

# Določitev zunanjšega videza ljudi s preiskavami DNK

Vanja Kastelic\*, Katja Drobnič\*\*

Forenzične preiskave danes omogočajo ugotavljanje identitete osebe, ki je pustila biološko sled, le na podlagi predhodnega poznavanja profilov DNK osumljencev oziroma oseb, ki so v evidencah preiskav DNK. V Nacionalnem forenzičnem laboratoriju smo skozi več kot petnajstletno prakso postali na tem področju zelo uspešni. Kljub temu so in bodo obstajala kazniva dejanja, pri katerih bioloških sledi s kraja zločina ne moremo povezati z nobeno od nam znanih oseb. Za reševanje nekaterih od teh primerov se v forenzične preiskave vpeljuje nova metoda. Na njeni podlagi bomo lahko iz bioloških sledi določali zunanji videz osebe oziroma njene pigmentacijske lastnosti, kot so barva oči in las. Rezultate teh genetskih analiz bi lahko imenovali »genetski očividec«, saj imajo isto vlogo kot očividec kaznivega dejanja. V tujini so s tovrstnimi raziskavami razrešili že nekaj kriminalističnih primerov. Rutinsko pa jih izvaja le nizozemski forenzični inštitut, in še ta le pri težjih kaznivih dejanjih. Raziskave na tem področju bodo torej služile predvsem za usmeritve kriminalističnih preiskav v zmanjšan krog morebitnih osumljencev, saj bo delno znan njihov zunanji videz. Namen vpeljave tovrstnih raziskav v Nacionalni forenzični laboratorij policije je, da tudi v Sloveniji pristopimo k razreševanju težjih kaznivih dejanj z uporabo novih molekularnih genetskih metod, katerih rezultate bodo preiskovalci lahko uporabili kot novo analitično orodje za iskanje storilcev kaznivih dejanj.

Ključne besede: SNP-označevalci, vidne karakteristike človeka, biološke sledi

UDK: 343.983.2

## 1 Uvod

Ugotavljanje identitete storilcev kaznivih dejanj, žrtev masovnih nesreč, pogrešanih oseb ter sorodstvenih razmerij in naših prednikov danes skorajda ne mine brez uporabe forenzičnih genetskih preiskav, če so seveda na voljo ustrezne biološke sledi in primerjalni vzorci. Biološke sledi za uspešne genetske preiskave predstavljajo praktično vse biološke sledi, kot so kri, semenska tekočina, slina, epitelne celice, kosti, zobje in drugo. V rutinskih genetskih preiskavah se zdaj najpogosteje uporabljajo avtosomalni<sup>1</sup> STR-označevalci (angl. short tandem repeat)<sup>2</sup>, ki skupaj z amelogeninskim označevalcem za spol<sup>3</sup> predstavljajo forenzični genetski standard nacionalnih ali

kriminalističnih evidenc DNK oseb<sup>4</sup> in bioloških sledi (Asplen, 2009). Zaradi milijonskega števila profilov DNK<sup>5</sup> v različnih evidencah DNK in izrednega tehnološkega razvoja so avtosomalni STR-označevalci postali nenadomestljivi v rutinskih preiskavah. Vendar pa se za različne primere, kot so preiskave spolnih deliktov, ugotavljanje identitete umorjenega, arheološke raziskave in drugo, ki jih zaradi različnih težav ni mogoče razrešiti le z analizo avtosomalnih STR-označevalcev, uveljavljajo tudi druge forenzične genetske preiskave. Te so analize STR-označevalcev na spolnih kromosomih in analize mitohondrijske DNK<sup>6</sup> (Quintans, Alvarez-Iglesias, Phillips, Lareu in Carracedo, 2004; Lessing in sod., 2005). V novejšem času se uveljavljajo analize polimorfizmov posameznih nukleotidov (angl. single nucleotide polymorphism, SNP) za napovedova-

\* Vanja Kastelic, univ. dipl. mikrobiol., kriminalističnotehnična izvedenka v Nacionalnem forenzičnem laboratoriju, GPU Policija. MNZ.

\*\* Katja Drobnič, redna profesorica za forenzično znanost, FVV, UM; nadzornica kakovosti v Nacionalnem forenzičnem laboratoriju, GPU Policija. MNZ.

<sup>1</sup> Avtosom ali avtosomalni kromosom je vsak kromosom (nitasta struktura, sestavljena iz DNK in beljakovin) razen spolni. V človeški celici jih je 22, oštevilčeni so od 1 do 22 ter so pri moških in ženskah enaki. Spolna kromosoma sta dva, označena z Y in X (kromosom Y določa moški spol).

<sup>2</sup> Genetski označevalec predstavlja področje na DNK, katerega polimorfizem uporabljamo za zaznavo različnih polimorfizmov: fenotipskih, biokemijskih ali DNK.

<sup>3</sup> Amelogeninski označevalec je najpogosteje uporabljen fenotipski

marker v forenzičnih genetskih preiskavah za določanje spola iz biološke sledi. Leži na spolnih kromosomih, njegova struktura je odvisna od spolnega kromosoma (X ali Y), na katerem leži.

<sup>4</sup> Kriteriji za vnos oseb v evidence DNK so zakonsko določeni in različni med državami. Danes ima večina držav dovoljen vnos podatkov DNK osumljenih v evidenco DNK, ne glede na težo kaznivega dejanja.

<sup>5</sup> Profil DNK je zbirka analiziranih klasifikacijskih značilnosti, ki ležijo na specifičnih področjih DNK (področja STR-označevalcev). Sestavljen je iz numeričnih in črkovnih oznak. Vsaka oznaka predstavlja tip oblike oziroma alel na analiziranem področju DNK.

<sup>6</sup> Mitohondrijska DNK je DNK, ki je v mitohondrijih, to so organeli v vsaki celici, ki so odgovorni za "celično dihanje". Mitohondrijska DNK se navadno deduje samo po materini strani ne glede na spol potomca.

nje zunanjšega videza posameznika ali njegovega biogeografskega izvora (Budowle, 2004; Kayser in Schneidet, 2009), ki je povsem nov molekularni genetski pristop; rezultati teh genetskih analiz pa vodijo kriminalistične preiskovalce do ožjega kroga ljudi, ki so jim bili pred tem povsem neznani.

## 2 Molekularno-genetsko ozadje novih preiskav

### 2.1 Polimorfizem posameznega nukleotida

Humani genom je med ljudmi enak v 99,9 odstotkih. Sestavljen je iz treh milijard baznih parov<sup>7</sup>. Ocenjeno je, da obstaja več kot 10 milijonov možnih mest v DNK-verigi, kjer se lahko pojavi sprememba v eni bazi oziroma polimorfizem posameznega nukleotida (SNP)<sup>8</sup>. Te spremembe so lahko v obliki substitucije (zamenjave med bazami), insercije (dodatek ene baze) ali delecije (izguba ene baze). SNP-ji so torej tista mesta v humanem genomu, kjer se posamezniki zelo razlikujemo med seboj. SNP-jem pripisujejo kar devetdesetodstotno odgovornost za razlikovanje med posamezniki na nivoju DNK. Te manjše spremembe našega genoma pa imajo lahko velik vpliv na zunanji videz posameznika (Budowle in van Daal, 2008).

Visoka zastopanost SNP-jev v humanem genomu je bil eden od razlogov za veliko zanimanje za njih že v preteklosti, kljub njihovi preprostosti in dokaj nizki informativnosti. Raznolikost večine SNP-jev namreč temelji le na dveh tipih oziroma bialelnem polimorfizmu<sup>9</sup>. Vendar pa je njihova dodatna prednost, da imajo zelo nizko mutacijsko stopnjo, kar pomeni, da isti tip SNP-ja ostaja enak preko več generacij. Zato so zelo primerni tudi za določanje sorodstvenih povezav in ugotavljanje evlucijskega izvora posameznika (Budowle, 2004). Poleg tega pa je analiza SNP-označevalcev zelo primerna za preiskave bioloških sledi z močno razgrajeno DNK, kar se je izkazalo za zelo uspešno tudi pri ugotavljanju identitete žrtev z ruševin terorističnega napada na stolpnici World Trade Centra v New Yorku (Mertens, 2009). Zdaj pa se je zanimanje za preiskave SNP-jev še povečalo zaradi možnosti njihove uporabe pri napovedovanju vidnih karakteristik ljudi.

<sup>7</sup> Bazni par je par nukleotidnih baz na sosednjih komplementarnih verigah DNK, ki sta med seboj povezani.

<sup>8</sup> Nukleotidi so osnovni gradniki DNK, ki vsebujejo fosfatni ostanek, sladkor in organske baze. Ločimo štiri tipe nukleotidov, ki se razlikujejo le v vrsti organske baze, ki ga sestavljajo.

<sup>9</sup> Bialelni polimorfizem pomeni, da obstajata le dve obliki DNK na preiskovanem področju. Za posamezen STR-označevalec praviloma obstaja več kot deset oblik. Alel je alternativna oblika gena (zaporedja DNK) na določenem genetskem lokusu.

### 2.2 Zunanji videz posameznika

Zunanji videz posameznika oziroma lastnosti posameznika, ki bi jih bilo v bližnji prihodnosti mogoče rutinsko preiskovati v forenzične namene, so predvsem obarvanost oziroma pigmentacija oči, las in kože ter struktura obraza. Napovedovanje telesne višine pa se je izkazalo za manj zanesljivo (Kayser in de Knijff, 2011). Zunanji videz posameznika je seveda zapisan v njegovem genomu, kar v vsakdanjem okolju nakazujejo identični dvojčki s svojo podobo. Zunanji videz je zelo kompleksna lastnost, saj nanj vpliva večje število različnih genov, med katerimi potekajo medsebojne interakcije in njihove interakcije z okoljem (Mertens, 2009).

### 2.3 Pigmentacijske lastnosti ljudi

Raznolikost v obarvanosti oči, las in kože je rezultat različne oblike in količine melanina, ki je naš glavni pigment in se sintetizira v specializiranih veziklih (melanosomih) znotraj pigmentacijskih celic (melanocitah). Znani sta dve glavni obliki melanina, in sicer eumelanin, ki je obarvan rjavo-črno, ter feomelanin, ki je obarvan rumeno-oranžno. Večina raziskanih genov na tem področju deluje ravno na sintezo melanina oziroma sintezo melanosomov, kar je ključno pri izražanju pigmentacijskih lastnosti (Passeron, Mantoux in Ortonne, 2005). Ravno pravičen izbor določenih genov pa je ključen za natančnejše in pravilnejše napovedovanje zunanjšega videza posameznika na podlagi bioloških sledi.

## 3 Analize novih označevalcev

Različne metode za analiziranje novih označevalcev oziroma SNP-jev se na področju določanja zunanjšega videza posameznika v grobem delijo glede na indirekten in direkten pristop. Indirektni pristop vključuje preiskave specifičnih SNP-označevalcev, ki posameznika dokaj natančno uvršča v njegovo etnično skupino. Torej deloma nakazuje posameznikovo lastnost glede na poznavanje zunanjšega videza njegovih prednikov. Znano je na primer, da je svetlejša polt bolj domena ljudi s severnega dela Evrope kot tistih z drugih predelov sveta (Budowle in van Daal, 2008).

Direktni pristop pa vključuje preiskovanje čim večjega števila genov in znotraj njih specifičnih SNP-označevalcev, ki skupno vplivajo na posamezno vidno lastnost posameznika. Do danes je večina raziskav SNP-označevalcev na področju zunanjšega videza narejenih na pigmentacijskih genih, ki v medsebojnih interakcijah določajo specifično barvo oči, las in kože. Prve uspešne preiskave na področju t. i. pigmentacijskih genov so izvedli na miših, kjer so raziskovalci preučevali obarvanost njihove dlake. Pri miših so do sedaj določili približno 120 genov, medtem ko so jih le približno trideset povezali tudi z redkimi pigmentacijskimi obolenji pri ljudeh. Med njimi je do sedaj raziskanih okoli dvanajst genov, ki bolj specifično

vplivajo na pigmentacijske lastnosti in jih je mogoče uporabiti za forenzične preiskave (Branicki, Brudnik, Draus-Barini, Kupiec in Wojas-Pelc, 2008; Kayser in Schneider, 2009).

Dosedanje svetovne raziskave, ki so bile izvedene na omejenem številu populacijskih vzorcev, kažejo visoko stopnjo pravilne napovedi za pigmentacijske lastnosti, kot so barva oči in las. Vendar jih zaradi pomanjkanja populacijskih podatkov trenutno večina forenzičnih laboratorijev še ne uporablja rutinsko. Za dokončno potrditev posameznikove povezanosti s pigmentacijskimi lastnostmi je tako treba opraviti raziskave v čim več različnih populacijah, da bi se ugotovilo, če izbrani SNP-ji zadostijo kriterijema populacijske genetike. S tem bi bila omogočena neposredna primerjava rezultatov med različnimi populacijami po svetu.

#### 4 Vpeljava nove metode v Nacionalni forenzični laboratorij

V Nacionalnem forenzičnem laboratoriju smo za določanje zunanega videza posameznika s preiskavo SNP-označevalcev uporabili direktni pristop. V ta namen smo uvedli novo metodo, t. i. SNaPshot™ (Applied Biosystems), ki je po svetu precej razširjena za analize SNP-označevalcev (Sanchez in Borsting, 2003; Sobrino, Brion in Carracedo, 2005). Metoda je namreč zelo občutljiva, ponovljiva, robustna in fleksibilna ter cenovno primerna za analize v forenzičnih laboratorijih, saj temelji na enaki tehnologiji, kot jo že uporabljamo v našem laboratoriju. Za analizo z omenjeno metodo smo v našo raziskavo vključili dvanajst SNP-označevalcev za določanje barve oči in las, za katere je znano, da so zelo polimorfni znotraj evropske populacije. V nasprotju s predhodnimi raziskavami smo uspeli dvanajst SNP-označevalcev združiti v eno reakcijo. S tem smo zmanjšali porabo biološkega materiala pri analizi in hkrati skrajšali čas za analize za napovedovanje pigmentacijskih lastnosti.

#### 5 Etični vidik novih preiskav

Test za napoved zunanega videza mora temeljiti na lastnostih, ki so običajno opažene in jih je težko zakriti. Z etičnega vidika kljub temu, da so vidne s prostim očesom, nekaterih genetskih podatkov ne moremo imeti za javne, kajti mnogi geni za pigmentacijo so tesno povezani z napovedovanjem rizičnosti za kožnega raka (Sturm, Teasdale in Box, 2001). Forenzična skupnost teh SNP-označevalcev ne sme uporabljati in jih tudi ne uporablja za napoved vidnih značilnosti, prav tako tudi ne SNP-označevalcev, ki so povezani s kakršnimi koli drugimi bolezenskimi stanji.

Že v začetkih omenjenih raziskav v povezavi s pigmentacijskimi lastnostmi ljudi so raziskovalci težili k čim manjšim po-

vezovanjem z genskimi označevalci, ki lahko podajajo npr. specifična bolezenska stanja posameznika (Kayser in Schneider, 2009). Hkrati pa je treba poudariti, da do sedaj še niso odkrili, da bi bila pojavnost SNP-jev, vključenih v našo raziskavo, povezana s pojavnostjo neke bolezni, ampak le s pigmentacijskimi lastnostmi. Če bi se v prihodnje izkazalo, da je kateri izmed njih povezan z bolezenskim stanjem, ga bomo morali izločiti iz nadaljnje uporabe za določanja pigmentacijskih lastnosti.

#### 6 Razprava

Z današnjo odprtostjo državnih mej in večjo pretočnostjo ljudi se lahko večja tudi število kaznivih dejanja, tudi najhujših, v katerih so nam storilci lahko popolnoma neznani. Najboljša načina za uspešno razreševanje kaznivih dejanj sta dva, in sicer nadaljnja izmenjava podatkov profilov DNK med državami, ki je v veljavi že nekaj let, ter uvajanje najnovejših forenzičnih metod v forenzične laboratorije. Ena od teh forenzičnih metod je zagotovo preiskovanje pigmentacijskih lastnosti posameznika iz bioloških sledi, najdenih na kraju kaznivega dejanja. Te preiskave se ponekod že uporabljajo v kriminalističnih preiskavah in so omogočile razrešiti že več različnih primerov kaznivih dejanj po vsem svetu (Forensic DNA ethics, 2012). Kot primer lahko navedemo uspešno raziskano kaznivo dejanje posilstva in umora 16-letne deklice na Nizozemskem že leta 1999; forenzično preiskavo je vodil Peter de Knijffe. Na prošnjo tamkajšnje policije in seveda na podlagi zavarovane semenske tekočine so lahko določili pigmentacijske lastnosti donorja omenjene biološke sledi, ki so pokazale delen zunanji videz storilca krutega kaznivega dejanja. S tem je predstavljen možnost, kako bi lahko forenzične genetske preiskave služile pri bolj specifičnem usmerjanju preiskovanja kaznivih dejanj na podlagi zmanjšanja kroga osumljenцев, saj so z njimi podane določene vidne karakteristike storilca. Obenem so preiskave pomirile etnična trenja na območju, kjer je bila deklica umorjena, saj so nakazale, naj bi bil storilec domačin in ne priseljencec iz vzhodnih držav. To pa je bil tudi povod za pobudo nizozemske vlade sodnim institucijam za zakonsko ureditev teh preiskav, kar se je zgodilo že maja 2003 (Forensic DNA ethics, 2012).

#### 7 Sklepne misli

Vedno novejša znanja in tehnologije na področju genetike in molekularne biologije omogočajo učinkovitejše in hitreje analize forenzičnih preiskav. Komaj dvajset let od prvih analiz DNK je forenzična tipizacija DNK ena ključnih pri obsodbi ali oprostitvi osumljenca, seveda ko nam je njegov DNK-profil znan. Napredek na področju preiskav DNK je neverjeten in mu sledimo tudi v Nacionalnem forenzičnem laboratoriju. Ravno zato smo, zaenkrat v raziskovalne namene, uvedli novo občutljivo metodo za ugotavljanje najverjetnejšega zunanega

videza osebe oziroma njenih pigmentacijskih lastnosti oči in las. Naše dosedanje raziskave za slovensko populacijo so zelo vzpodbudne, saj smo pravilno obarvanost oči in las napovedali z verjetnostjo med 80 in 96 %. Informacije o zunanjem videzu posameznika bodo v prihodnje, ko bodo opravljene še dodatne validacijske študije, služile predvsem za zmanjšanje kroga mogočih osumlencev in s tem vodile kriminalistične preiskovalce do najverjetnejših storilcev, predvsem pri težjih kaznivih dejanjih.

## 8 Literatura

1. Asplen, C. (2009). ENFSI Survey on the DNA Profile Inclusion, Removal and Retention of Member States Forensic DNA Database: GTH-Governmental Affairs, Washington, str. 1–11.
2. Branicki, W., Brudnik, U., Draus-Barini, J., Kupiec, T., Wojas-Pelc, A. (2008). Association of the SLC45A2 gene with physiological human hair colour variation. *Journal of Human Genetics*, 53, str. 966–971.
3. Budowle, B. (2004). SNP typing strategies. *Forensic Science International*, 146 Suppl.: str. 139–142.
4. Budowle, B., van Daal, A. (2008). Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques*, 44, str. 603–610.
5. Forensic DNA ethics (2012). Pridobljeno 25. januarja 2012, <http://forensicdnaethics.com/resources/cases?start=8>
6. Kayser, M., Schneider, P. M. (2009). DNA-based prediction of human externally visible characteristic in forensics: motivations, scientific challenges and ethical considerations. *Forensic Science International Genetics*, 3, str. 154–161.
7. Kayser, M., de Knijff, P. (2011). Improving human forensic through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nature Reviews – Genetics*, 11(12), str. 179–192.
8. Lessing, R., Zoledziewska, M., Fahr, K., Edelmann, J., Kostrzewa, M., Dobosz, T., Kleemann, W. J. (2005). Y-SNP genotyping – a new approach in forensic analysis. *Forensic Science International*, 154(2-3), str. 128–136.
9. Mertens, G. (2009). Forensic DNA Typing: Quo Vadis? *The open forensic science journal*, 2, str. 21–28.
10. Passeron, T., Mantoux, F., Ortonne, J. (2005). Genetic disorders of pigmentation. *Clinics in Dermatology*, 23(1), str. 56–67.
11. Quintans, B., Alvarez-Iglesias, V., Phillips, C., Lareu, M. V., Carracedo, A. (2004). Typing of mitochondrial DNA codin region SNPs of forensic and anthropological interest using SNaPshot minisequencing. *Forensic Science International*, 140(2-3), str. 251–257.
12. Shancez, J., Borsting, C. (2003). Multiplex PCR and minisequencing of SNPs – a model with 35 Y chromosome SNPs. *Forensic Science International*, 137(1): str. 74–84.
13. Sobrino, B., Brion, M., Carracedo, A. (2005). SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Science International*, 154(2-3), str. 181–194.
14. Sturm, A. R., Teasdale, D. R., Box, F. N. (2001). Human pigmentation genes: identification, structure and consequences of polymorphic variation. *Gene*, 277(1-2), str. 49–62.

## Determination of the Physical Appearance of Persons by Means of DNA Investigations

Vanja Kastelic, BSc. in Microbiol., criminal and technical expert in the National Forensic Laboratory, General Police Directorate. Ministry of the Interior

Katja Drobnič, Full Professor of Criminal Technics, Faculty of Criminal Justice and Security, University of Maribor; quality supervisor in the National Forensic Laboratory, General Police Directorate. Ministry of the Interior

Today, forensic investigation allows the identification of biological traces based only on knowledge of the DNA profiles of suspects or persons found in DNA investigation records. The National Forensic Laboratory has been very successful in the identification of biological traces. Nevertheless, there are, and will be, criminal offences in which biological traces from a crime scene cannot be linked to any known person. In order to solve some of these cases, a new method is being introduced to forensic investigations. Based on the new method, the physical appearance of the person, or their pigmentation characteristics, such as eye and hair colour, could be determined from biological traces. The results of these genetic analyses could be termed 'genetic eyewitnesses', as they will have the same role as eyewitnesses to criminal offences. Such investigations abroad have helped to solve a number of criminal cases. However, only the Netherlands Forensic Institute performs these routinely, and only for serious criminal offences. Research in this area will be mainly used to focus criminal investigations on a narrower range of suspects, as their physical appearance will be partly known. The introduction of such investigations to the National Forensic Laboratory is intended to enable Slovenia to approach solving serious criminal offences by using new molecular techniques, the results of which will be used by investigators as a new analytical tool to identify criminals.

Key words: SNP markers, visual characteristics of people, biological traces

UDC: 343.983.2