

Igazságügyi genetika



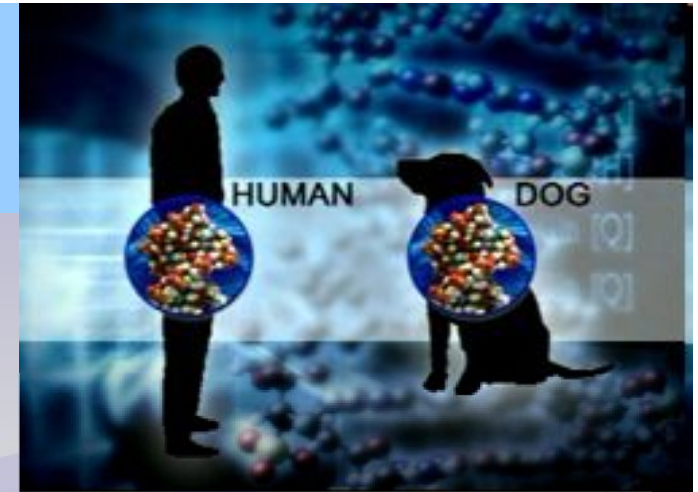
Nonhumán genetikai alapok

-

Esetismertetés # 1

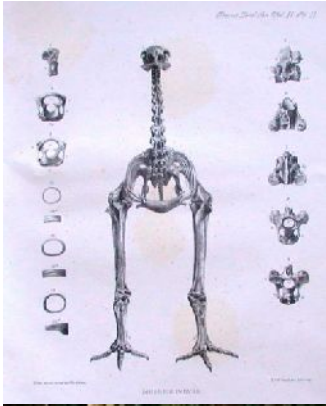
Pádár Zsolt

Előzmények



- 1986: DNS alapú egyedi azonosítás (törvényszéki alkalmazás – humán)
- PD: megkülönböztetési erély jelentős növekedése a vércsoport-tesztekéhez képest
- **Genom Projektek:** Humán– 2001; Kutya – 2005; Macska – 2007, ...
 - Közös (humán-állat) örökletes betegségek genetikai alapjainak megértése
 - Több százezer genomiális variáns azonosítása (SNP, STR, SSP)
 - Egyedi azonosítás (igazságügyi alkalmazás) – genetikai profil
 - Származás ellenőrzés
 - Diverzitás vizsgálatok (beltenyésztettség)
 - Evolúciós-, domesztikációs-, fajta kialakulási folyamatok tanulmányozása





Kutya és Macska Genom Projektek

- „Tasha” boxer
- 78 kromoszóma, ~19000 gén
- 70% humán megfelelő, 5% teljesen azonos
- ~350 örökletes betegség

- „Cinnamon” abesszin
- 38 kromoszóma
- ~250 közös örökletes betegség
- Fertőző humán betegségek modell állata – HIV/AIDS





Esettipusok



Sértett / Áldozat

- állatok bántalmazása
- eltűnt állatok maradványainak azonosítása
- tiltott árucikkek kereskedelme
 - ellopott állatok
 - orvvadászat

Elkövető

- tartási elégtelenségből fakadó balesetek
 - állatviadalok
- közlekedési balesetek okozása
- gazdasági károkozás
 - (fajtalanság)

Közvetett bizonyíték / „Tanú” / Nyomozati eszköz

- növényi és állati anyagmaradvány (levél, szőr, nyál, stb.) transzfer
- talajvizsgálat: mikrobiológiai összetétel – gomba, pollen, baktérium
 - halál idejének meghatározása – iü. entomológia, mikológia

Vadvilág - védett fajok

- **CITES**: **C**onvention on **I**nternational **T**rade in **E**ndangered **S**pecies of Wild Fauna and Flora
- Mintatípusok: trófea, virágok, elefántcsont szobrok, bőr készítmények, olajok, porok, gyógy-készítmények, ...
 - természetes halál, vagy illegális vadászat
 - faj- ill. egyedazonosítás,
 - milyen anyagból, milyen korú, ...
 - vad populációk beltenyészettsége
 - földrajzi eredet



Igazságügyi entomológia

1. Halál bekövetkezése óta eltelt idő becslése
2. Narkotikumok kimutatása bomló anyagmaradványokból gyűjtött rovarokból
3. Élősvi fertőzések kimutatása élelmiszerből



Bomlási stádiumok - kolonizáló rovarfajok

■ Friss stádium

- halál időpontja felfúvódás
- dongó, hús légy

■ Felfúvódott stádium

- mellkas felpuffadás, folyadék szivárgás a testnyílásokból
- házi légy, bogarak, sutabogarak (*Histeridae*),

■ Rothadó stádium

- bőrszakadás, gázképződés, eltorzult tetem
- ízeltlábúak és atkák, tömegesen táplálkozó rovarlárvák

■ Lebomlott stádium

- szövetek 90 %-a lebomlott
- Elsődlegesen bogarak

■ Csontváz stádium

- rovarok és baktériumok a csontváz alatt a talajban





Igazságügyi botanika



- Sértett – gyanúsított – helyszín kapcsolata
- Pollen vizsgálat (palinológia)
 - földrajzi és évszakos vonatkozás, temetés időpontja
- Tiltott termesztés (pl. *Cannabis sativa*), fakivágás
- A növények egyedi azonosításának problémái:
 - poliploidia, önporzás, növényi klónok
 - DNS izolálás: lignin, fenolos anyagok, poliszacharidok, huminsav
 - nuDNS, kloroplasztisz: STR, VNTR, SNP



Igazságügyi mikológia



- Gombák meghatározása, növekedése, struktúrája
 - Milyen fajta
 - Mennyi időbe telt, hogy ekkorára nőjön
 - Megzavarta-e valami a növekedését
 - Környezeti feltételek
 - Megváltoztatta-e a biológiai bűnjel állapotát
 - Patológia, mikotoxinok, hallucinogének, biológiai fegyver
 - ...



Talaj DNS-tipizálás

- Hagyományos talajvizsgálat:
 - Fizikai tulajdonságok - szín, méret
 - Szerves tartalom - FTIR spektroszkópia
 - Tenyésztés - baktérium, gomba (kontamináció!)
- Molekuláris módszerek
 - DNS izolálás – huminsavak, PCR inhibítorok
 - G+C tartalom – 4 nap, ultracentrifugálás, min. 50 mikrogramm
 - 16S rDNS amplifikálás
 - DGGE – 60 bp primerek, GC gazdag régió, kül. olvadási tulajd.
 - SSCP – intramolekuláris interakciók
 - ARDRA
 - RAPD – 10-15 rövid primer
 - AFLP – emésztés-ligálás, PCR, fluoreszcens jelölés

Esettanulmány 1.

Emberölés # 1

- 1994, Kanada: 32 éves eltűnt nő
 - közeli erdős részen: az eltűnt személy autója, a nőtől származó vérszennyeződésekkel
 - 8 km-re a nő házától: egy táskában a nő vérével szennyezett férfi bőrkabát és teniszcipő + fehér színű macskaszőrök
 - elsődleges gyanúsított: volt élettárs

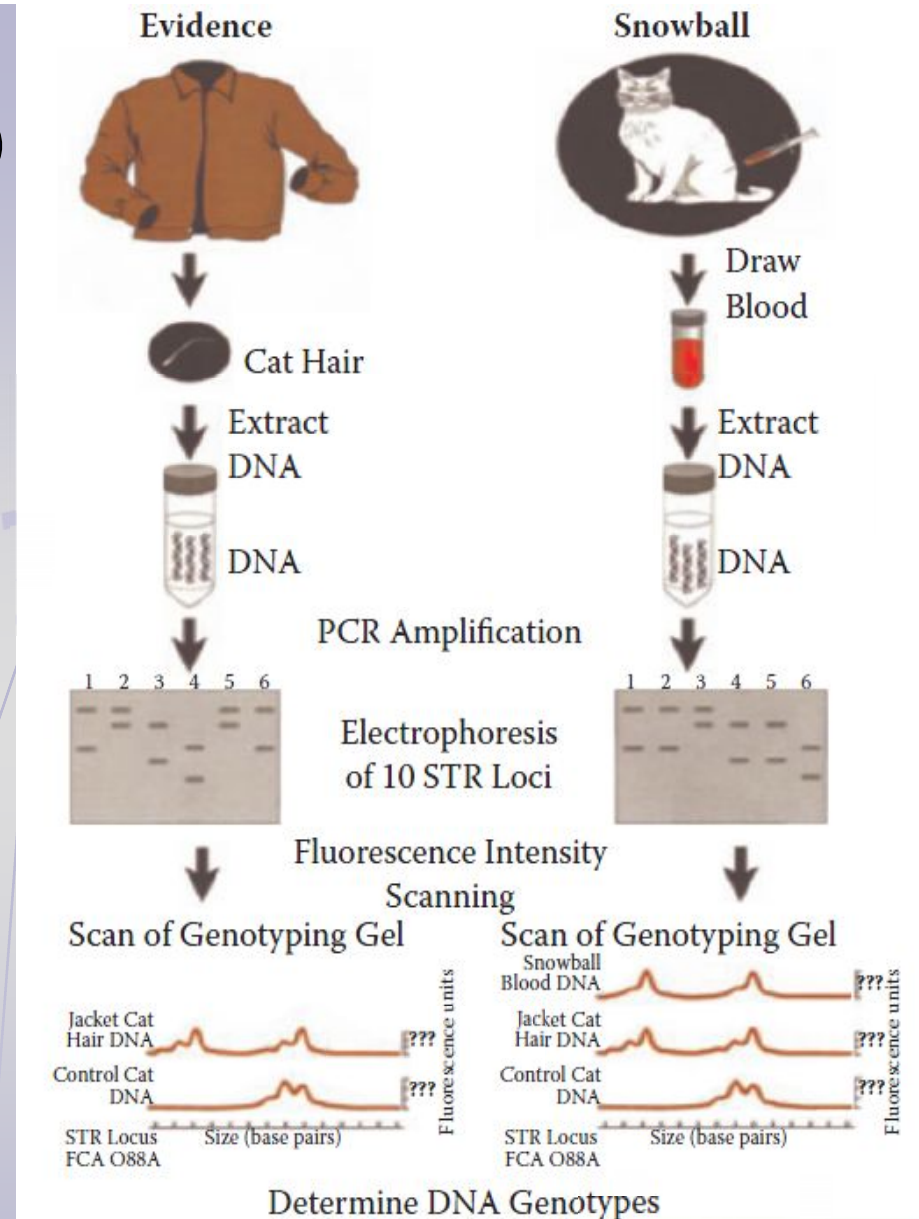
The Cat's Out Of The Bag: Feline Hairs Solve a Murder
by Peter Russell, Reed College
© 1997 Peregrine Publishers, Inc., All Rights Reserved

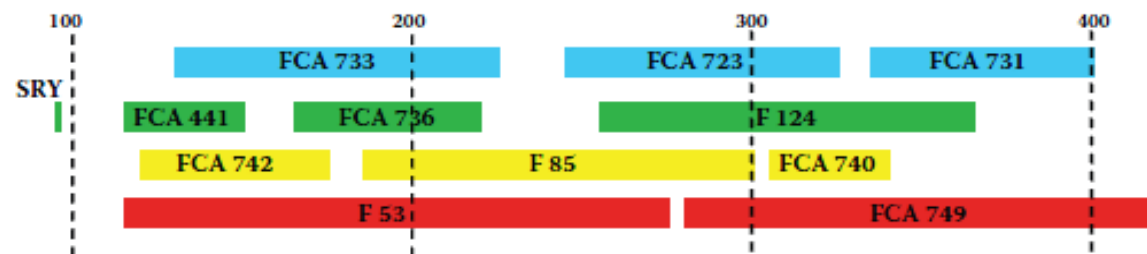


DNA fingerprinting (DNA typing) is a tool now widely used in forensics. There have been numerous instances of human DNA evidence being introduced in court, and now animal DNA evidence has led to a conviction in a murder case.

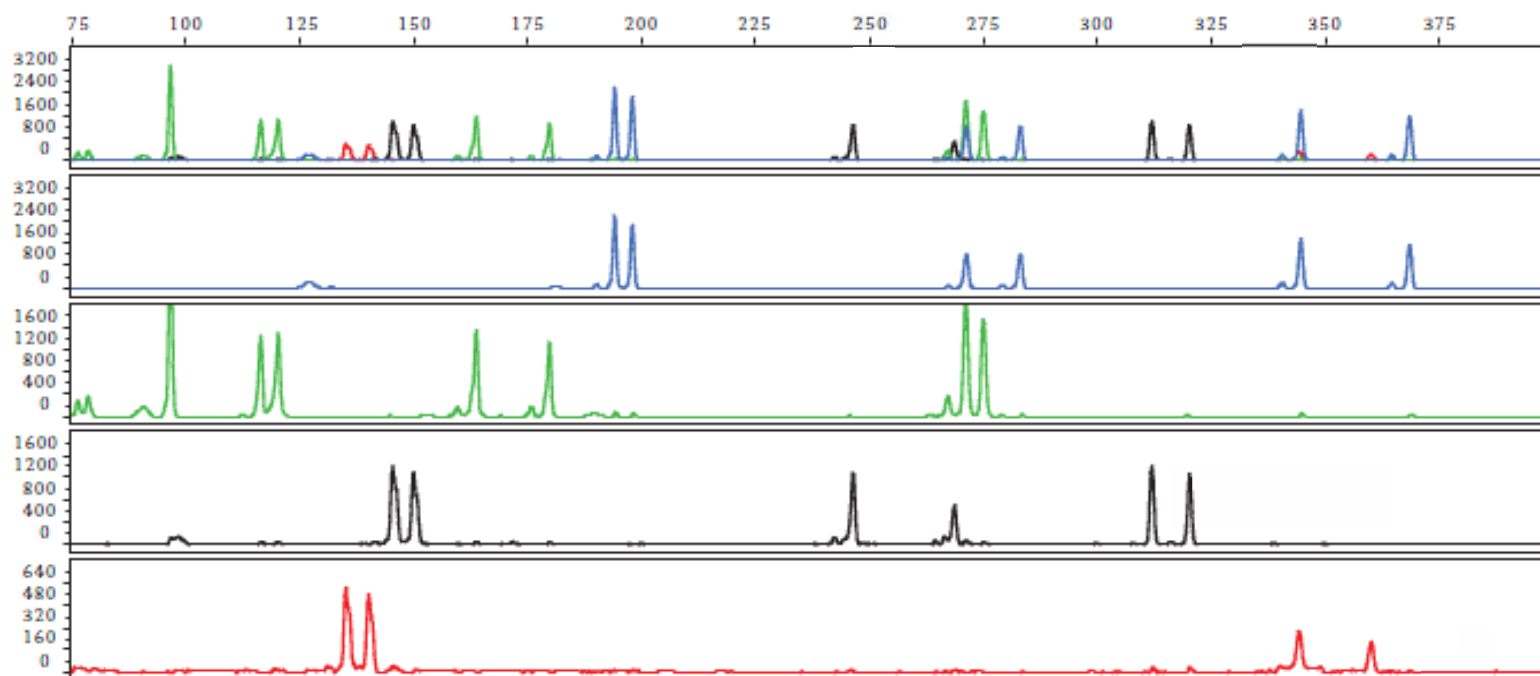
On October 3, 1994, 32-year-old Shirley Duguay, a mother of five, disappeared from her home on Prince Edward Island, Canada. Within a few days, her abandoned car was found; inside were blood stains matching her blood type. Three weeks later, about 8 km from Ms. Duguay's house, a military

team found a plastic bag containing a man's leather jacket. The jacket was determined to have Ms. Duguay's blood on it, and in the lining of the jacket were found 27 white hairs from a domestic cat. On May 6, 1995, Shirley Duguay's body was found in a shallow grave, and the victim's estranged boyfriend, Douglas Beaulieu, was arrested and charged with murder.





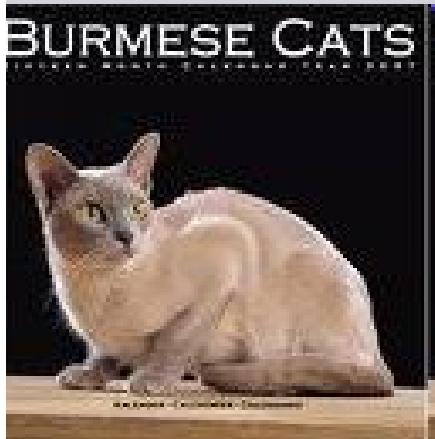
Color Figure 5.6 Fluorescent dyes and size ranges for domestic cat 12-plex as observed in a 1,043- member domestic cat genetic database generated from 38 cat breeds (Menotti-Raymond et.al., in preparation).



Color Figure 5.7 Electrophoretogram of PCR products of 12-member multiplex amplified from 4 ng of male genomic DNA (upper panel). Lower panels demonstrate PCR products labeled with fluorescent tags FAM (3 STR), VIC (3 STR, SRY gene), NED (3 STR), and PET (2 STR).

Fajtaazonosítás macskáknál...

- 120 történelmileg azonosított macskafajta
- Napjainkban 80 fő fajta 30 közkedvelt
- Fajták többsége az utóbbi 100 évben jött létre
- Fajták közti határ nem olyan erős (átkeresztezés esetenként megengedett)
- Egységesebb alléldiverzitás a fajták közt



Fajtaazonosítás?..

Populációs vizsgálatok!!!

1. Ősi

2. Terelő

3. Vadász

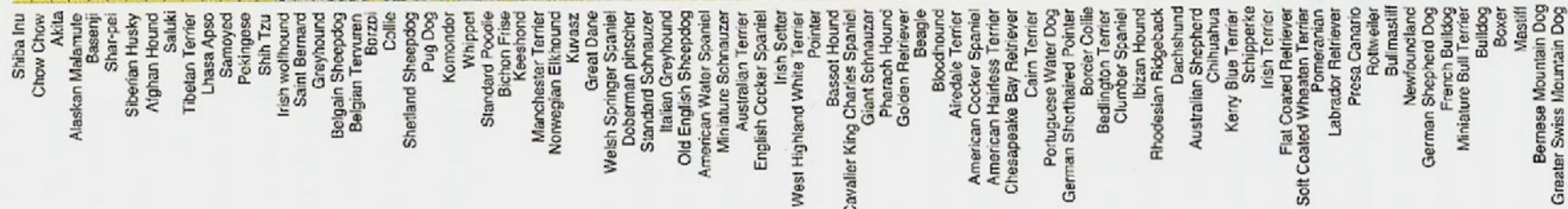
4. Védő



K=2

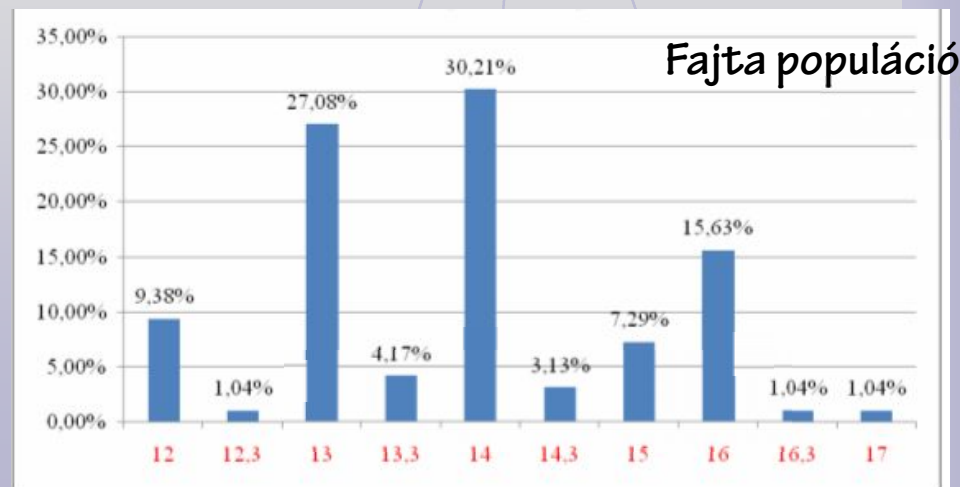
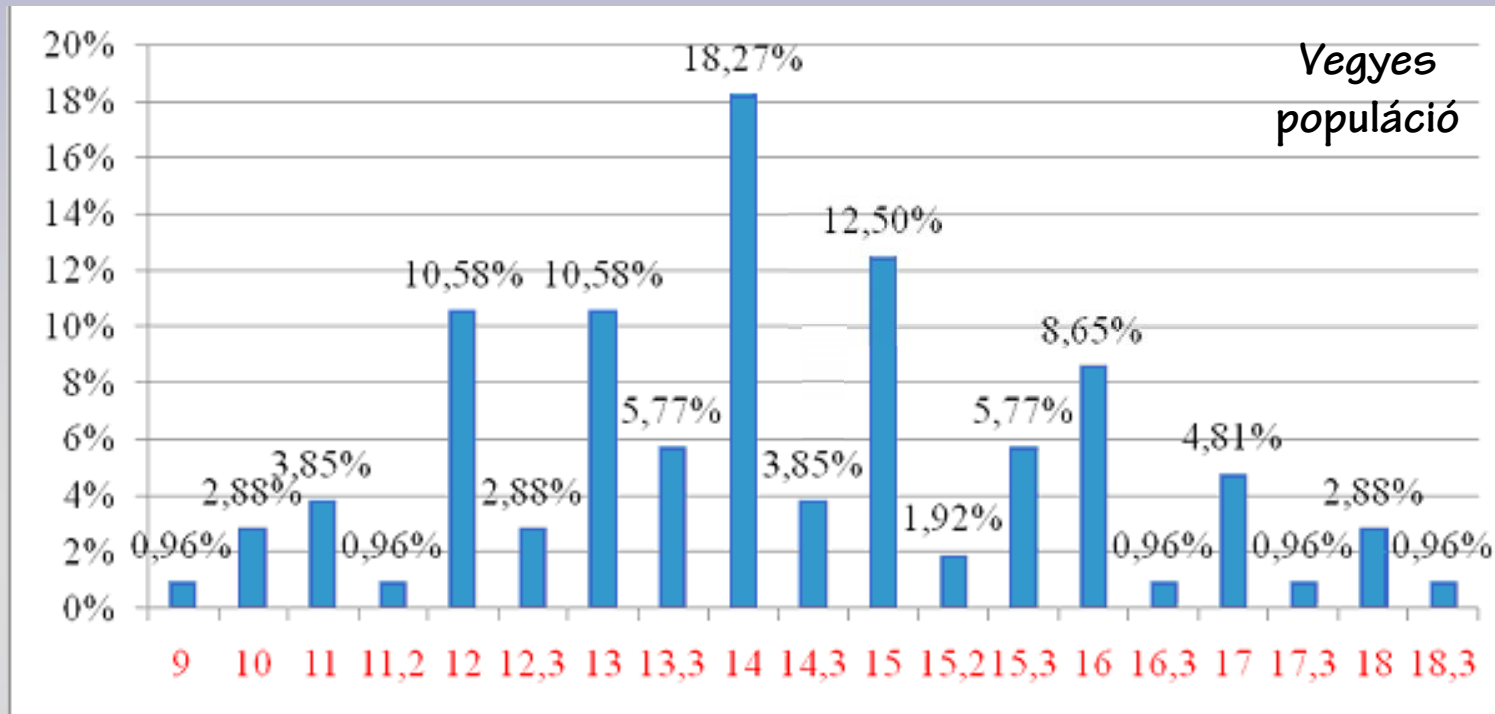
K=3

K=4



- 85 fajta (n=414)
- 95 mikroszatellita marker (dinukleotid repeat)
- 99%-ban helyes besorolás

Populációstatisztikai elemzések - allélgyakoriság



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
- Nonhuman DNA typing. Theory and casework applications. (2008) Ed. Heather Miller Coyle, CRC Press, ISBN 978-0-8247-2593-8
- Kutya eredetű anyagmaradványok igazságügyi genetikai vizsgálata. PhD értekezés (2006) Pádár Zsolt, SZIE, ÁOTK
- Kutya eredetű degradált anyagmaradványok azonosítása saját fejlesztésű mikroszatellita miniplexekkel és a szomatikus mutáció vizsgálata kutyaszőrben. PhD értekezés (2009) Zenke Petra, SZIE, ÁOTK
- Gímszarvasok egyedazonosítása és populációgenetikai vizsgálata autoszómás tetranukleotid mikroszatellita markerekkel PhD értekezés (2013) Szabolcsi Zoltán, ELTE, TTK

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET

