

Igazságügyi genetika



Genetikai alapok

Pádár Zsolt

Polimorfizmusok

Mi is az a polimorfizmus ?



Recesszív gén hőmérséklet szenzitív expressziója

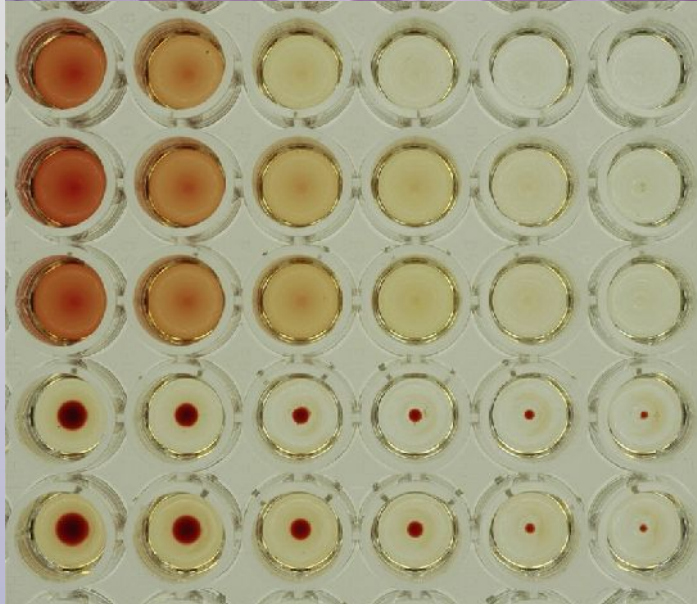
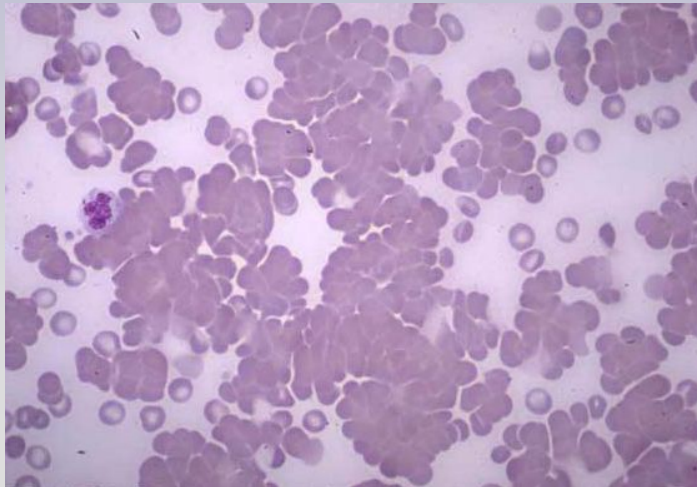
- TYR gén ► tirozináz enzim ► melanin szintézis (sötét szín)
 - Defektív tirozináz ► funkcióvesztés normál testhőmérsékleten
 - sötét színárnyalat csak az alacsonyabb testhőmérsékletű helyeken



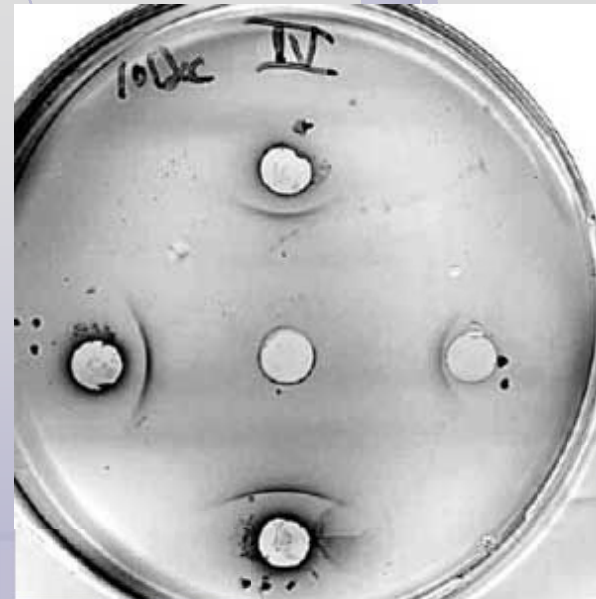
Miben nyilvánul meg ? - Milyen szinten detektálható ?

- fenotípus szintjén (nem mindig látható ...)
 - morfológiai, szerológiai, biokémiai...
- genotípus szintjén
 - nukleáris DNS, mitokondriális DNS
- vizsgálati szintek
 - ... celluláris, molekuláris, szubmolekuláris...

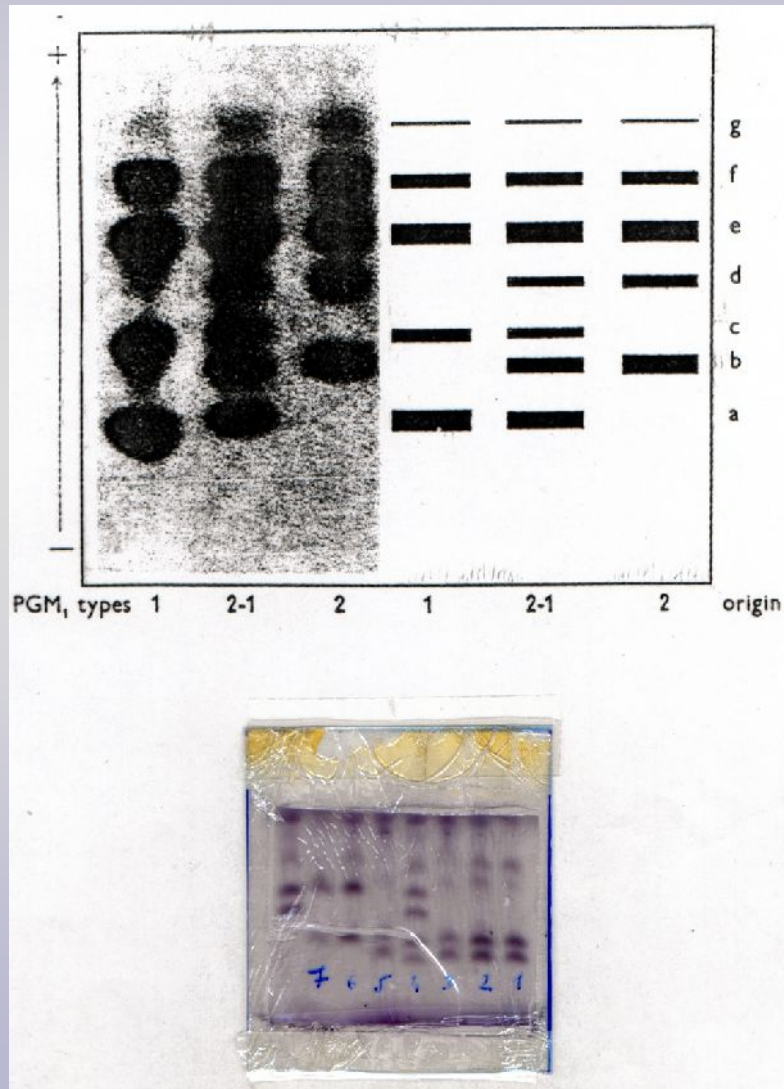
Celluláris polimorfizmusok



agglutináció
és
precipitáció
vizsgálatok



Molekuláris polimorfizmusok



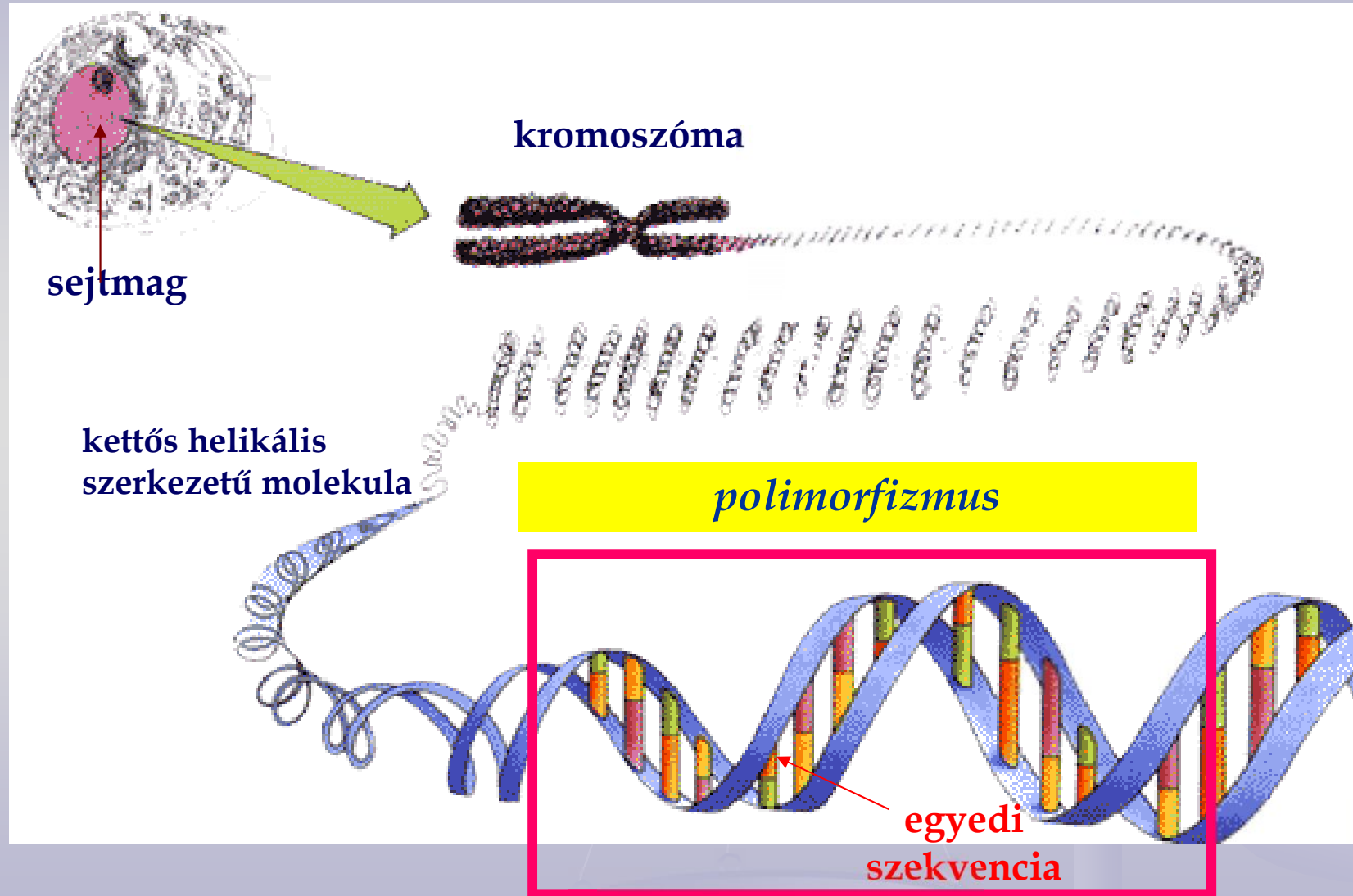
konformáció

és

konfiguráció

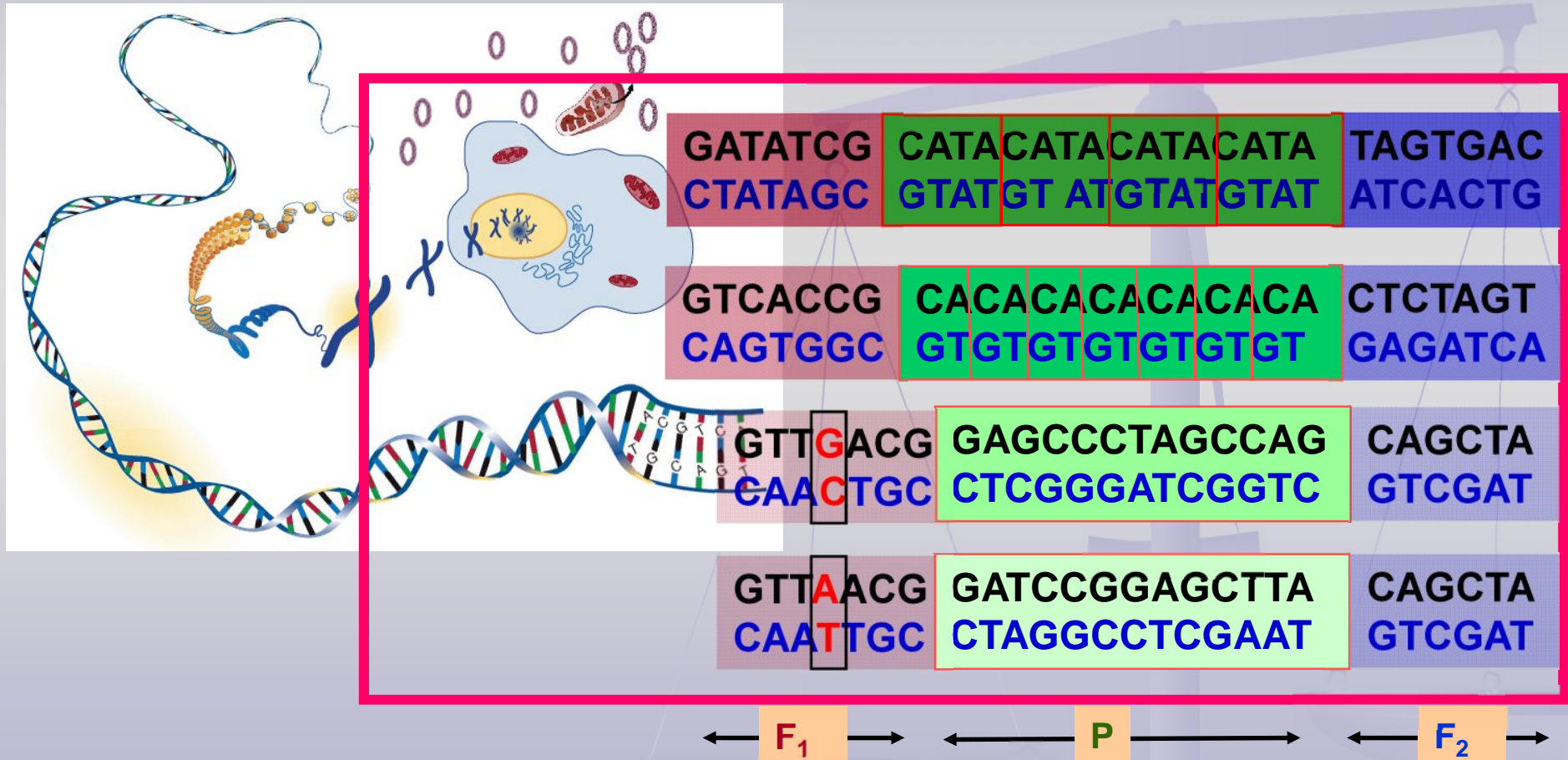
különbségek

DNS a sejtmagban



Polimorfizmusok

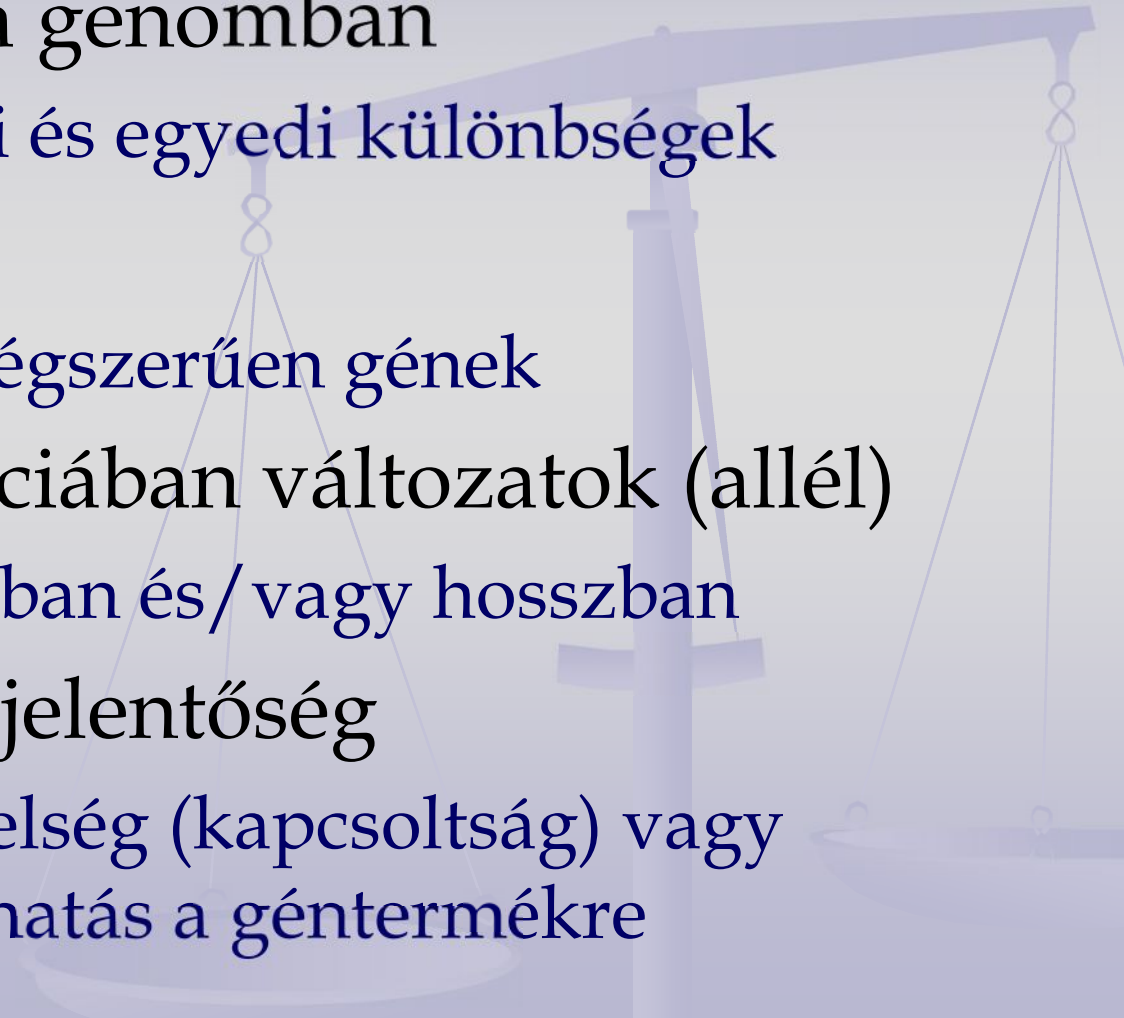
A polimorfizmus - célrégió a sejtmagi- vagy mitokondriális DNS vizsgálatokban



F₁: határoló régió - primerek kapcsolódása (meghatározza a fizikai helyet / markert) **P**: polimorf célszakasz (marker, lokusz, allél)

F₂: határoló régió - primerek kapcsolódása (meghatározza a fizikai helyet / markert)

Szubmolekuláris polimorfizmusok

- különbségek a genomban
 - taxonómiai és egyedi különbségek
 - lókuszok
 - nem szükségszerűen gének
 - adott szekvenciában változatok (allél)
 - szekvenciában és/vagy hosszban
 - diagnosztikai jelentőség
 - fizikai közelség (kapcsoltság) vagy közvetlen hatás a géntermékre
- 

Szubmolekuláris polimorfizmusok

- az igazságügyi genetika az azonosításra (pl. fajazonosítás) és azonosságra (pl. az egyed azonosságának megállapítása) illetve oksági összefüggésekre (pl. rendkívüli halál) vonatkozó kérdéseit a genetikai polimorfizmusok vizsgálatával véleményezi
 - a vizsgált eukarióta polimorfizmusok lokalizálódhatnak
 - a sejtmagban,
 - autoszómákon (pl. FGA, D21S11) vagy ivari (pl. DYS19, Y-GATAH4) kromoszómákon,
 - a mitokondriális- vagy plazmatisz genomban,
 - kódoló (pl. Cytb, COI) és nem kódoló (HVR I-II.) régiókban.
 - típusukat tekintve több szempontból is csoportosíthatók, mint
 - egykópiás szekvenciák,
 - repetitív szakaszok,
 - tandem repetitív szakaszok,
 - VNTR (D1S80), STR (D21S11) ismétlődések

illette

 - bi-allélikus markerek,
 - egynukleotidos (SNP) és inzerció/s/deléción (indel) polimorfizmusok
 - multi-allélikus markerek,
 - STR polimorfizmusok
 - haplotípus szekvenciák,
 - mitokondriális genom, kontroll régió (CR).- habár a vizsgálati célszakaszokat eddig az életkorral, fiziológiás állapottal nem változó, nem módosuló (módosítható - hamisítható) genetikai markerek jelentették, napjainkban egyre kifejezettebb igény mutatkozik a fenotípust jellemző szekvenciák (pl. pigmentáció, testalkat, fiziológiás státusz) és a leszármazási vonalak (Y- kromoszóma) kiterjedt SNP analízisére is.

Igazságügyi szempontból informatív polimorfizmusok

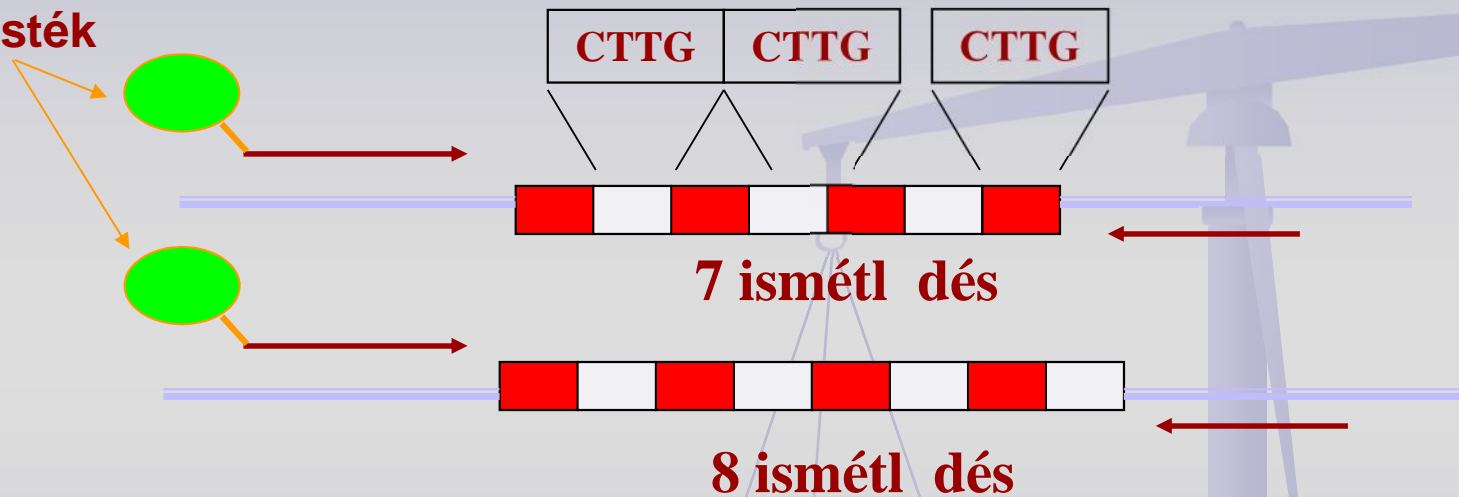
- hosszpolimorfizmusok
 - nukleáris miniszatellita tandem ismétlődések, VNTR lokuszok
 - az ismétlődő egységek 9-70 bp hosszúak és 2-100 kópiában fordulnak elő
 - pl. D1S80, ApoB3'
 - nukleáris mikroszatellita tandem ismétlődések, STR lokuszok
 - az ismétlődő egységek 2-7 bp hosszúak és 2-50 kópiában fordulnak elő,
 - gének intronjaiban vagy pszeudogénekben is találhatóak.
 - testi kromoszómás lokuszok (pl. D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51)
 - ivari kromoszómás lokuszok
 - pl. DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439 (Y-kromoszóma)
 - pl. DXS8378, HPRTB, DXS7423, DXS7132, DXS10134, (X-kromoszóma)
- szekvencia polimorfizmusok
 - a nukleáris genom adott szakaszain megfigyelhető DNS szekvenciális változatok
 - pl. LDLR (Low Density Lipoprotein Receptor), GYPA (Glycophorin A), HBG (Hemoglobin-G Gammaglobulin), GC (Group Specific Component), HLA-DQA1, D7S8
 - a nukleáris genom adott pontján megfigyelhető báziscserék, egynukleotidos polimorfizmusok
 - pl. rs740910, rs717302, rs891700, rs733164, rs763869, rs2076848, rs907100, rs1528460
 - a mitokondriális genom adott szakaszain megfigyelhető DNS szekvenciális változatok
 - pl. kontroll régió (CR, HVR)
 - Citokróm(b)

Az egynukleotidos polimorfizmusok (SNP)

- biallélikus markerek (6 lehetőség)
 - (A / G, C / T, A / T, C / G, T / G, A / C),
 - az azonosság megállapításához egy nagyságrenddel több marker szükséges, mint pl. STR.
- a genomban több millió SNP található
 - kb. 500-1000 bázispáronként, melyek
 - pontmutációk génekben és/vagy regulátor régiókban
 - kapcsoltsági (LD) térképek segítik a gén- (régió) asszociáció vizsgálatát
- a fenotípusra vonatkozó információ kriminalisztikai jelentősége is növekvő, nyomozati segítséget adhat a
 - pigmentáció, testalkat, stb. megállapítása
- jelentős kiegészítő információt jelentenek a leszármazási vonalak részletesebb feltárásához
 - Y-kromoszómás SNP vizsgálatok
- diagnosztikai jelentőségük és szerepük fokozódik
 - multifaktoriális poligénes betegségek diagnosztizálása

Short Tandem Repeats (STRs)

Fluoreszcens
festék



*A „flanking” régiók (ahol a PCR primerek kötnek)
konstans, a „repeat” régió variábilis a mintákban*

Homozigóta = mindkét allél egyforma hosszú

Heterozigóta = különböző allélhosszak

A primerek pozíciója meghatározza a PCR termék méretét

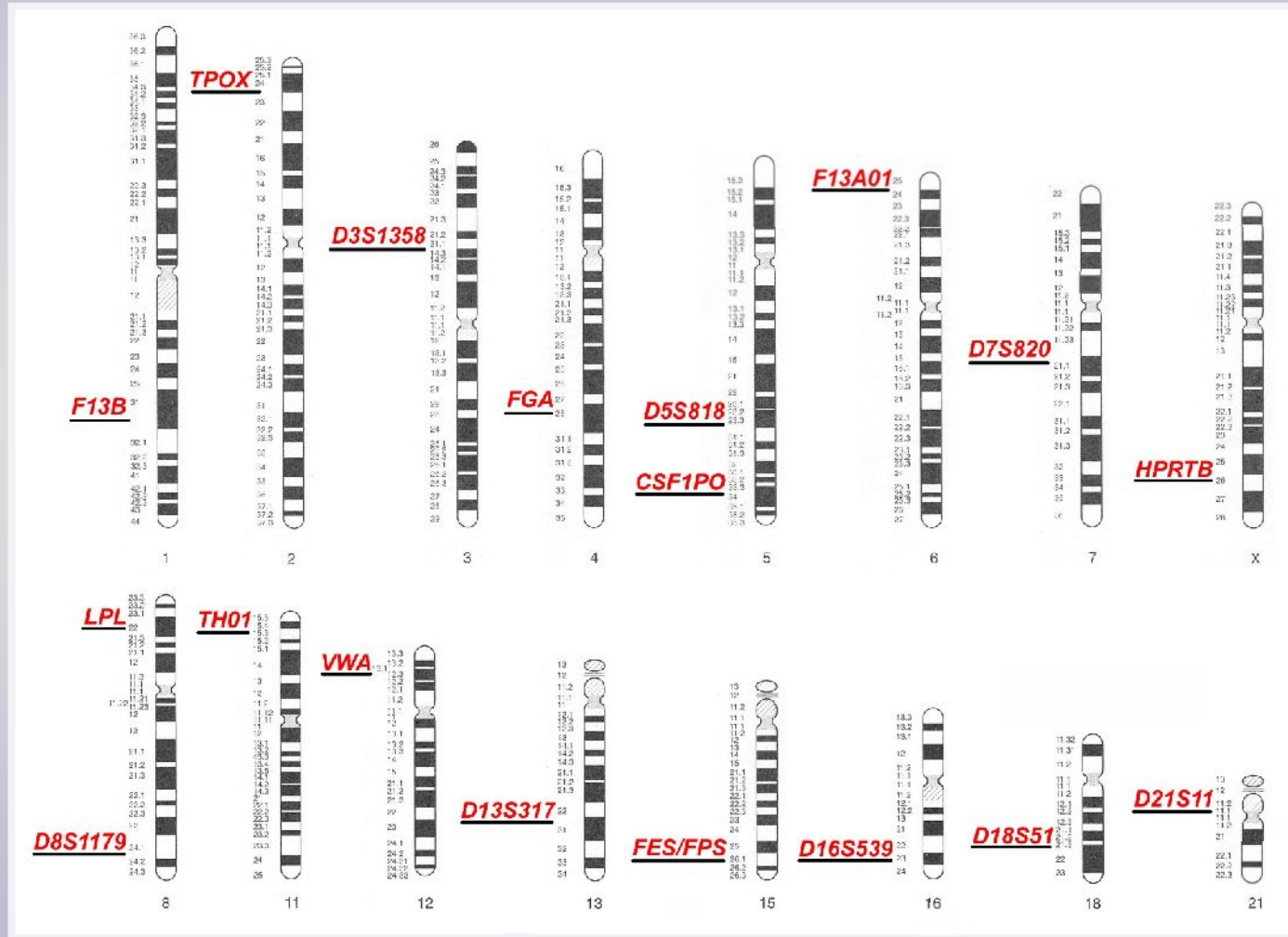
STR lokuszok kromoszómális pozíciója

p

q

p

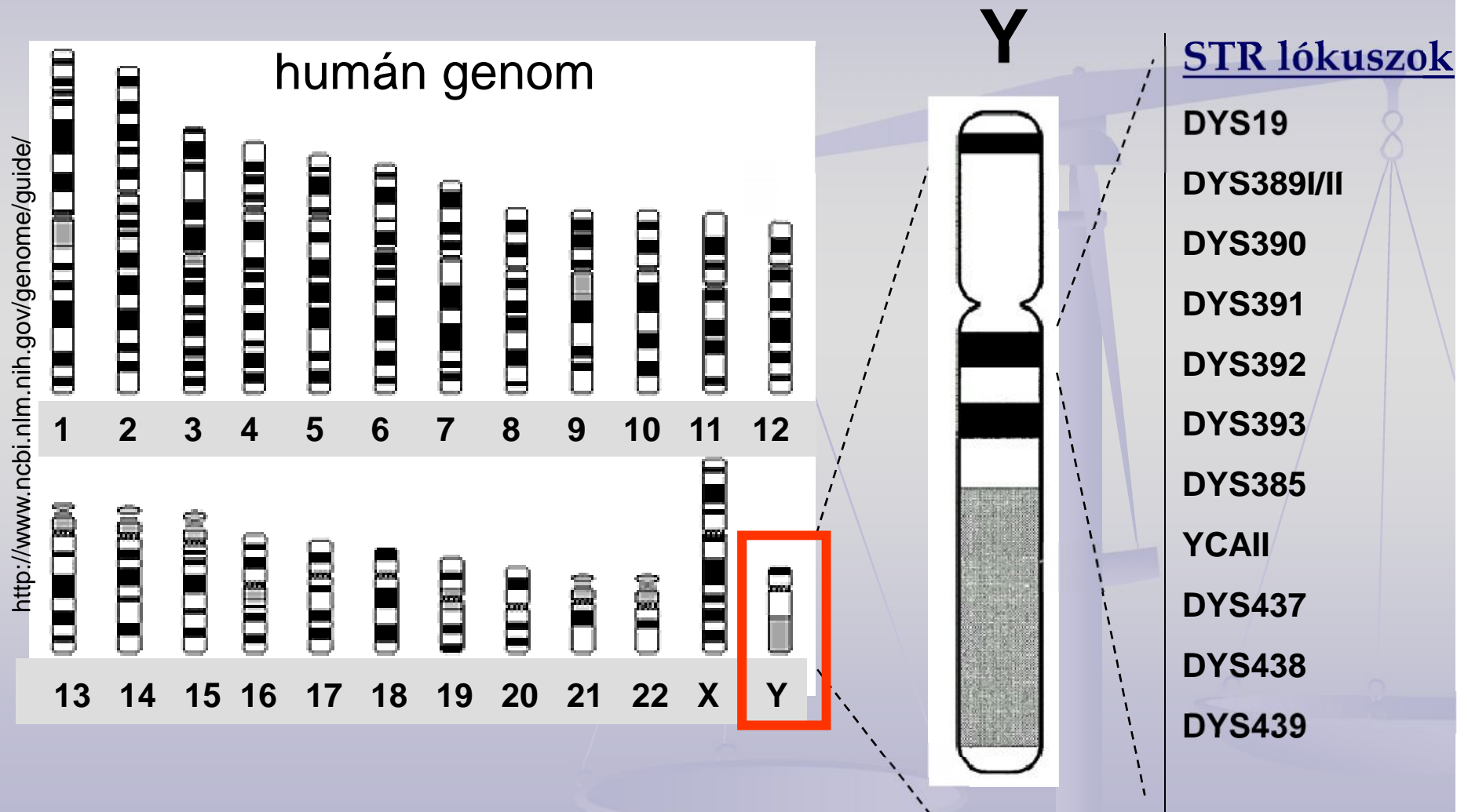
q

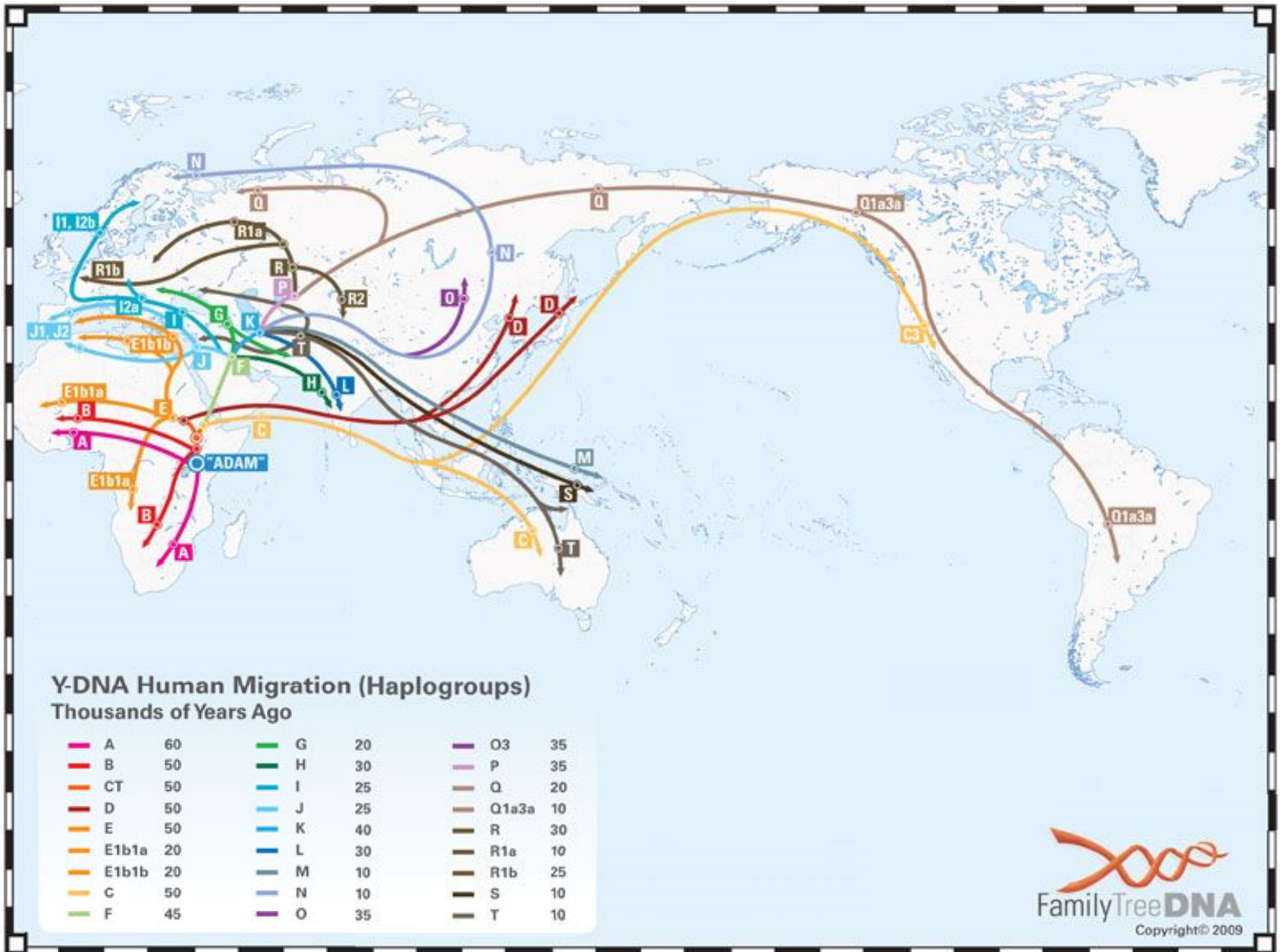


Néhány (CODIS) lokusz

| Lókuszt | Lokáció | Repeat szerkezet |
|---------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TH01 | 11p15.5 | (AATG) _n |
| TPOX | 2p23-2pter | (AATG) _n |
| CSF1PO | 5q33.3-34 | (AGAT) _n |
| D3S1358 | 3p | TCTA (TCTG) ₁₋₃ (TCTA) _n |
| vWA | 12p12-pter | TCTA (TCTG) ₃₋₄ (TCTA) _n |
| FGA | 4q28 | (TTTC) ₃ TTTT TTCT (CTTT) _n CTCC (TTCC) _n |
| D8S1179 | 8 | (TCTR) _n |
| D21S11 | 21q11-q21 | (TCTA) _n (TCTG) _n [(TCTA) ₃ TA (TCTA) ₃ TCA (TCTA) ₂ TCCA TA] (TCTA) _n |
| D18S51 | 18q21.3 | (AGAA) _n |
| D5S818 | 5q21-31 | (AGAT) _n |
| D13S317 | 13q22-31 | (GATA) _n |
| D7S820 | 7q11.23-q21 | (GATA) _n |
| D16S539 | 16q24-qter | (AGAT) _n |

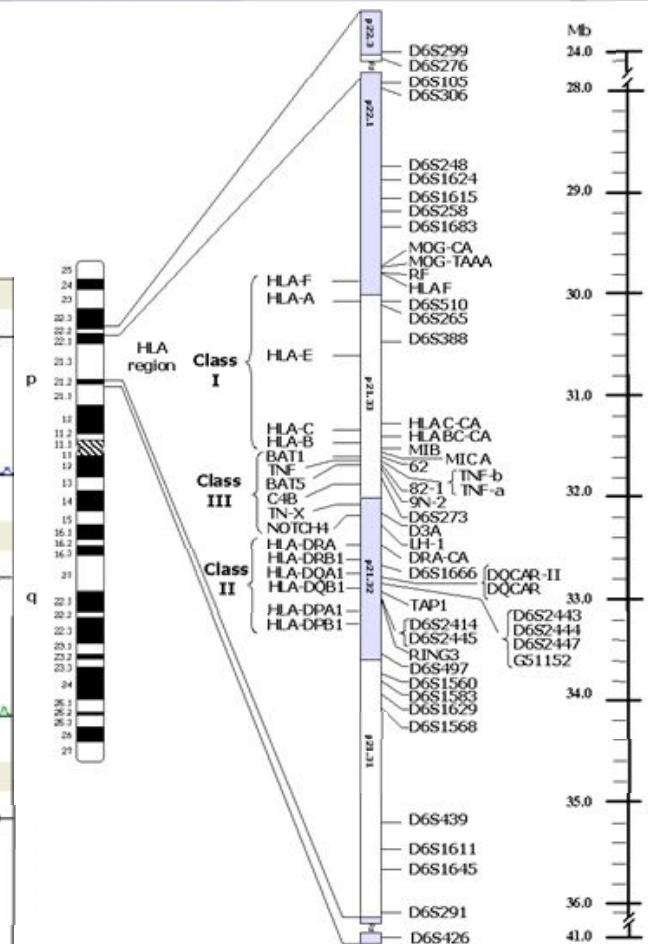
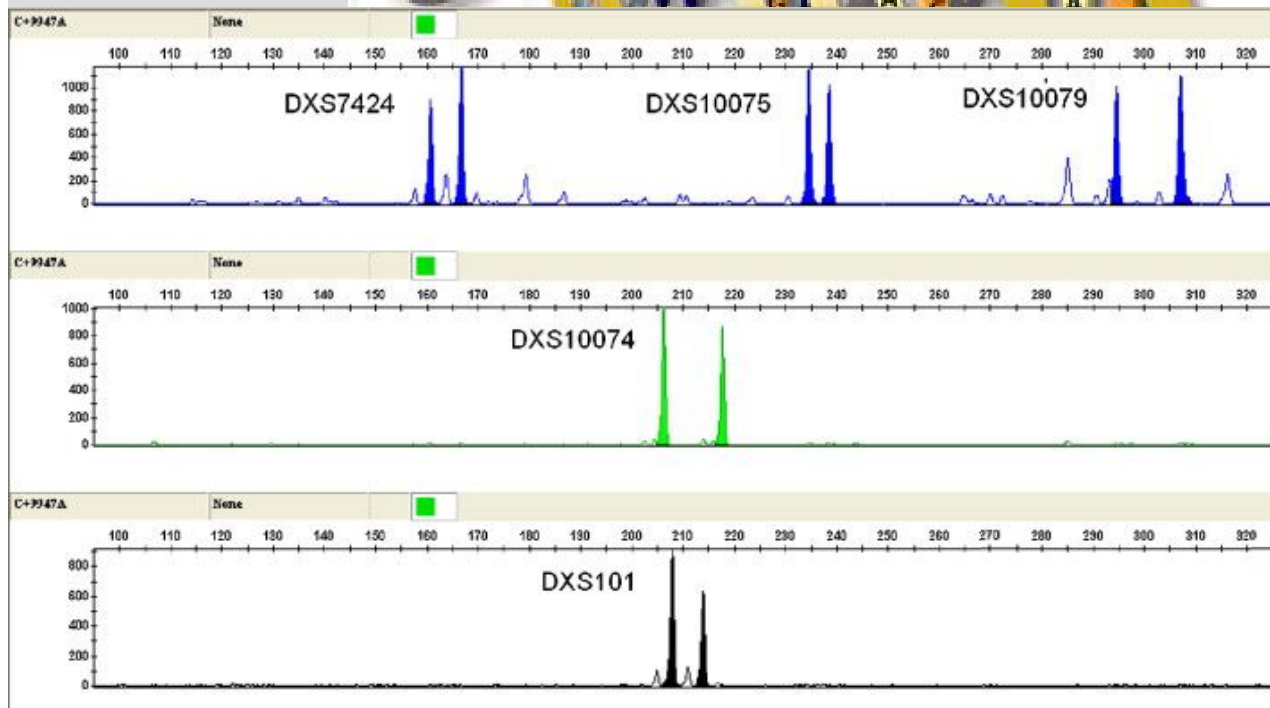
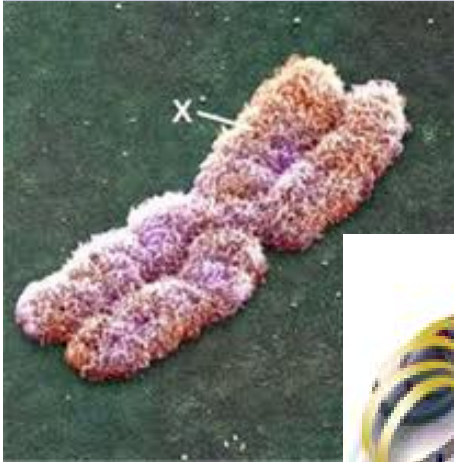
Kiegészítő markerek - Y-kromoszóma



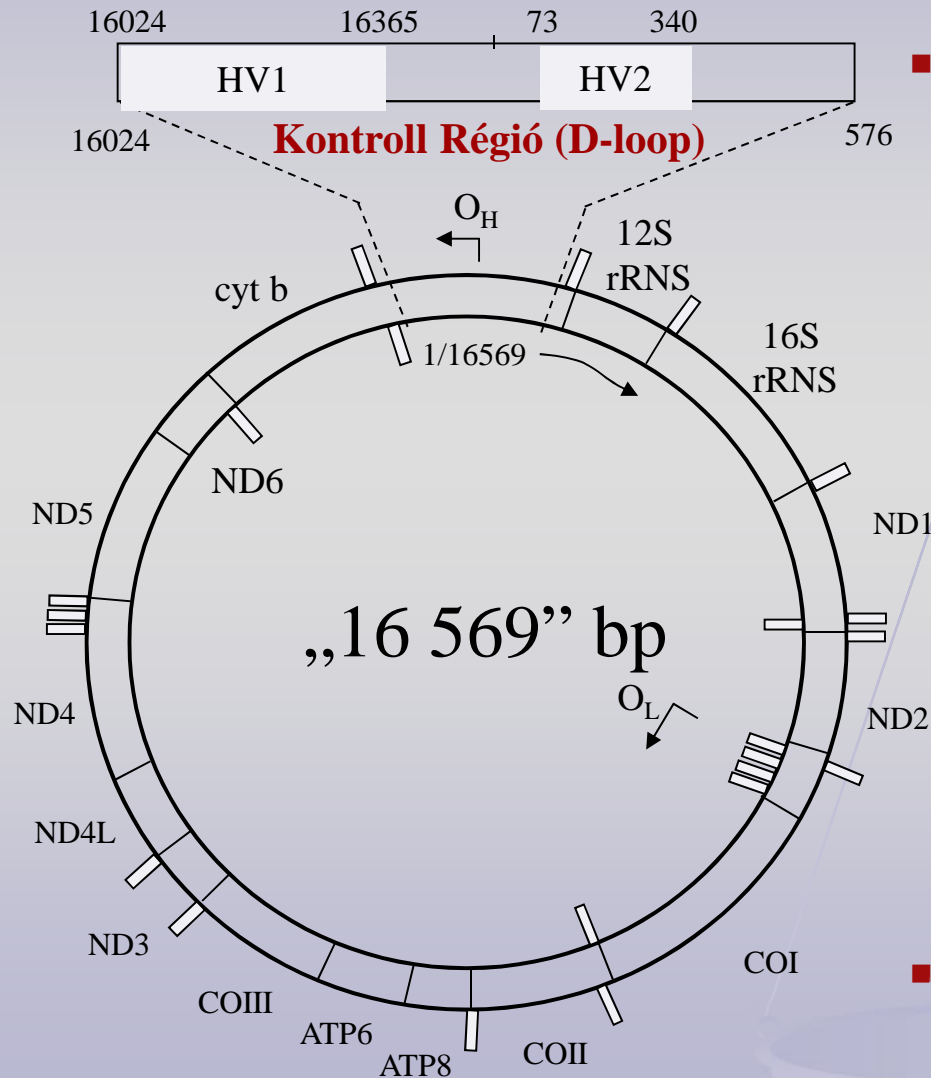


Kiegészítő markerek - X kromoszóma

- hiányos leszármazás vizsgálata
 - a vélelmezett apa elhunyt, és a kérdéses gyermek leány
 - diagnosztika - kapcsoltság



Szekvencia polimorfizmus vizsgálata a mtDNS kontroll régióban



- Cambridge Referencia Szekvencia (CRS) szolgál a haplotípusok összehasonlításának alapjául

- a Kontroll Régió (CR) vagy D(isplacement)-loop

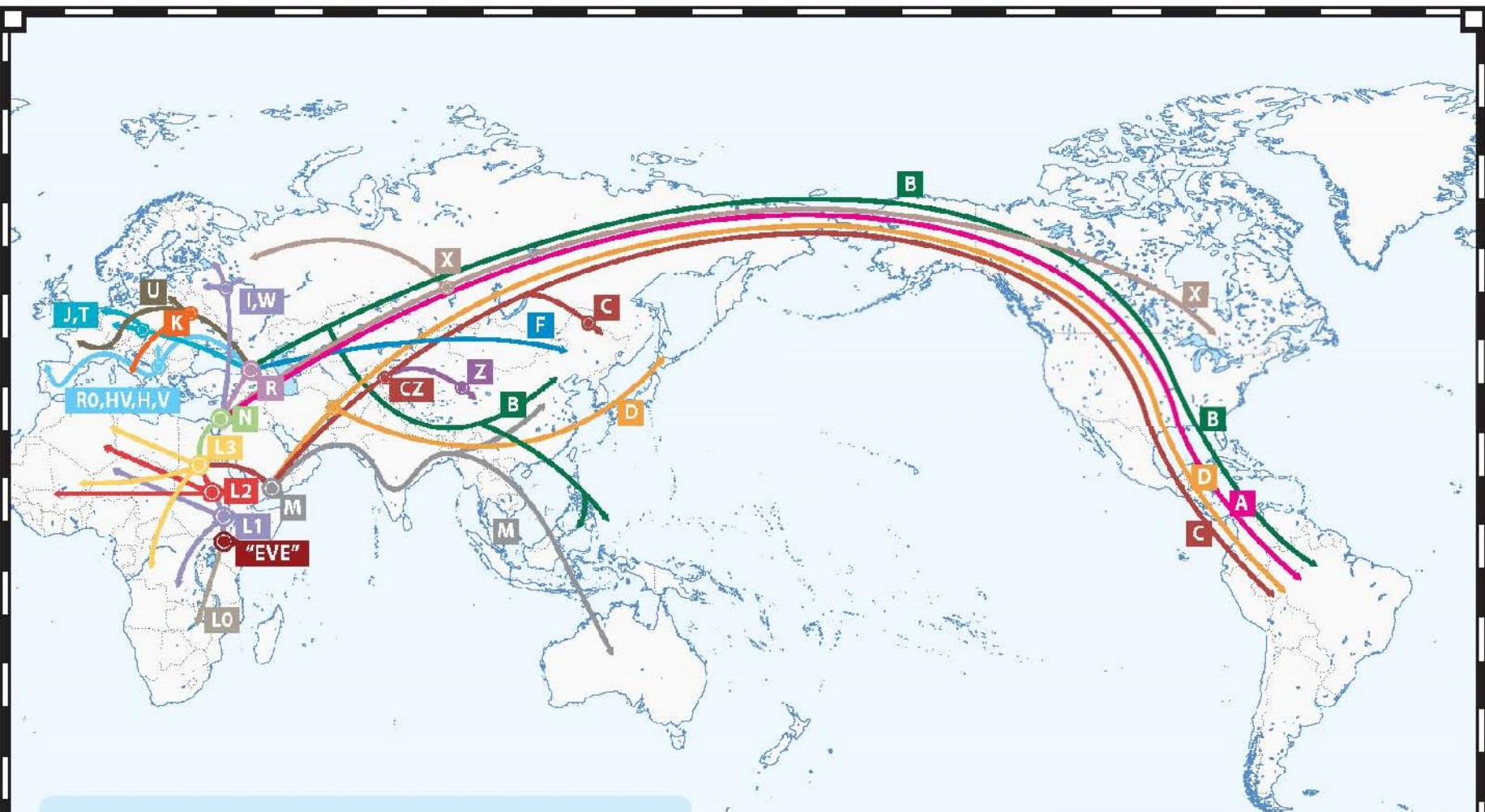
- ~1120 bp hosszú, replikációs origó,
- hipervariábilis szakaszokkal,
 - HV1, HV2, ahol
- a szelekciós nyomás alacsony,
- a variációk forrása csak mutáció.

- Citokróm(b) gén

- szelekciós nyomás alatt álló, kódoló régió, szinonim mutációkkal,
 - genetikai drift: a fajok közötti szekvenciális különbségek fixálódása

- szekvencia-adatbázisok

- EMPOP (humán, igazságügyi célú)



mt-DNA Human Migration
Thousands of Years Ago

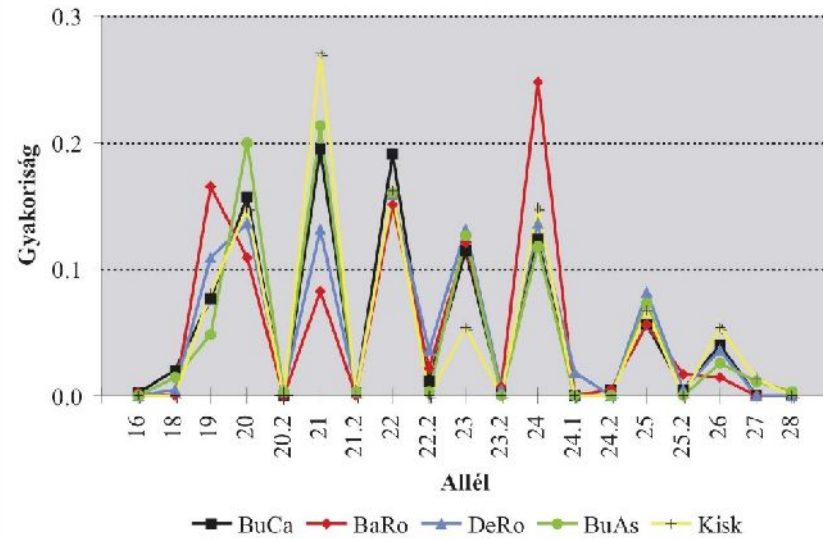
| | | | | | |
|---------------------------------------------|----|------------------------------------------|------|---------------------------------------------|----|
| █ A | 30 | █ J | 40 | █ R | 50 |
| █ B | 50 | █ K | 25 | █ RO | 30 |
| █ C | 20 | █ L0 | >100 | █ T | 20 |
| █ D | 25 | █ L1 | >100 | █ U | 50 |
| █ F | 50 | █ L2 | 80 | █ V | 15 |
| █ H | 30 | █ L3 | 70 | █ W | 20 |
| █ HV | 30 | █ M | 60 | █ X | 30 |
| █ I | 15 | █ N | 50 | █ Z | 30 |

Populációgenetika

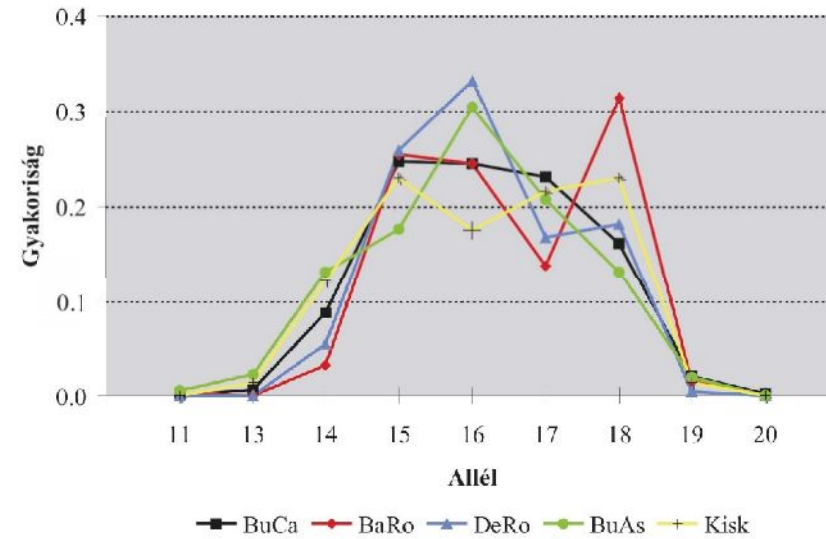
- **allélgyakoriság**
 - a lókuszokhoz tartozó allélok megfigyelt gyakorisága egy populációban
- **HET megfigyelt/várt** (Heterozygosis)
 - kifejezi, hogy a vizsgált egyéneknek várhatóan mekkora hányada lesz heterozigóta a vizsgált lókuszra nézve
- **HWE P érték** (Hardy-Weinberg egyensúly)
 - megmutatja, hogy a vizsgált lókusz Hardy-Weinberg egyensúlyban van-e
- **PIC** (Polymorphism Information Content)
 - érték azt fejezi ki, hogy egy adott lókusz az allélok mérettartományának és gyakoriságának ismeretében mennyire informatív
- **PD** (Power of Discrimination)
 - kifejezi, hogy a populációból véletlenszerűen kiválasztott két személyt vizsgálva, mennyi annak az átlagos valószínűsége, hogy a két személy a vizsgált lókuszon eltérő genotípust hordoz
- **PM** (Probability of Match)
 - kifejezi, hogy a populációból véletlenszerűen kiválasztott két személyt vizsgálva, mennyi annak az átlagos valószínűsége, hogy a két személy a vizsgált lókuszon megegyező genotípust hordoz
- **haplotípus gyakoriság**
 - a haplotípusok megfigyelt gyakorisága egy populációban
- **haplocsoport gyakoriság**
 - a haplocsoportok megfigyelt gyakorisága egy populációban
- **haplotípus és haplocsoport diverzitás** (Haplotype and Haplogroup Diversity)
 - kifejezi a vizsgált populációk géndiverzitását

Autoszómás lokuszok allélgyakoriság-eloszlása

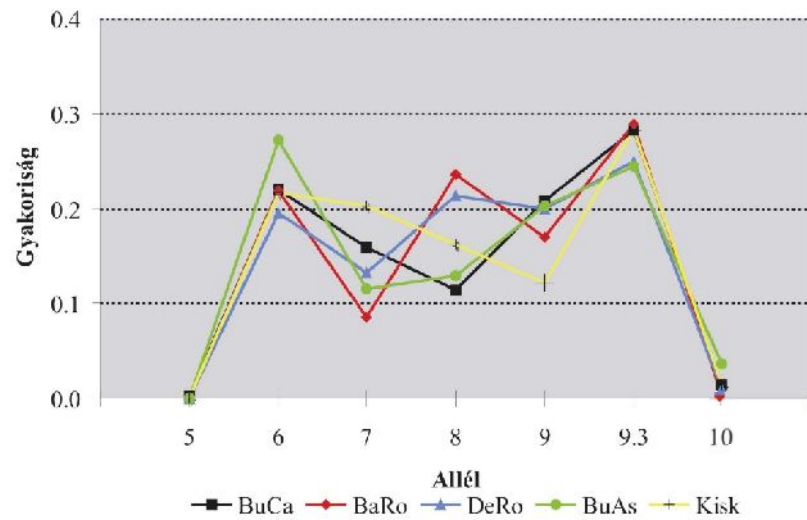
FGA



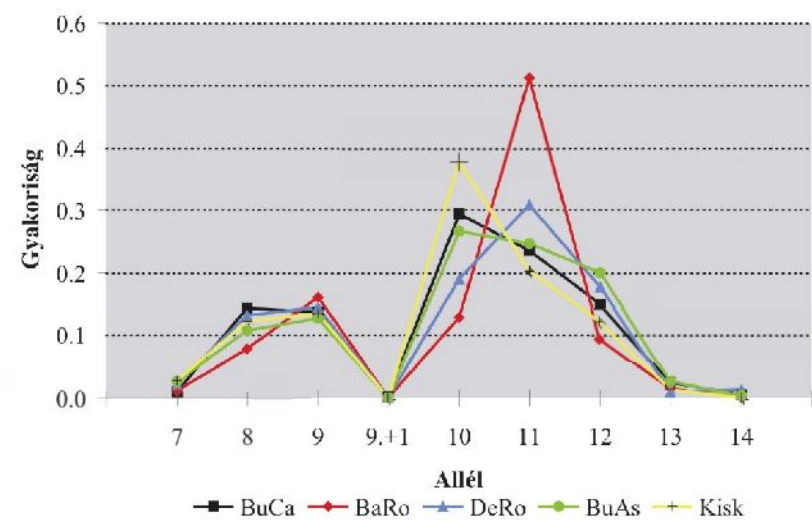
D3S1358



TH01

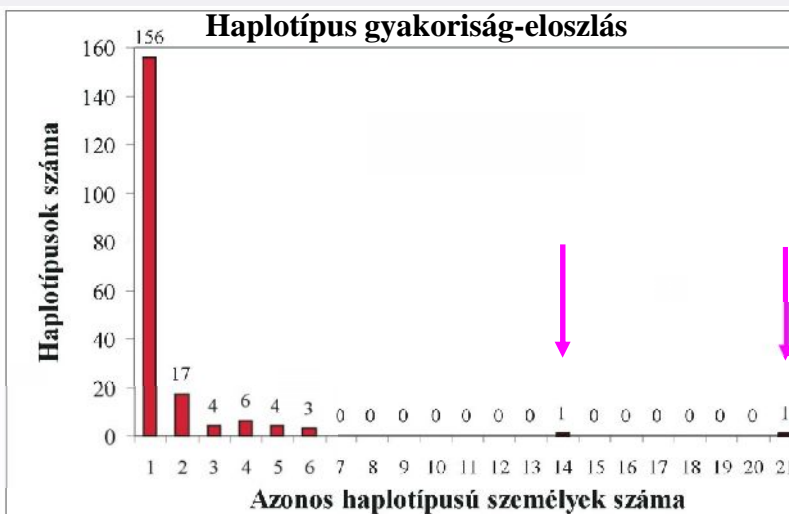
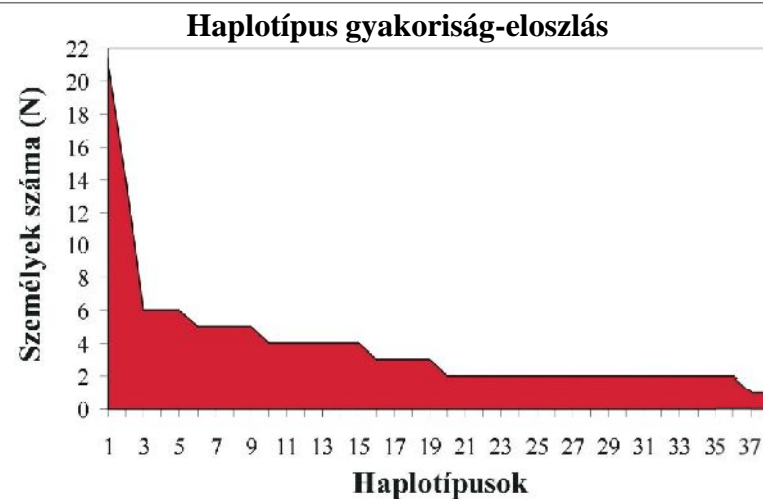
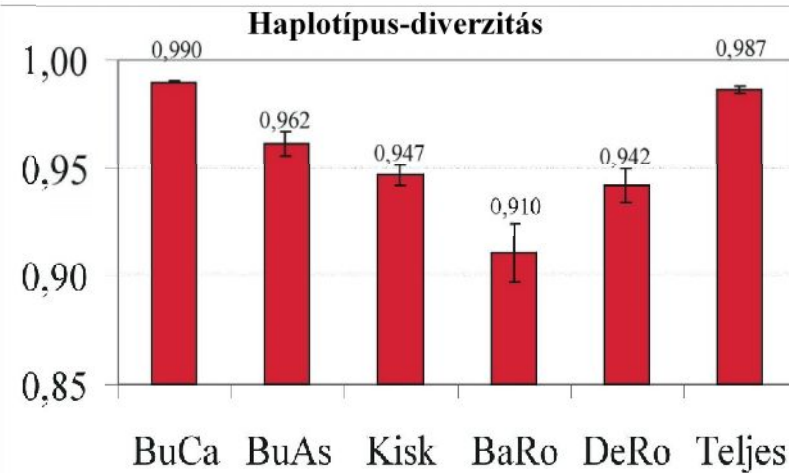
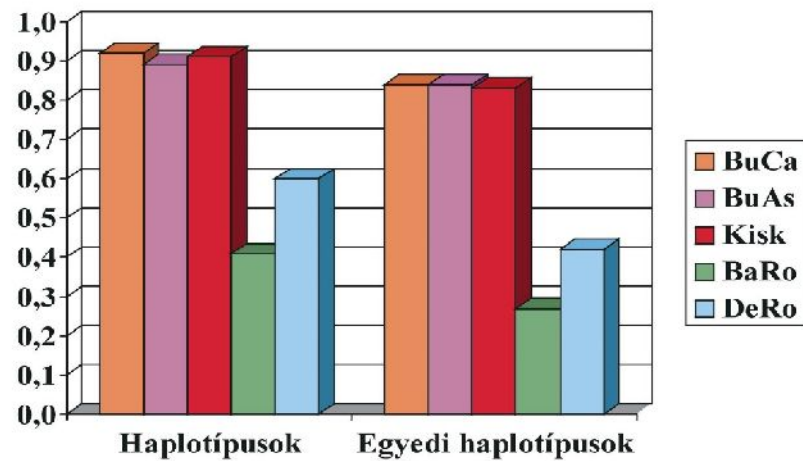


D7S820



Y-STR haplotípus megoszlás magyarországi populációban

- BuCa: 116, BaRo: 78, DeRo: 45, Ask: 37, Kisk: 23
 - Σ 299 férfi, 192 haplotípus (64%), 156 egyedi haplotípus (52%)



Y haplotípusok

YHRD

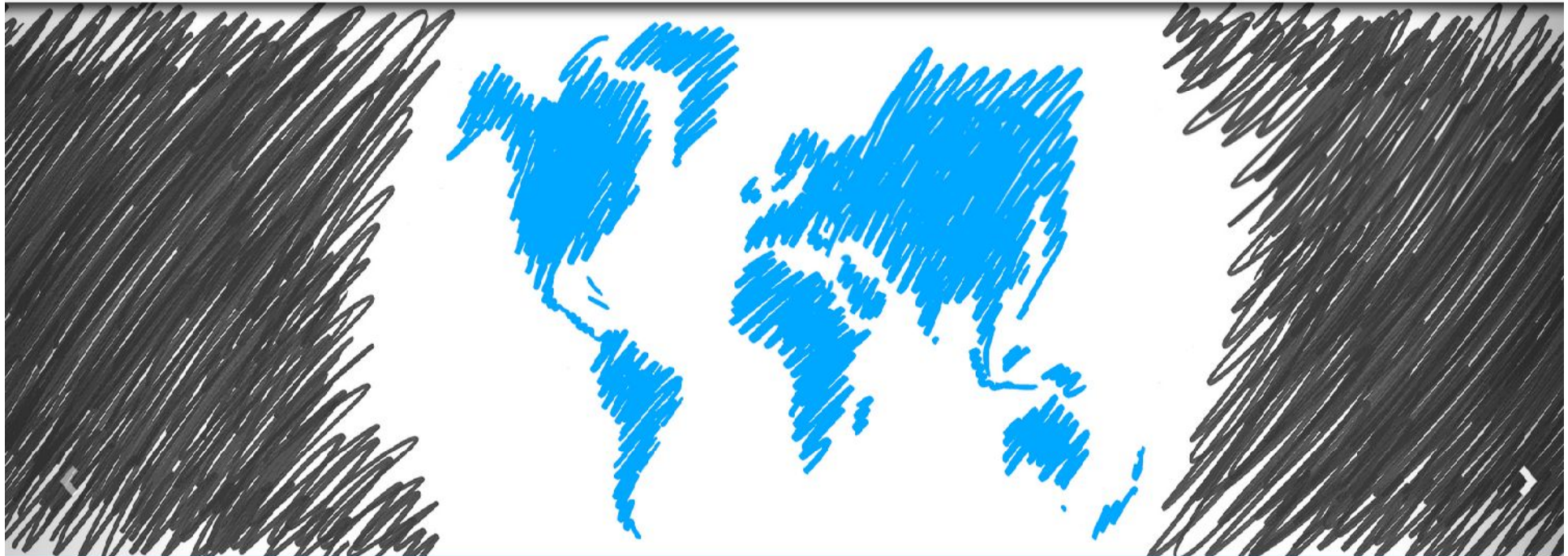
[Search the Database](#)

Tools ▾

Resources ▾

News & Updates **0**

Help & Support ▾



Aim & Objectives

Generate reliable Y-STR haplotype frequency estimates for Y-STR haplotypes to be used in the quantitative assessment of matches in forensic and kinship casework.



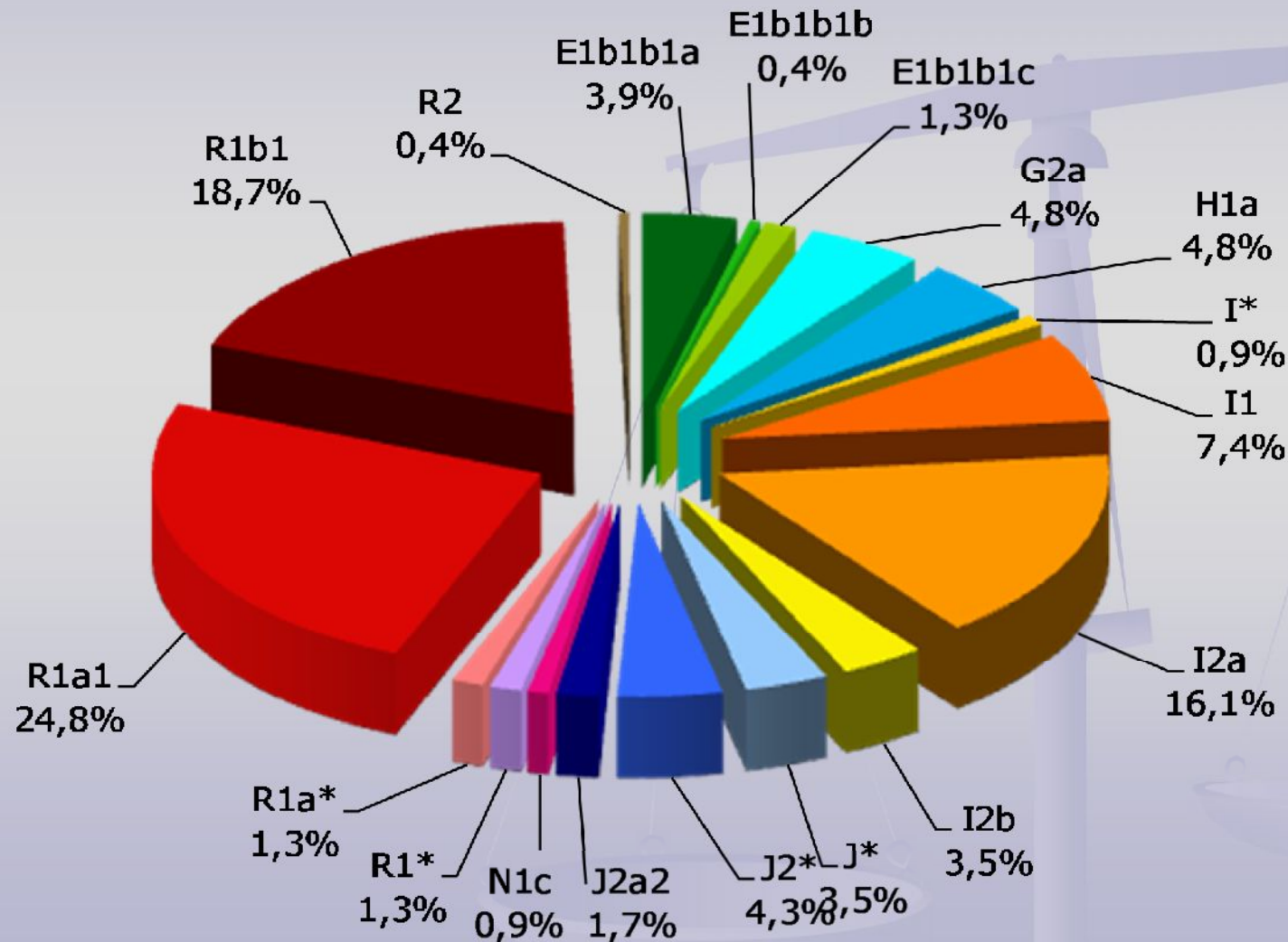
Assessment of male population stratification among world-wide populations as far as reflected by Y-STR and Y-SNP frequency distributions.



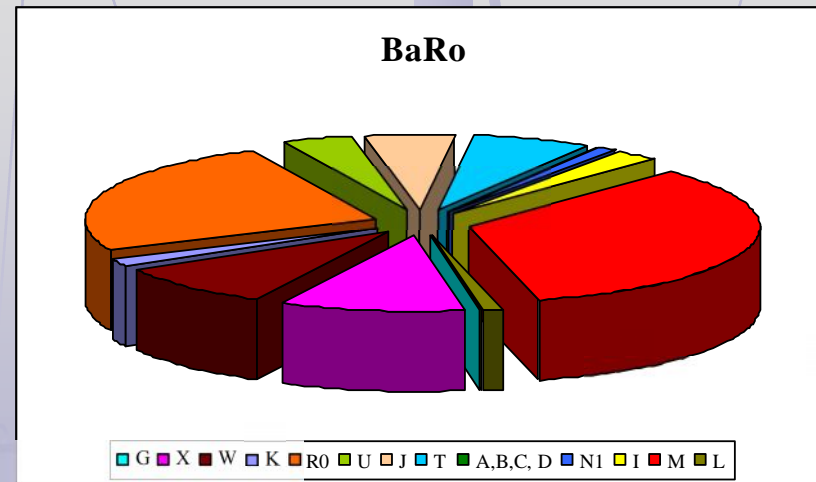
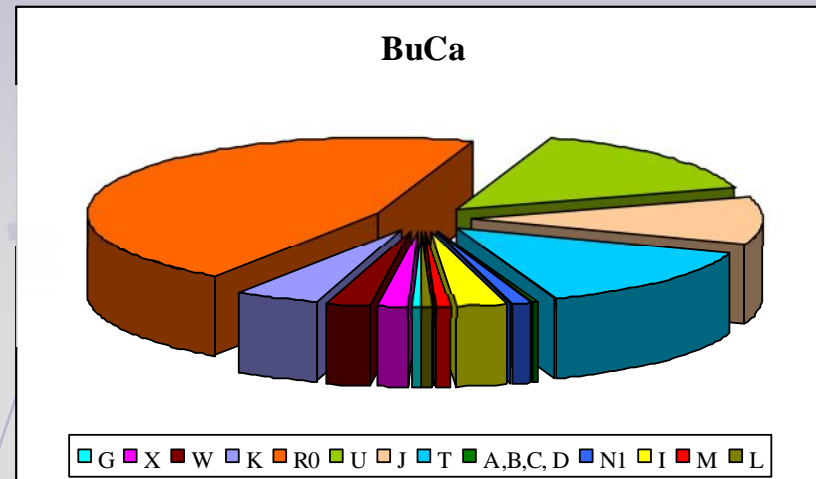
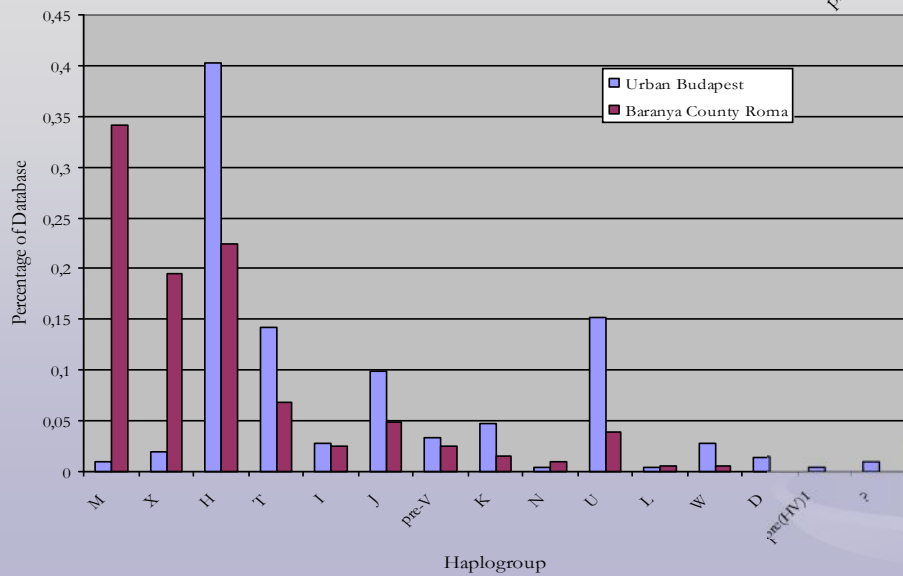
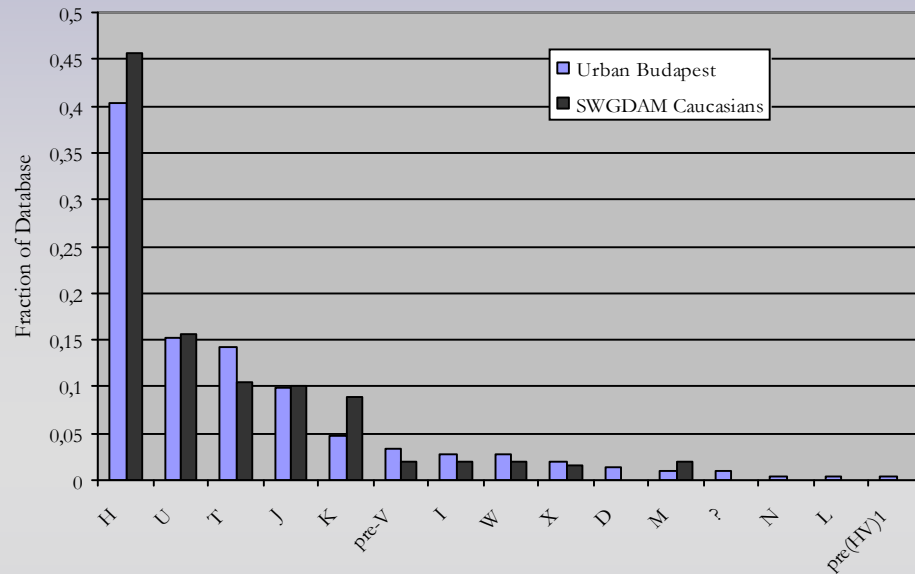
Provision of advanced tools and further resources concerning Y-STRs and Y-SNPs.



Y SNP haplocsoport megoszlás magyarországi populációban



mtDNS haplocsoport eloszlások



mtDNS haplotípusok

EMPOP mtDNA database, v3/R11

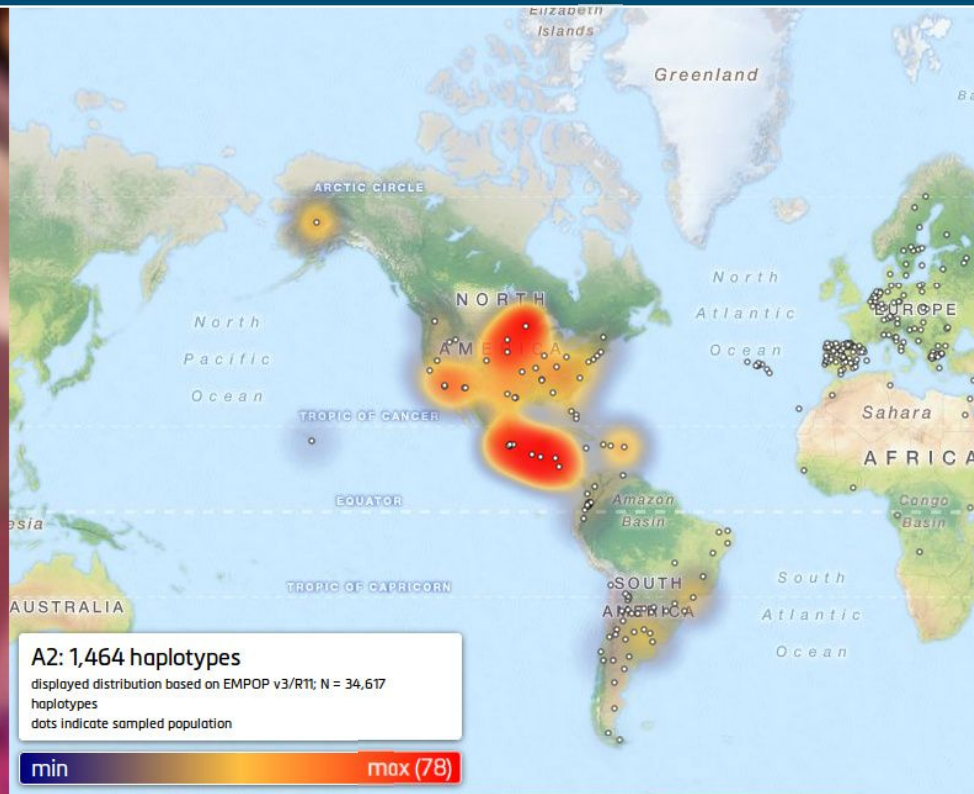


EMPOP v2.3 is still available [here](#) until Dec. 2015

email

Home Updates Use Methods Contribute Contributors Meet Terms of Use

QUERY POPULATIONS TOOLS



EMPOP generates conservative haplogroup estimates

EMPOP provides automated haplogroup estimates. These are based on maximum likelihood and minimal costs functions. For multiple possible haplogroups most recent common ancestor (MRCA) haplogroups are provided.

The geographical haplogroup patterns are provided via maps to visualize and better understand their distribution.



Populáció-statisztika - egyezési valószínűség (magyarországi populációk - 15 lokusz)

Budapest környéki referencia populáció (N=223)

PM = 1 : 4.8×10^{17} PE = 0.999999596

budapesti askenazi populáció (N=178)

PM = 1 : 1.6×10^{17} PE = 0.999999419

Baranya megyei roma populáció (N=206)

PM = 1 : 2.8×10^{16} PE = 0.999998552

kelet-magyarországi roma populáció (N=110)

PM = 1 : 7×10^{16} PE = 0.999999327

Irodalom

- Forensic DNA typing. Biology technology, and genetics of STR markers. Second edition. (2005) Butler, JM. Elsevier Academic Press, ISBN 0-12-147952-8
- Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. (2011) Butler, JM. Elsevier Academic Press, ISBN 978-0-12-374513-2
- Humán polimorf mikroszatellita (short tandem repeat) lókuszok igazságügyi genetikai vizsgálata magyar populációkban. PhD értekezés (2003) Füredi Sándor, ELTE, TTK
- Kutya eredetű anyagmaradványok igazságügyi genetikai vizsgálata. PhD értekezés (2006) Pádár Zsolt, SZIE, ÁOTK
- Mitokondriális DNS és mikroszatellita polimorfizmusok igazságügyi genetikai aspektusú vizsgálata a magyar népességben. PhD értekezés (2007) Egyed Balázs, ELTE, TTK
- A magyar populáció genetikai elemzése nemi kromoszómális markerek alapján. PhD értekezés (2012) Vágó-Zalán Andrea, ELTE, TTK



KÖSZÖNÖM A FIGYELMET