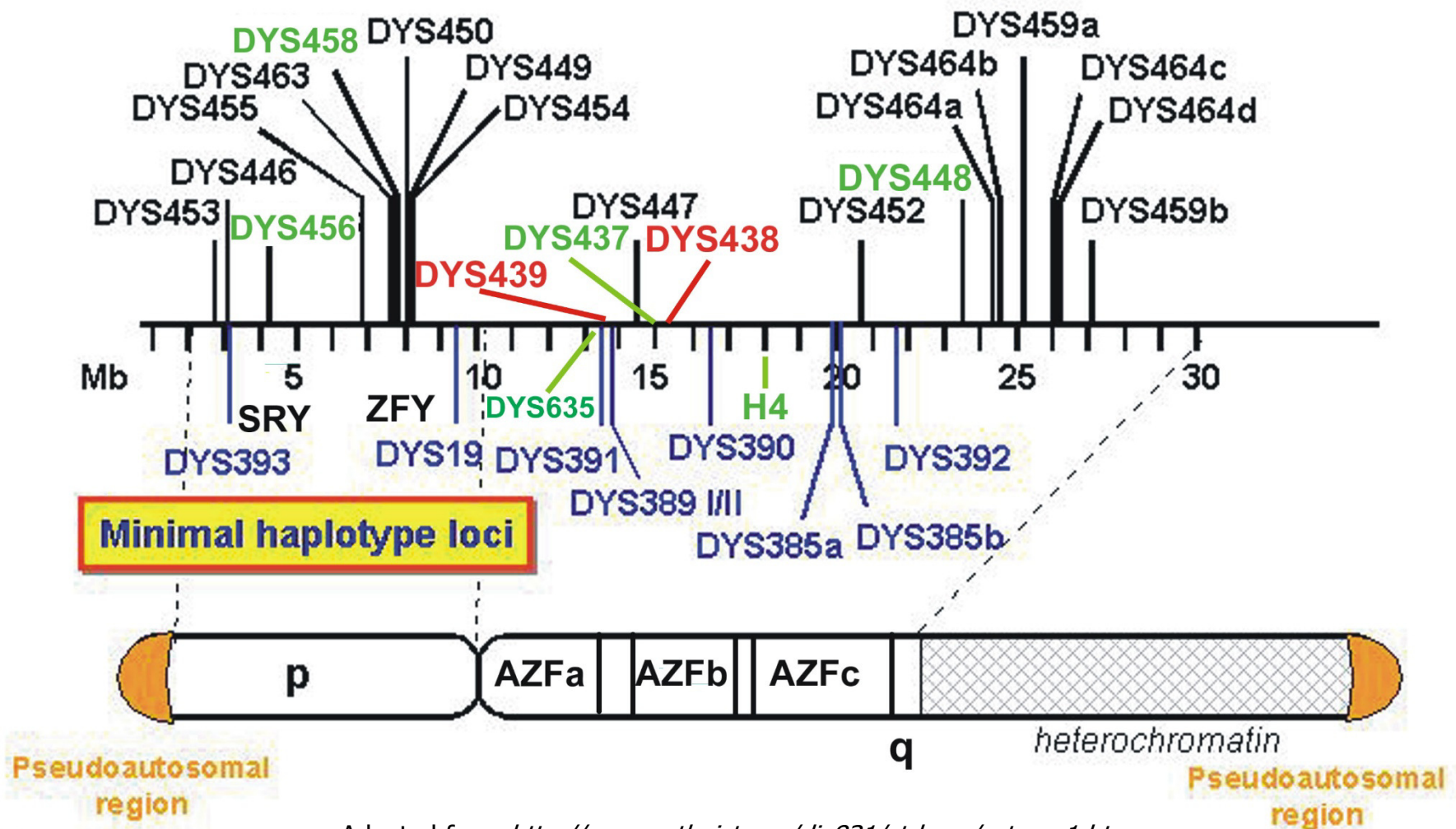
Y-kromoszóma
(csak a fiú gyermekek öröklik apjuktól)

Mitokondriális DNS
(minden gyermek az édesanyjától örökli)

Y STR Positions along Y Chromosome

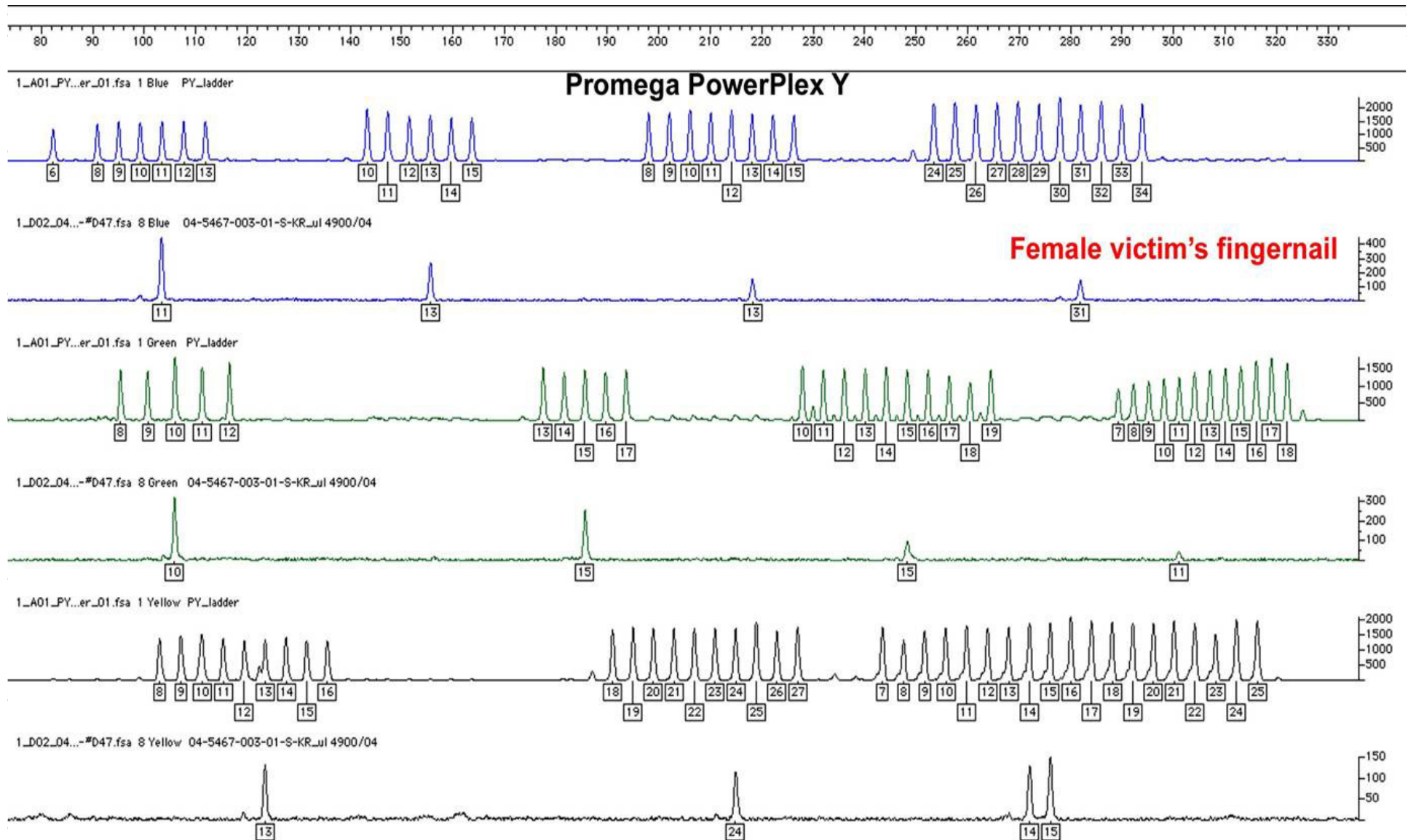
Extended **haplotype loci**

ABI AmpF/STR **Yfiler loci**



Adapted from <http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/ystrpos1.htm>

Y kromoszómás vizsgálat bűnügyi mintákon



YHRD.ORG3.0



R39: 101055 haplotypes

Search

Haplotypes

SNPs

Populations

Contributors

Contributions

Analyse

Research

Contribute

Meet

DYS19

16

DYS389I

13

DYS389II

31

DYS390

25

DYS391

12

DYS392

11

DYS393

13

DYS385

14.16

National database

Metapopulations

SNP

Search

Whole database

DYS438

10

DYS439

13

DYS437

15

DYS448

20

DYS456

15

DYS458

18

DYS635

23

YGATAH4

11

Please note: The database size will vary based on the loci you have entered.

- 7 loci haplotype (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393): **101055 haplotypes**
- 9 loci haplotype (+ DYS385a/b): **99258 haplotypes**
- 11 loci haplotype (+ DYS438, DYS439): **72171 haplotypes**
- 12 loci haplotype (+ DYS437): **52628 haplotypes**
- 17 loci haplotype (+ DYS448, DYS456, DYS458, DYS635, YGATAH4): **40987 haplotypes**

Y-SNPs:

- 124 Y-SNP branches (defined by 134 Y-SNP markers)
- 9039 haplotypes with Y-SNP information



YHRD by Sascha Willuweit & Lutz Roewer is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 3.0 Unported License.

Supported by



Endorsed by



R39: 101055 haplotypes

Contributors
Contributions

Analyse

Research

Contribute

Meet

DYS19	DYS359I	DYS359II	DYS390	DYS391	DYS392	DYS393	DYS385
16	13	31	25	12	11	13	14.16
DYS435	DYS439	DYS437	DYS445	DYS456	DYS455	DYS635	YGATAH4
10	13	15	20	15	18	23	11

National database | Metapopulations | SNP

Whole database

Search Reset

Matches grouped by Metapopulations

Matches grouped by Continents

Matches grouped by Haplogroups

Frequency surveying estimates

African - Afro-American

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 3.366×10^{-4} , Mode: 2.843×10^{-4}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 3.889×10^{-4} , Mode: 3.366×10^{-4}

Afro-Asiatic - Semitic

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 4.267×10^{-4} , Mode: 4.064×10^{-4}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 4.47×10^{-4} , Mode: 4.267×10^{-4}

East Asian - Japanese

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 5.41×10^{-4} , Mode: 4.677×10^{-4}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 6.143×10^{-4} , Mode: 5.41×10^{-4}

East Asian - Korean

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 1.786×10^{-4} , Mode: 1.395×10^{-4}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 2.177×10^{-4} , Mode: 1.786×10^{-4}

East Asian - Sino-Tibetan - Chinese

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 6.028×10^{-5} , Mode: 3.951×10^{-5}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 8.104×10^{-5} , Mode: 6.028×10^{-5}

Eurasian - Altaic

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 5.634×10^{-4} , Mode: 4.953×10^{-4}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 6.315×10^{-4} , Mode: 5.634×10^{-4}

Eurasian - European - Eastern European

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 7.657×10^{-5} , Mode: 3.381×10^{-5}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 1.193×10^{-4} , Mode: 7.658×10^{-5}

Eurasian - European - South-Eastern European

Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 3.772×10^{-4} , Mode: 2.878×10^{-4}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 4.667×10^{-4} , Mode: 3.772×10^{-4}

Eurasian - European - Western European

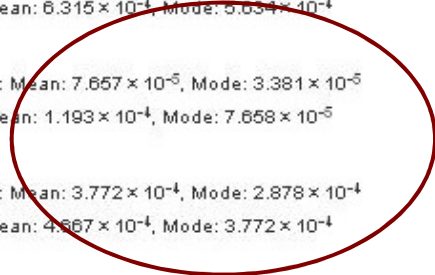
Frequency estimates with given haplotype not included in the database: Mean: 2.693×10^{-5} , Mode: 1.444×10^{-5}

Frequency estimates with given haplotype included in the database: Mean: 3.941×10^{-5} , Mode: 2.693×10^{-5}

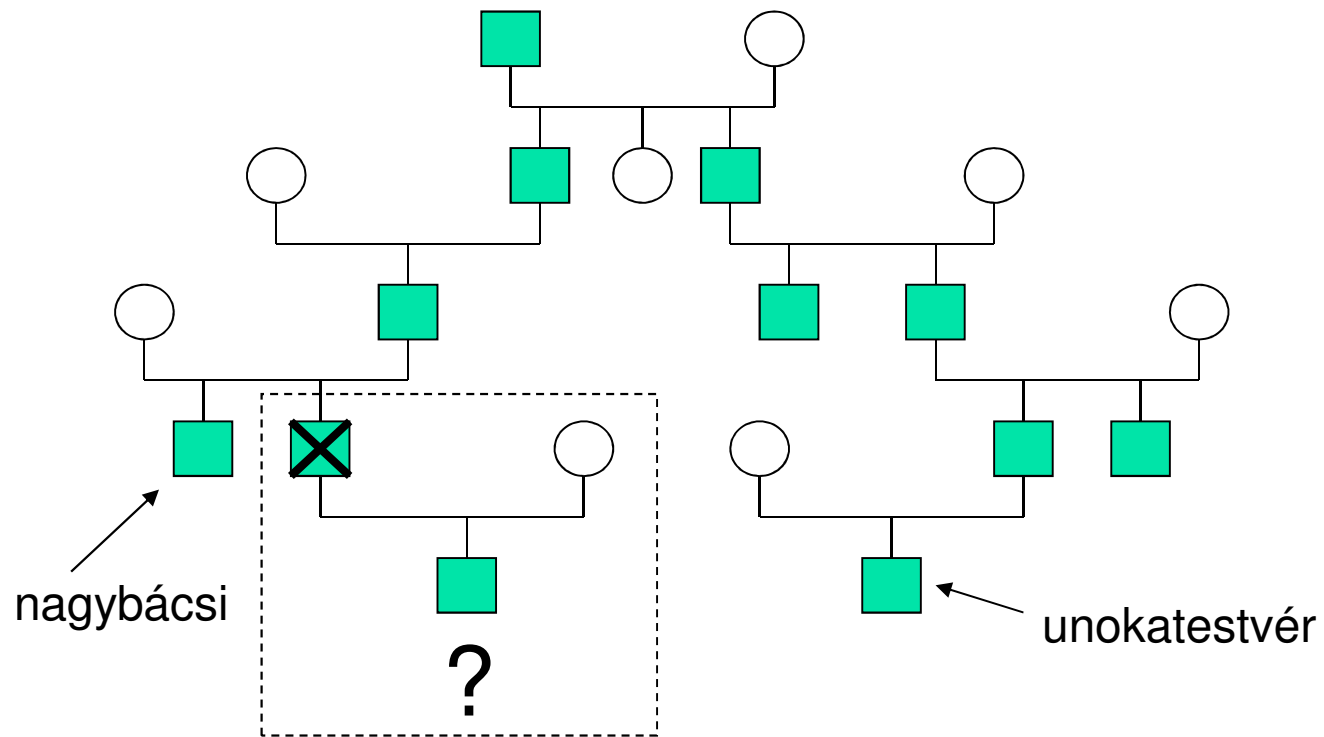
Counting Method

95% confidence interval

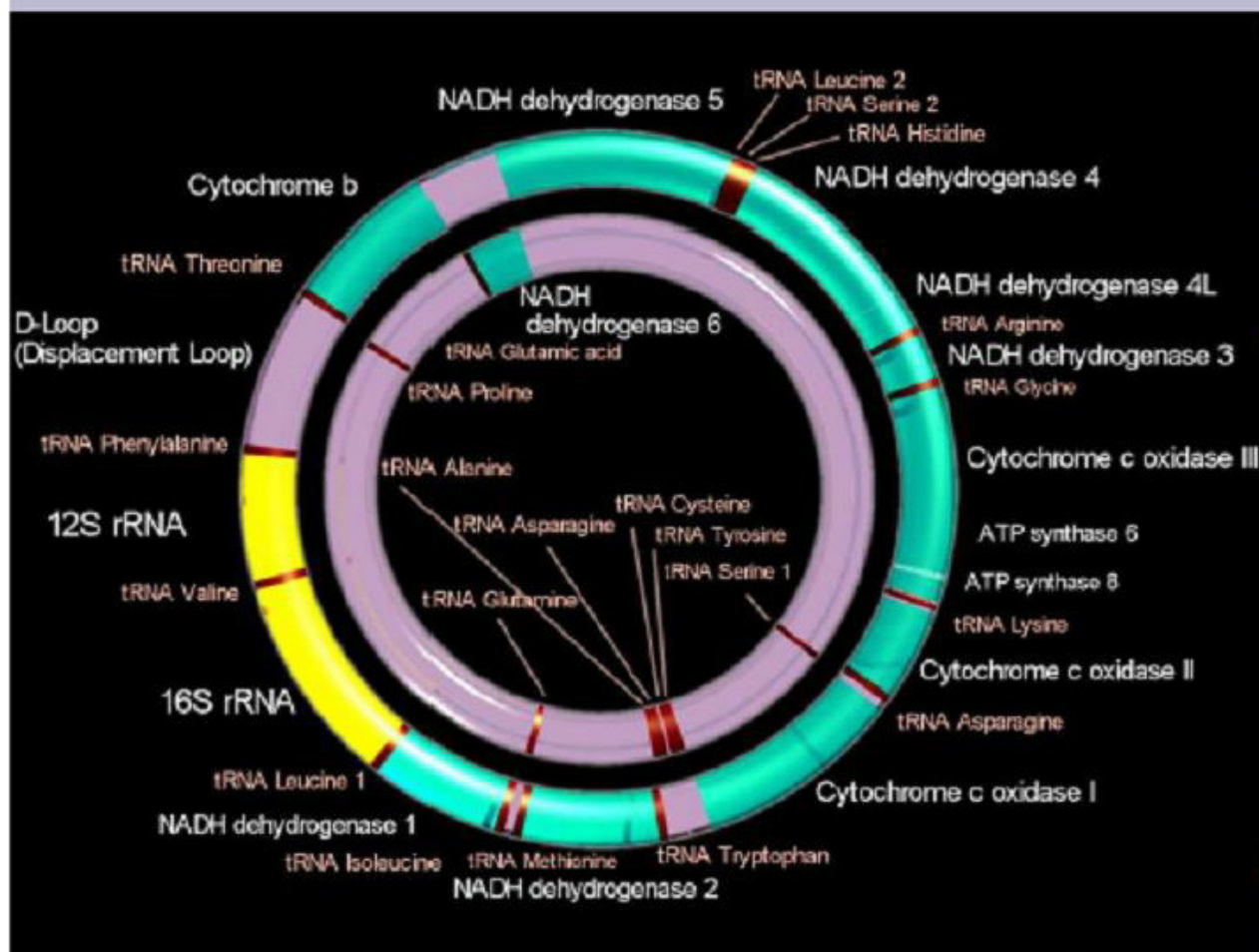
$$1 - (0.05)^{1/N} \approx 3/N$$



Y kromoszóma vizsgálat során a férfi ági fiú rokonok mindegyike potenciális mintaadó



A mitokondriális genom



■ kódoló régió: 37 gén

- 2 rRNA
- 22 tRNA
- 13 polipeptid (belső membrán)

■ 13 polipeptid

- a mitokondriális NADH dehidrogenáz 7 alegysége
- cytochrome c 3 alegysége
- ATP szintáz 2 alegysége
- cytochrome b

■ nukleáris gének által kódolt proteinek

- cytochrome c, RNS és DNS polimerázok a citoszolból

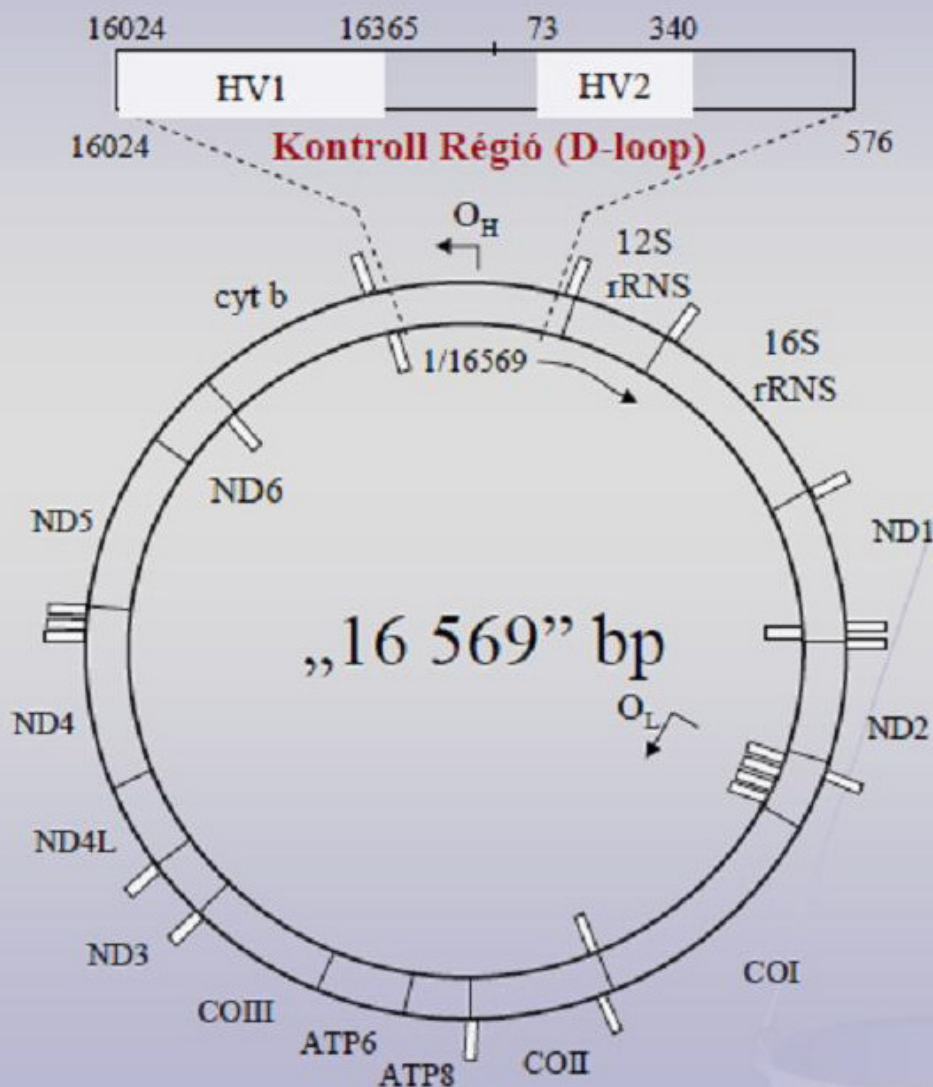
■ haplotípusok szekvenciális variációja

- betegségek, fenotípusos expresszió
- genetikai drift
 - faj azonosítása
 - filogenetikai vizsgálatok

■ kisebb mutációs ráta

- szinonim mutációk

A kontroll régió

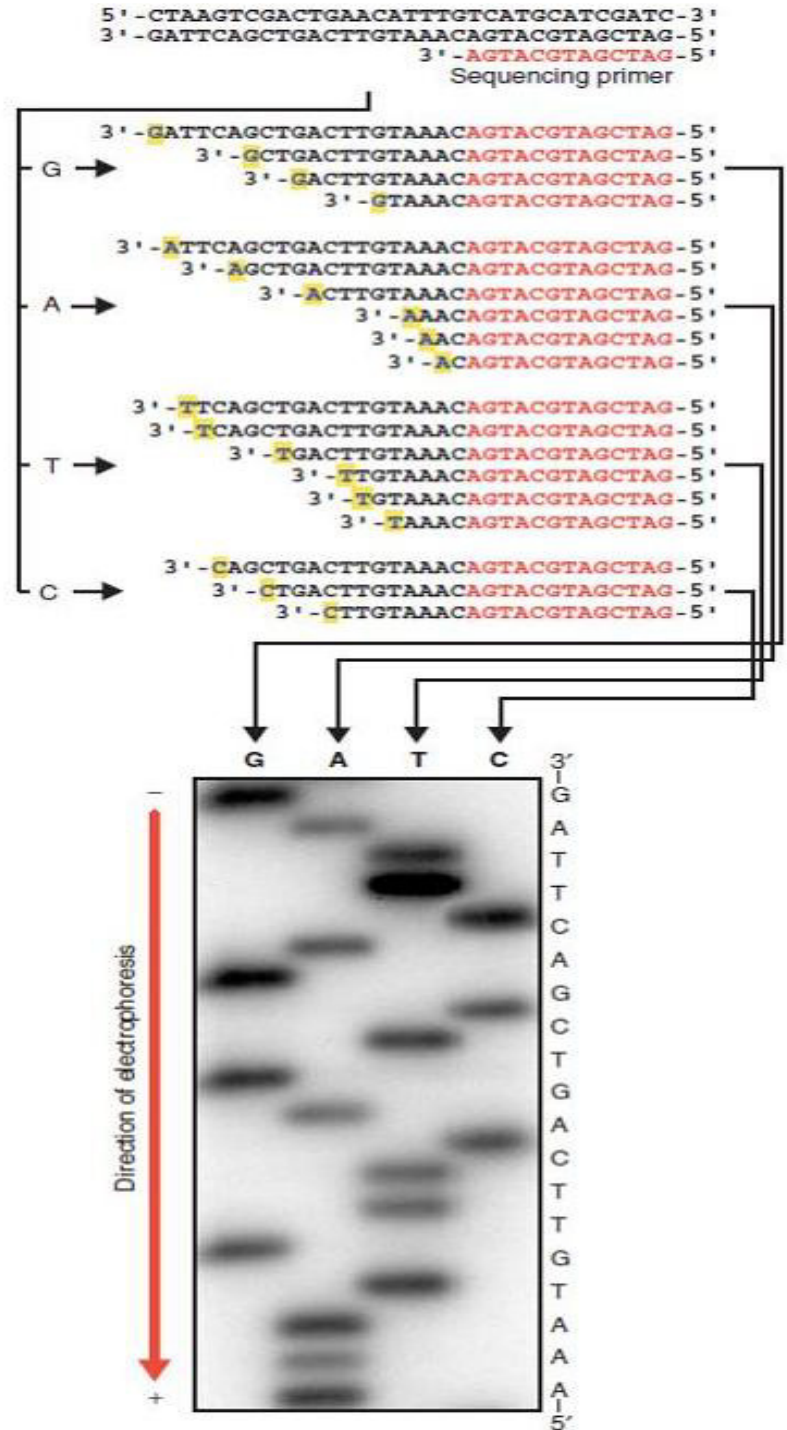


■ Kontroll Régió (CR) – D(isplacement)-loop

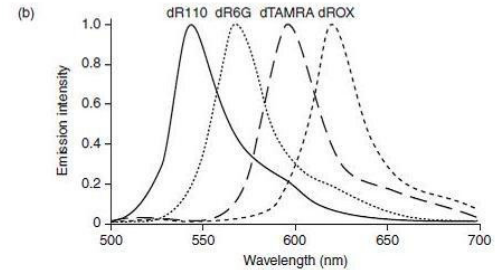
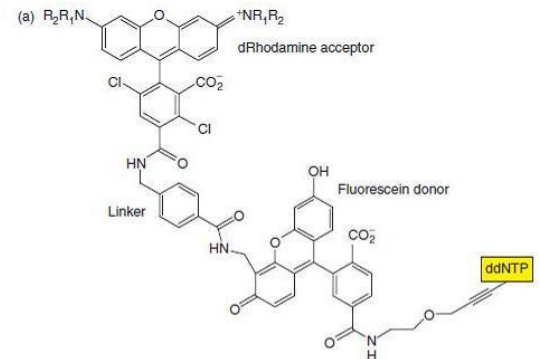
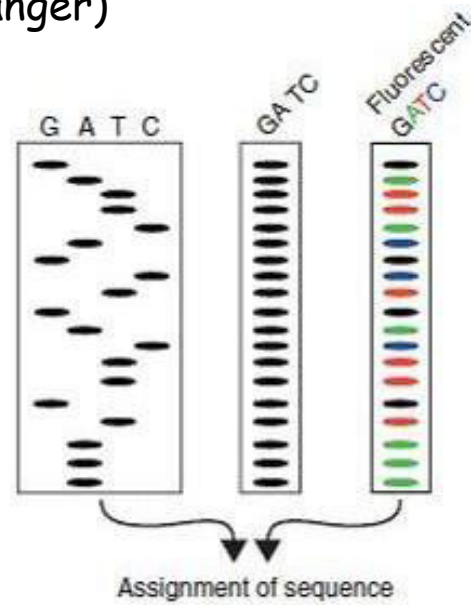
- ~1120 bp
- replikációs origó
- hipervariábilis szakaszok
 - HV1, HV2 és HV3
- alacsony szelekciós nyomás
- a variációk forrása csak mutáció

■ Szekvencia-adatbázisok

- EMPOP



DNS szekvenálás láncterminálással (Sanger)



D-loop: anyai leszármazási vonal genetikai azonosítása

A vizsgált minták mtDNS szekvenciáját a referenciaként használt rCRS-hez illesztjük (pl., 16071-16140)

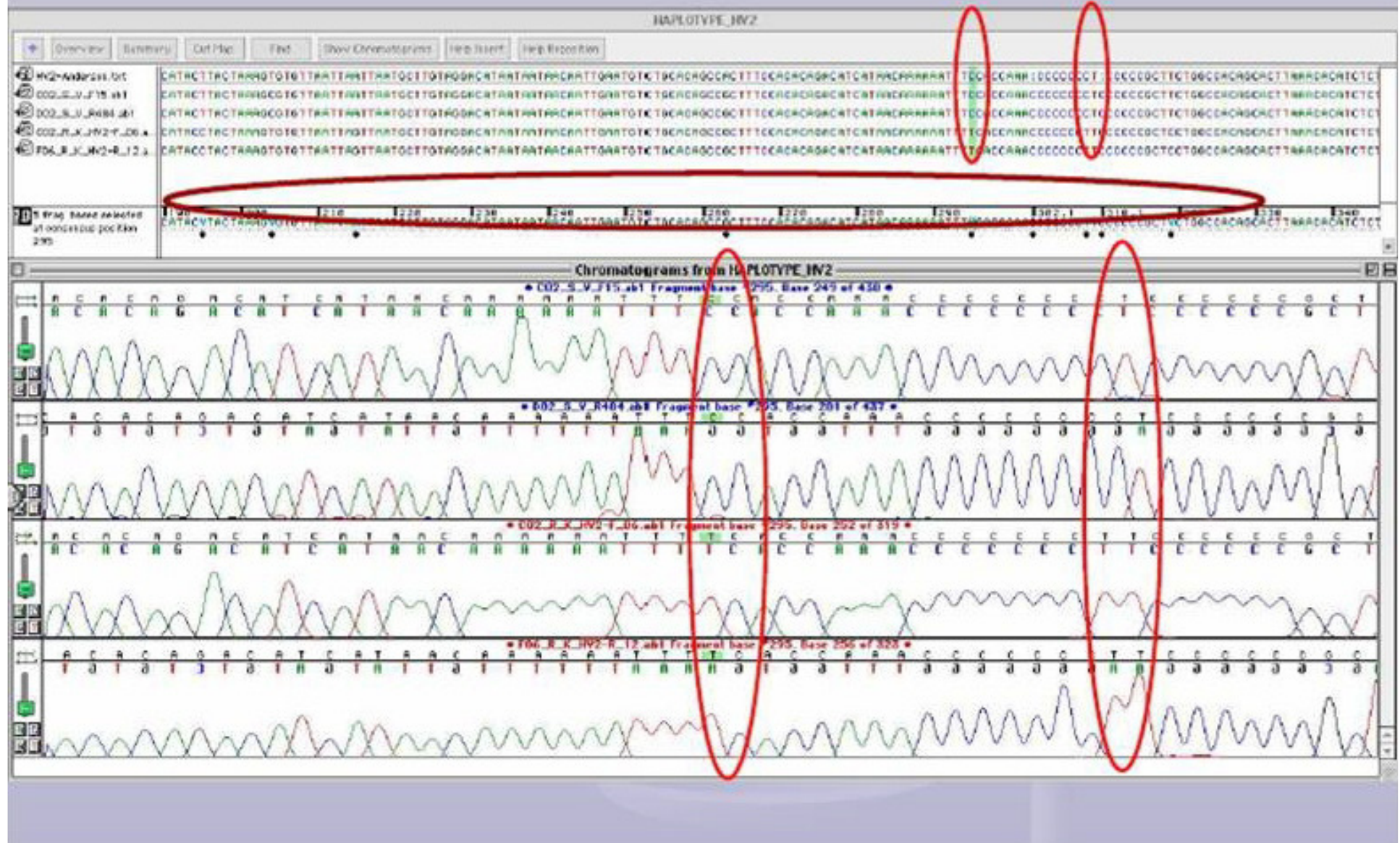
	16090	16100	16110	16120	16130	16140
rCRS	ACCGCTATGT	ATTCGGTACA	TTACTGCCAG	CCACCATGAA	TATTGTACGG	TACCATAAAT
Q	ACCGCTATGT	ATTCGGTACA	TTACTGCCAG	CCACCATGAA	TATTGTACAG	TACCATAAAT
K	ACCGCTATGT	ATTCGGTACA	TTACTGCCAG	CCACCATGAA	TATTGTACAG	TACCATAAAT

16093
16129

A referencia szekvenciától való eltérések pozícióját és nukleotidját jegyezzük le, ami megadja az adott minta mtDNS haplotípusát

<u>Bizonyíték</u>	<u>Összehasonlító</u>	
16093C	16093C	Bizonyíték: - Kizárható
16129A	16129A	- Inkonzuzív
		- Nem zárható ki

A haplotípusok ...



Igazságügyi szempontok ...

A mtDNS egyedi azonosításra kevésbé alkalmas, mint a nuDNS

- Nem az egyént, hanem az anyai leszármazási haplotípust identifikálja

Ugyanakkor

- A diverzitás mértéke miatt nagy a valószínűsége annak, hogy két véletlenül kiválasztott személy különböző mtDNS haplotípussal rendelkezik
 - Populációtól függetlenül ez az érték általában 95 % valószínűség fölött van
 - Új minták esetén kb. 2/3 része a mintáknak új haplotípust mutat
 - Csak kevés ún. "közönséges" gyakori haplotípus van, melyek gyakorisága több mint 1%
 - Több ezer haplotípus figyelhető meg, emiatt a haplotípusok relatív gyakorisága alacsony

EMPOP: mtDNA szekvencia adatbázis

empop.org/modules/haplotype/

Version: 2.1, Release: 6

Welcome egyedb! [Logout](#)

EMPOP

- Home
- Contribute
- Help
- Imprint
- Contact
- Terms of use

▶ Query

▶ Tools

▶ Account

Input | Summary

Type haplotype as differences to rCRS

Sample Info

Query <input type="button" value="⊕"/>	Range	Profile
	<input type="text" value="16024-576"/>	<input type="text" value="16129A 93G 263G 315.1C"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Options

Match type pattern literal

Number of differences displayed

Disregard InDels in length variants at positions
 16193 309 455 573

Source Forensic (10869) Literature (5252)

endorsed by



www.empop.org

EMPOP

- Home
- Contribute
- Help
- Imprint
- Contact
- Terms of use

▶ Query

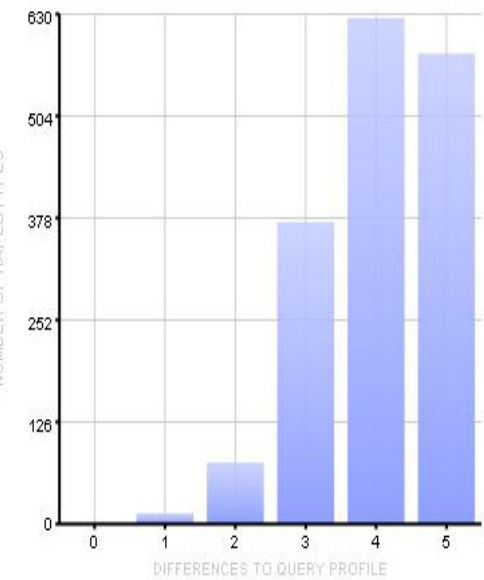
▶ Tools

▶ Account

Input **Summary**

Results Identification	d3d282a3fd917b56b101259843bb8a760b033543	
Search execution date	2012-02-16 22:15:47 UTC	
Sample Info	not specified	
Type	string-based search: haplotype as differences to rCRS	
Options	Match type: pattern Maximum differences displayed: 5 Disregard InDels in length variants at positions: 16193 309 455 573	
Source	Forensic data (9052/10869) Literature data (1789/5252)	
Query	16024-576	G16129A A93G A263G -315.1C

DIFFERENCES TO QUERY PROFILE	NUMBER OF HAPLOTYPES	CUMULATIVE NUMBER OF HAPLOTYPES
0	0	0
1	1	1
2	76	77
3	373	450
4	625	1075
5	581	1656
6+	9185	10841



Frequency estimates

P_{Uc}	0.000e+0 [2.710e-20 ; 3.542e-4]
P_{N+1}	9.223e-5 [1.628e-5 ; 5.224e-4]



Counting Method

CALCULATION OF mtDNA PROFILE FREQUENCY ESTIMATES USING THE COUNTING METHOD

In cases where an mtDNA profile is observed a particular number of times (X) in a database containing N profiles, its frequency (p) can be calculated as follows:

$$p = X/N$$

A 95% upper bound confidence interval can be placed on the profile's frequency using:

$$p + 1.96 \sqrt{\frac{(p)(1-p)}{N}}$$

In cases where the profile has not been observed in a database, the 95% upper bound on the confidence interval is

$$1 - \alpha^{1/N} = 1 - (0.05)^{1/N}$$

where $\alpha = 0.05$ is the confidence coefficient and N is the number of individuals in the database.

For example, the mtDNA type 16129A, 263G, 309d, 315.1C occurs twice in 1148 African-American profiles, twice in 1655 Caucasian profiles, and not at all in 686 Hispanic profiles when searched against the mtDNA Population Database (Monson et al. 2002). Using the equations above, calculations for the rarity of this profile in the respective sample sets are as follows:

$$\begin{aligned} \text{For African-Americans: } p &= 2/1148 + \\ &1.96 [(2/1148)(1 - (2/1148))/1148]^{1/2} = \\ &0.0017 + 0.002 = 0.004 = 0.40\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{For Caucasians: } p &= 2/1655 + 1.96 [(2/ \\ &1655)(1 - (2/1655))/1655]^{1/2} = 0.0012 + \\ &0.0017 = 0.0029 = 0.29\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{For Hispanics: } 1 - (0.05)^{1/686} &= 1 - 0.9956 \\ &= 0.0044 = 0.44\% \end{aligned}$$

These calculations demonstrate that the statistical weight can be similar whether or not a match is found to a few previously observed samples in a database.

As shown in D.N.A. Box 13.2, the Clopper-Pearson method (Clopper & Pearson 1934) may also be used to provide a conservative estimate for the upper 95% confidence interval.

Sources:

- Clopper, C.J., & Pearson, E.S. (1934). *The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial*. *Biometrika*, 26, 404-413.
- Evetts, I.W., & Weir, B.S. (1998). *Interpreting DNA Evidence*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc., p. 142.
- Monson, K.L., et al. (2002). *The mtDNA population database: an integrated software and database resource*. *Forensic Science Communications*, 4(2). Available at <<http://www2.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2002/miller1.htm>>.
- Tully, G., et al. (2001). *Considerations by the European DNA profiling (EDNAP) group on the working practices, nomenclature and interpretation of mitochondrial DNA profiles*. *Forensic Science International*, 124, 83-91.

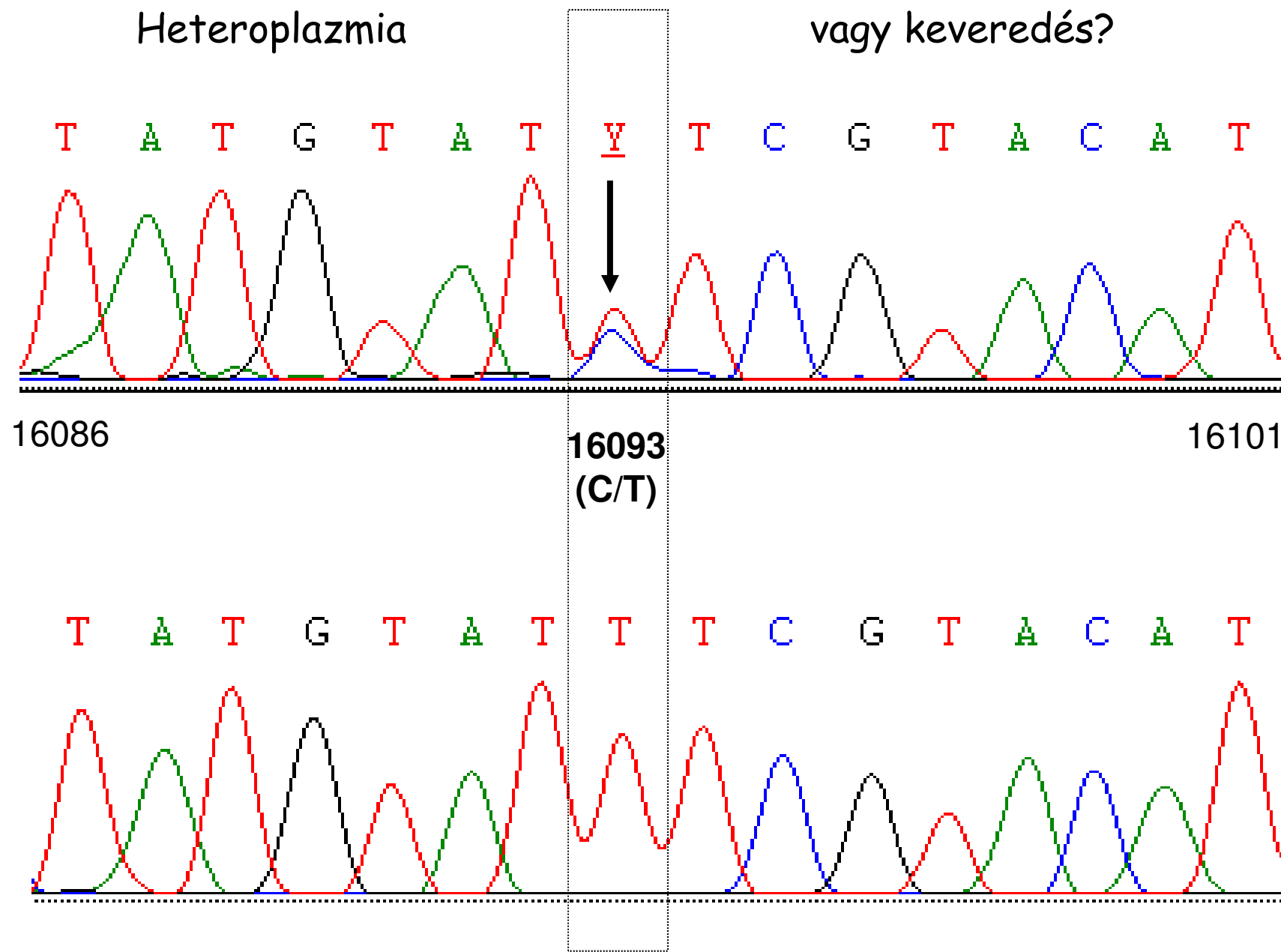
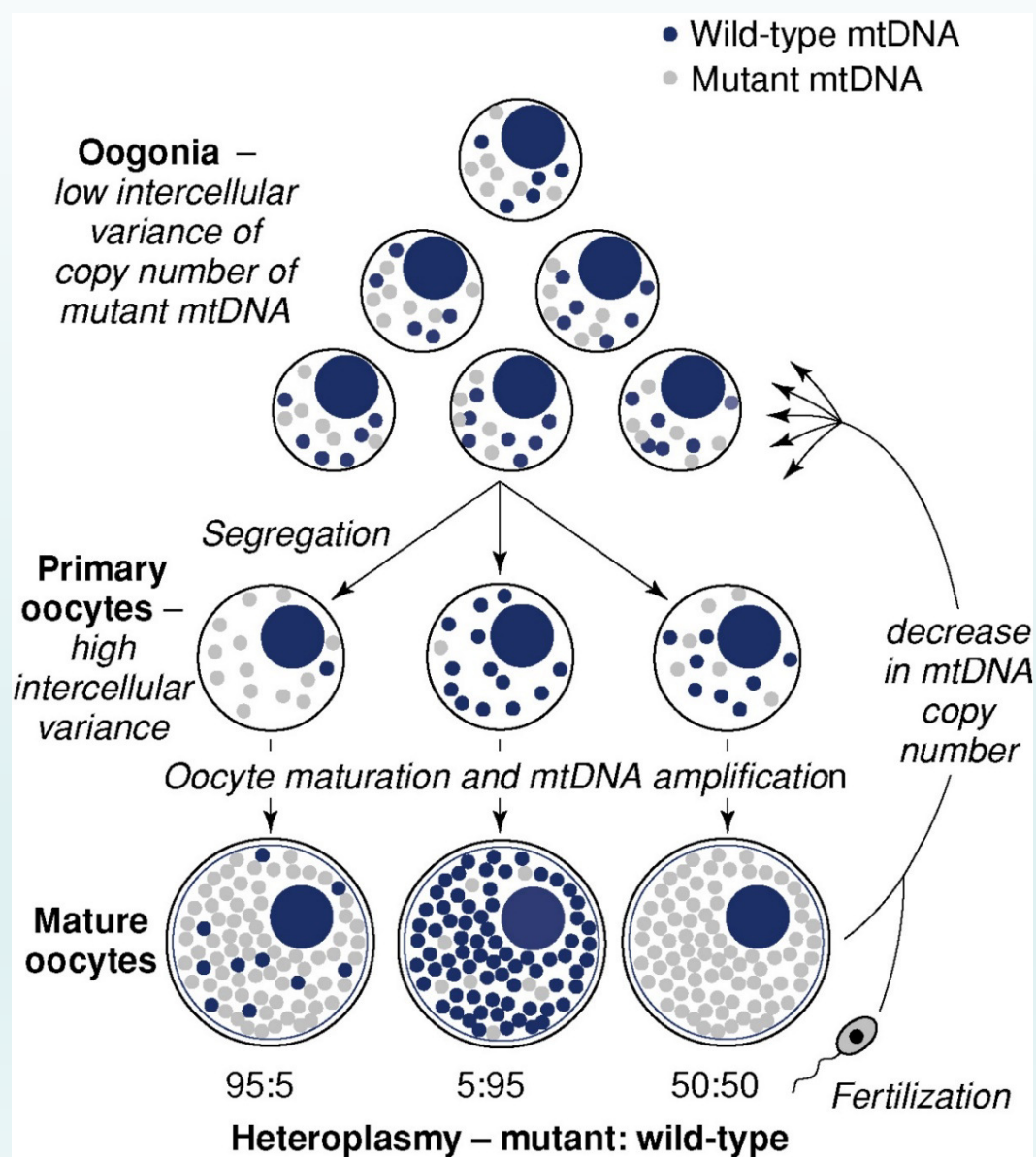


Figure 10.9, J.M. Butler (2005) *Forensic DNA Typing*, 2nd Edition © 2005 Elsevier Academic Press

Mitokondriális DNS mutációk: heteroplazmia



Deléció: mitokondriális eredetű betegségek (anyai)

- MITOMAP

Szubsztitúció: ált. neutrális

Mutációs ráta: non-uniform

$10^{-6} - 10^{-7}$ / bp / generation

Mutációs hot-spotok

Citoplazmikus szegregáció:

„bottleneck”
(palacknyak effektus)

Heteroplazmia - homoplazmia:

szövet- és módszer specifikus

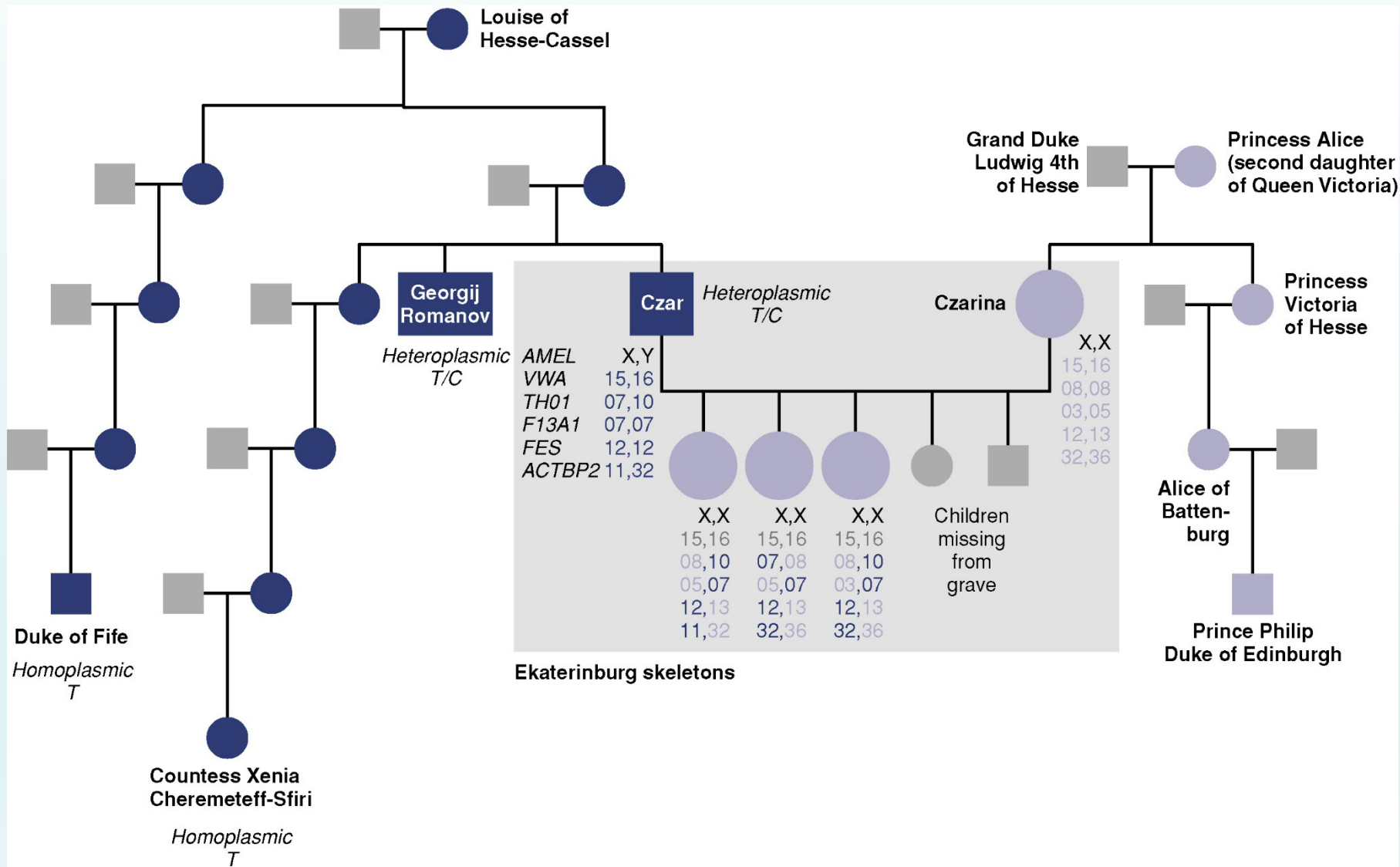
Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis

Peter Gill¹, Pavel L. Ivanov², Colin Kimpton¹, Romelle Piercy¹, Nicola Benson¹, Gillian Tully¹, Ian Evett¹, Erika Hagelberg³ & Kevin Sullivan¹

Nine skeletons found in a shallow grave in Ekaterinburg, Russia, in July 1991, were tentatively identified by Russian forensic authorities as the remains of the last Tsar, Tsarina, three of their five children, the Royal Physician and three servants. We have performed DNA based sex testing and short tandem repeat (STR) analysis and confirm that a family group was present in the grave. Analysis of mitochondrial (mt) DNA reveals an exact sequence match between the putative Tsarina and the three children with a living maternal relative. Amplified mtDNA extracted from the remains of the putative Tsar has been cloned to demonstrate heteroplasmy at a single base within the mtDNA control region. One of these sequences matches two living maternal relatives of the Tsar. We conclude that the DNA evidence supports the hypothesis that the remains are those of the Romanov family.



A Romanovok maradványainak azonosítása molekuláris genetikai módszerrel



Mitokondriális DNS: PCR és szekvenálási stratégia

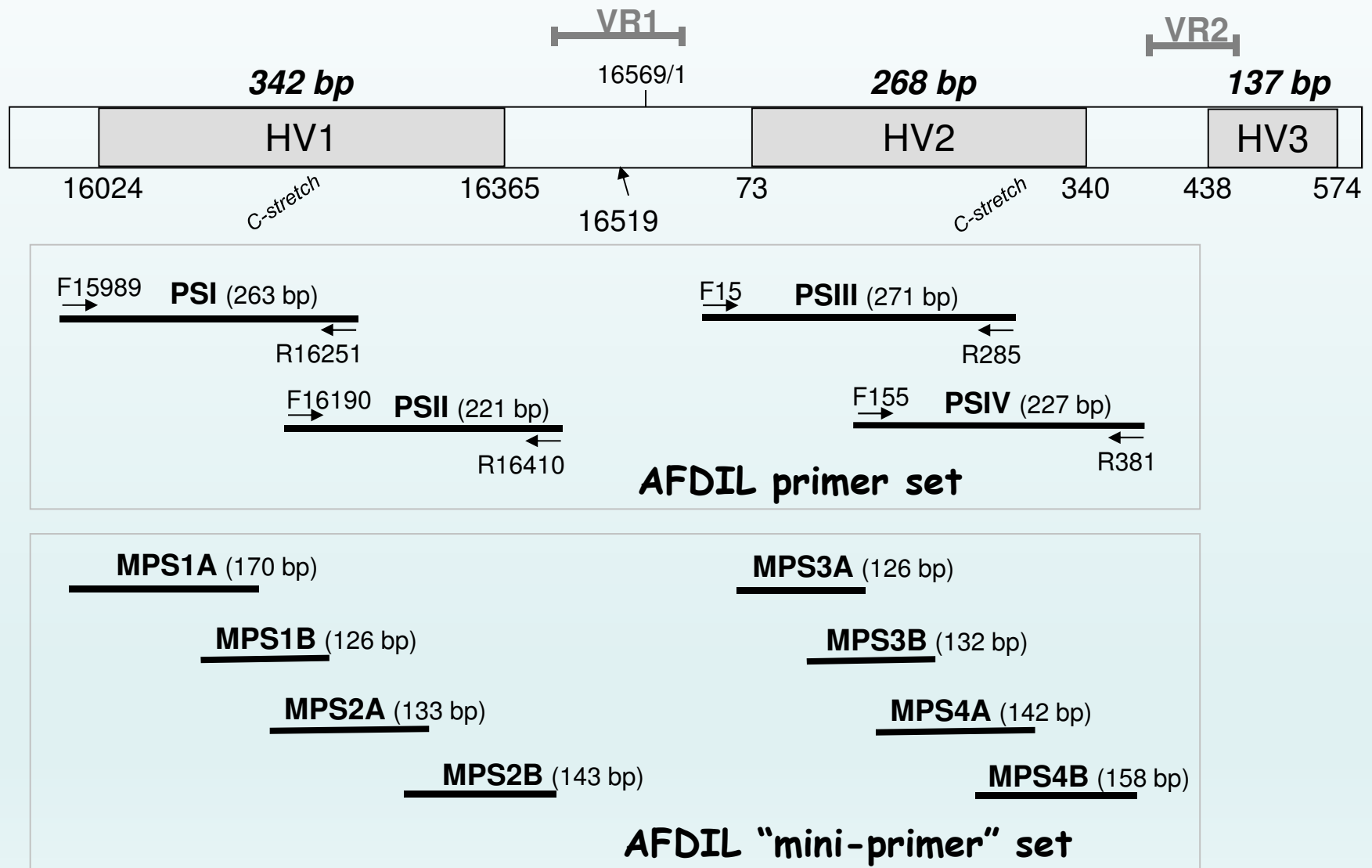
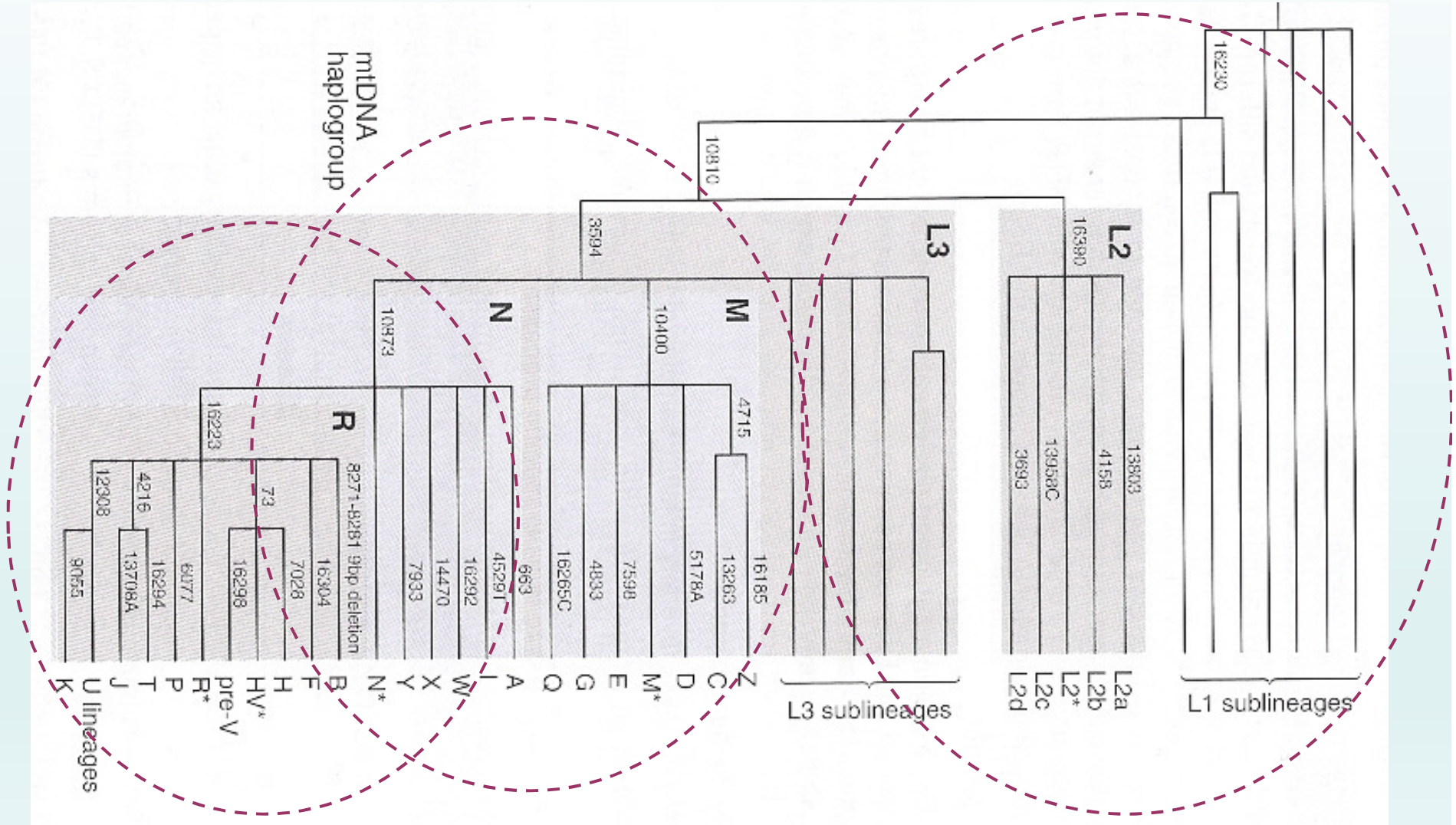
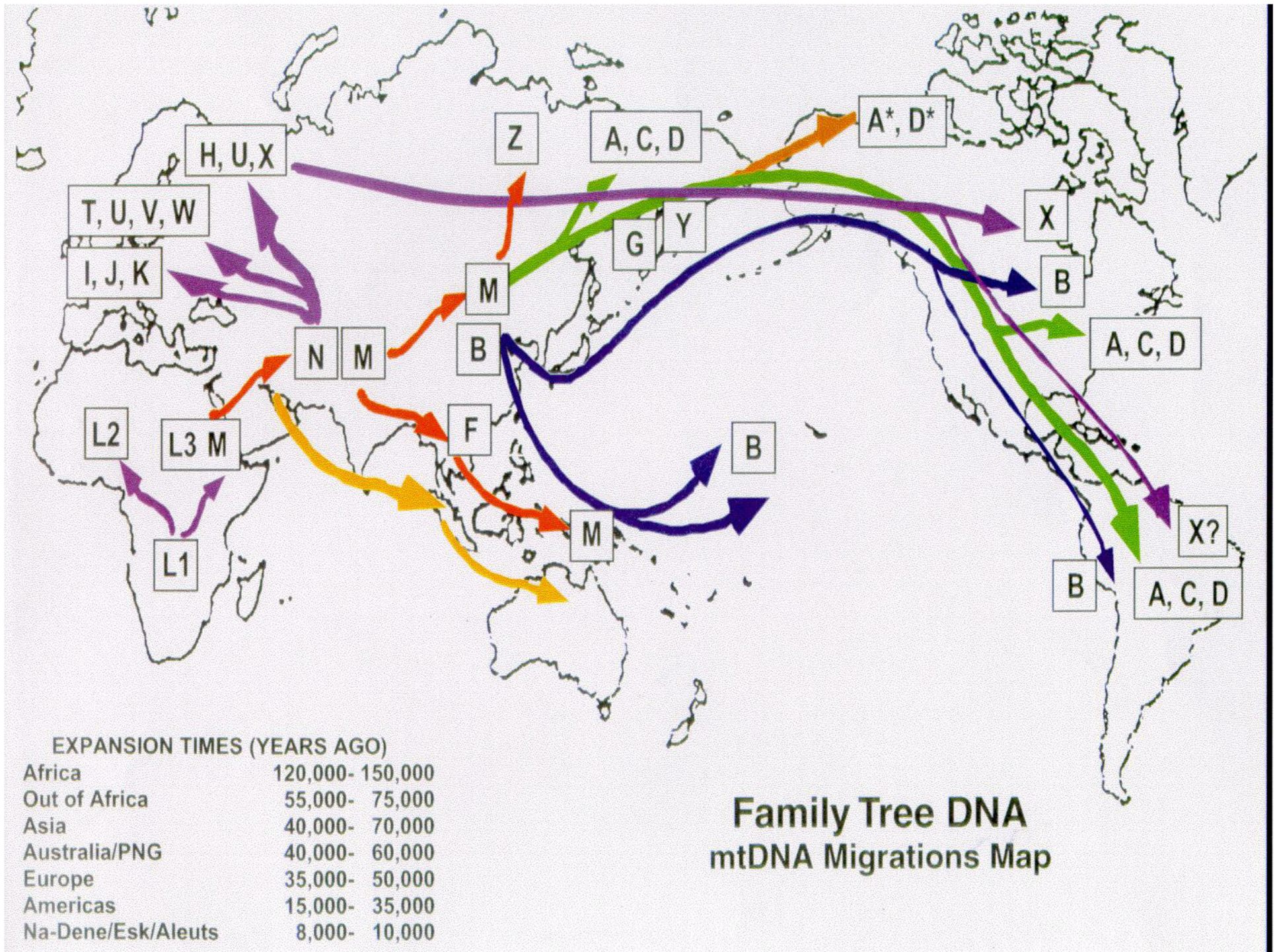


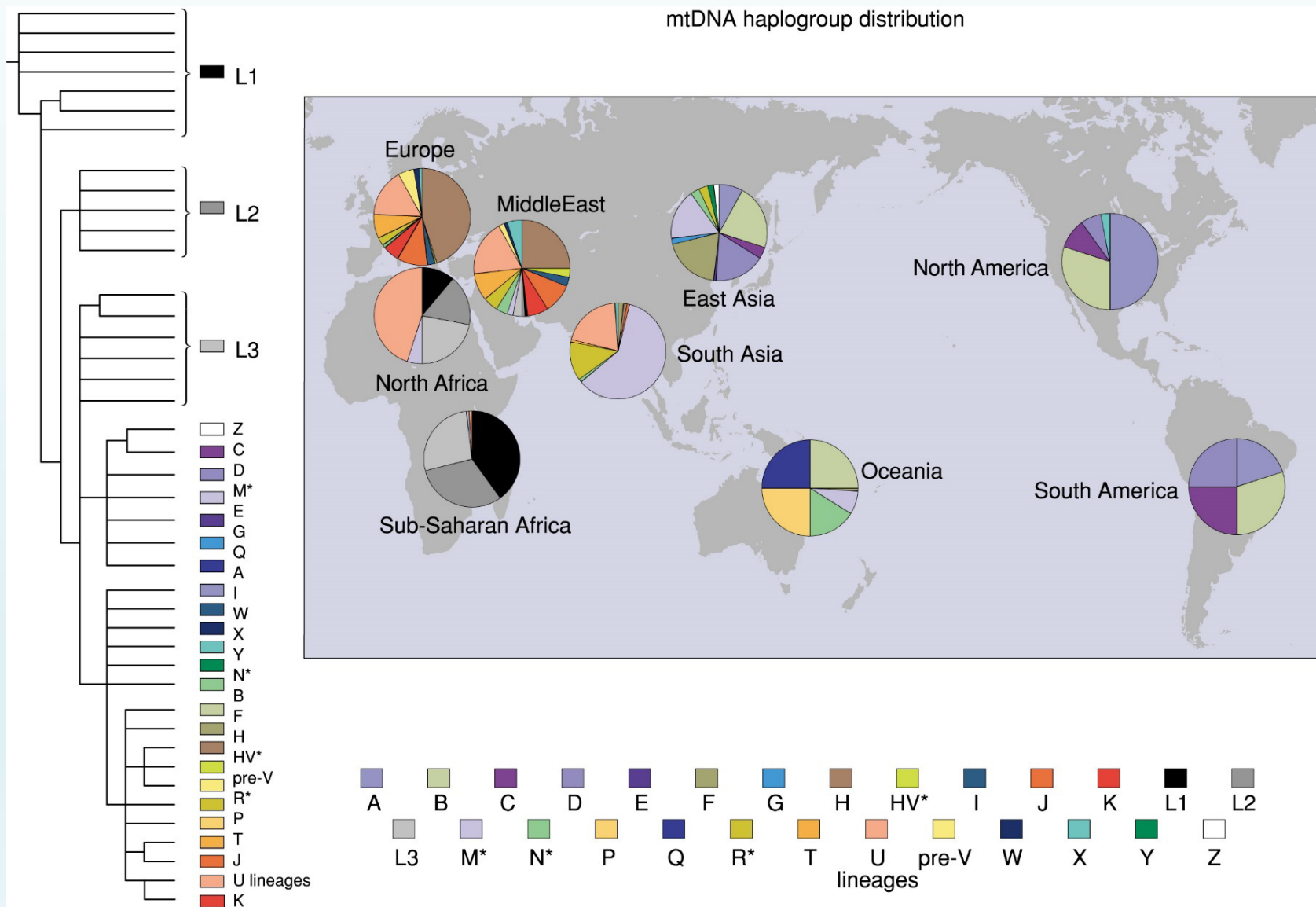
Figure 10.3, J.M. Butler (2005) *Forensic DNA Typing*, 2nd Edition © 2005 Elsevier Academic Press

A fő mitokondriális DNS leszármazási vonalak

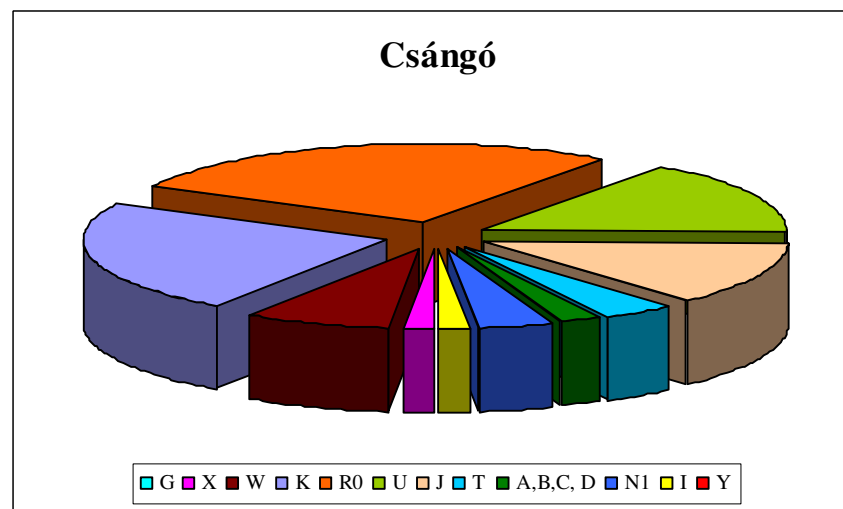
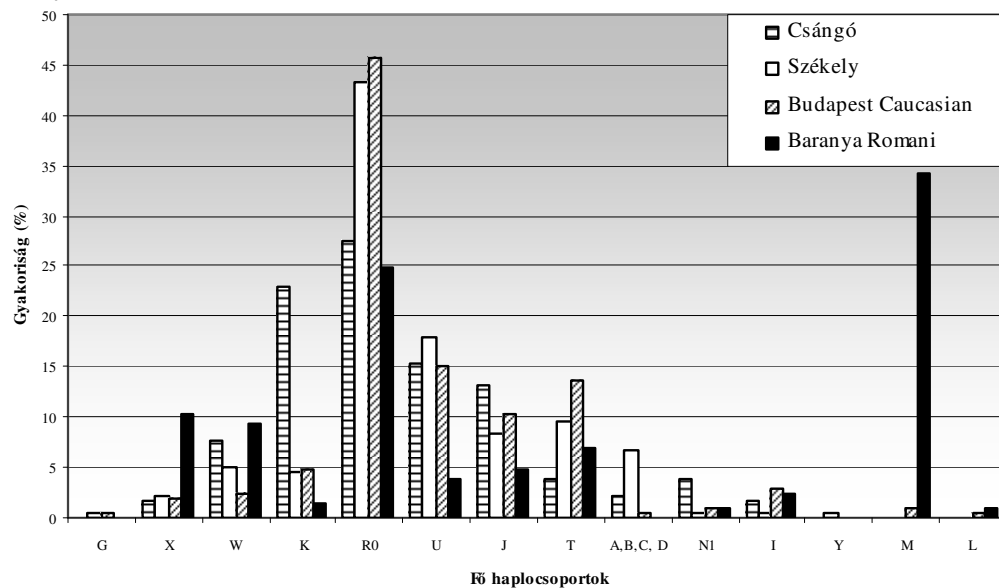
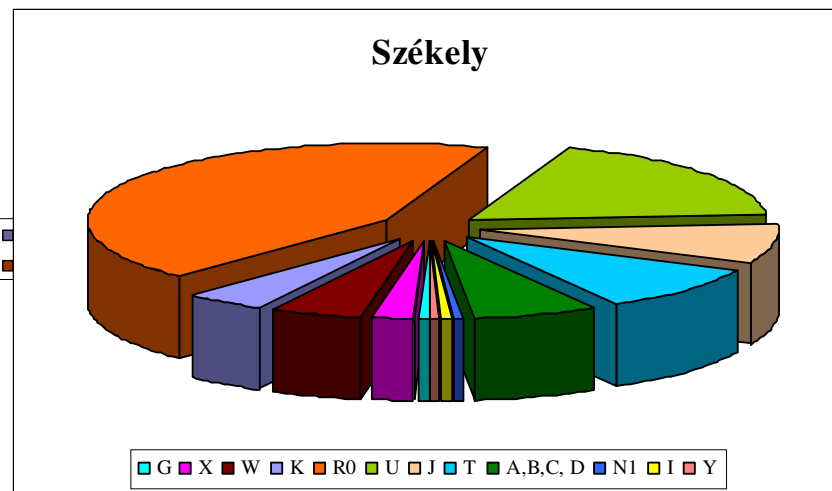
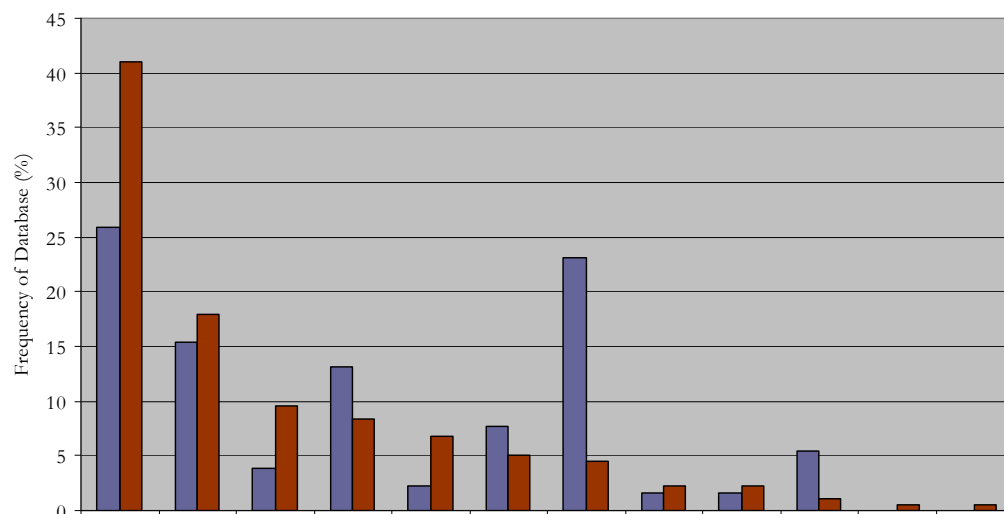




A fő mitokondriális DNS haplocsoportok eloszlása



Mitokondriális DNS haplocsoport eloszlások



A fő mitokondriális DNS haplocsoportok eloszlása a nyugat-eurázsiai kontinensen

