

## DNA ako dôkaz

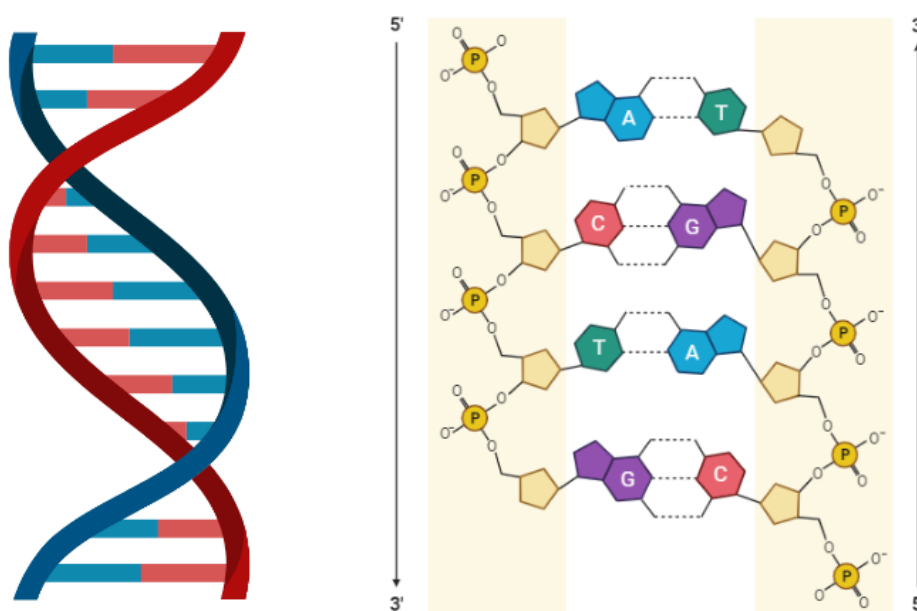
RNDr. Regina Sepšiová, PhD.

### Ukážka z pripravovaných učebných textov

Forenzná genetika je vedná disciplína, v ktorej využívame poznatky genetiky a analýzy DNA na identifikáciu osôb a ako dôkazový materiál v súdnych procesoch.

#### Základná charakteristika molekuly DNA

Molekula DNA je biopolymér zložený z opakujúcich sa jednotiek. Ich základnými časťami sú zvyšok kyseliny fosforečnej, deoxyribóza a dusíkatá báza, ktoré sa v DNA vyskytujú 4 typov: adenín (A), cytozín (C), tymín (T) a guanín (G). Dve vlákna DNA sú spojené do dvojzávitnice vodíkovými väzbami medzi dusíkatými bázami (adenín sa spája s tymínom 2 vodíkovými väzbami a cytozín s guanínom tromi). Vlákna DNA v dvojzávitnici majú opačnú orientáciu, to znamená, že pokiaľ jedno vlákno má na jednom konci voľnú 5'-fosfátovú skupinu a na druhom konci 3'-OH (hydroxylovú) skupinu, druhé vlákno má smer opačný. Keďže cukor-fosfátová zložka je v každej jednotke rovnaká, na zápis genetickej informácie používame iba skratky dusíkatých báz (ATGC) a mohli by sme teda povedať, že genetická informácia je zapísaná ako štvorpísmenkový kód (obr. 1).



Obr. 1: Schéma štruktúry molekuly DNA.

## Analýza ľudskej DNA

Ľudská genetická informácia pozostáva z približne  $3 \cdot 10^9$  bázových párov (opakujúcich sa jednotiek). Poradie jednotlivých nukleotidov označujeme pojmom „sekvencia DNA“ a metóda, ktorou vieme toto poradie určiť sa nazýva „sekvenovanie“. Úplná sekvencia ľudskej DNA bola odhalená vďaka projektu HUGO, ktorý bol ukončený v roku 2002. Zistilo sa okrem iného, že DNA dvoch nepříbuzných ľudí sa odlišuje len v 0,1-0,3 % pozícií z celkového počtu troch miliárd. Je tiež zaujímavé, že jednovaječné dvojčatá majú úplnú zhodu v primárnej sekvencii DNA (v poradí nukleotidov).

Gény sú oblasti DNA, ktoré kódujú (zabezpečujú tvorbu) nejakého funkčného produktu (napr. proteín s funkciou slinnej amylázy). Gény tvoria len približne 1,5 % celkovej genetickej informácie človeka (predpokladá sa, že človek má iba 20-22 tisíc proteín-kódujúcich génov). Zvyšná časť genetickej informácie (98,5 %) je tzv. negénová alebo nekódujúca DNA. Niektoré z týchto oblastí majú regulačnú funkciu a regulujú prepis génov, ale všeobecne sa o funkcii viacerých častí nekódujúcej DNA ešte veľa nevie.

Ak chceme porovnávať DNA dvoch ľudí a odlíšiť dvoch ľudí na základe analýzy DNA, musíme sa zmerať na pozície, ktoré sú medzi ľuďmi odlišné. Takéto pozície nazývame polymorfizmy DNA. Tieto zámeny (odlišnosti) však nepredstavujú mutácie, ktoré by napr. spôsobovali nejaké ochorenie.

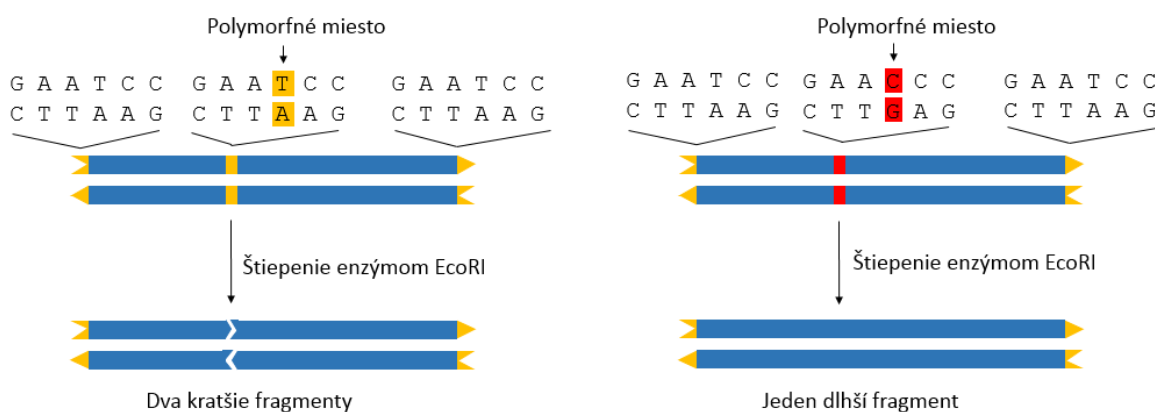
Jedným typom polymorfizmu sú sekvenčné polymorfizmy, často označované aj ako jednonukleotidové polymorfizmy - SNP (z angl. *single nucleotide polymorphism*) (Obr. 2). Znamená to, že ak napr. jedinec má na určitom mieste adenín, niekto iný má presne na tejto pozícii v DNA guanín.

- - - AGACTAAGACATT - - -  
- - - AGACTAAGGCATT - - -

Obr. 2: Znázornenie sekvenčného polymorfizmu.

Jednou z metód, vďaka ktorej vieme určiť rozdiely v sekvencii DNA medzi rôznymi ľuďmi, je metóda analýzy RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) - polymorfizmov dĺžky reštrikčných fragmentov.

Pri tejto metóde využívame enzýmy, ktoré sú izolované z baktérií a majú vlastnosť, že vedia špecificky poštíeť (rozseknúť) DNA na základe toho, aká sekvencia sa v danej oblasti nachádza (obr. 3). Napr. enzým EcoRI poštíe DNA len vtedy, ak rozpozná za sebou idúce nukleotidy GAATTC. Ak je práve takéto miesto súčasťou DNA polymorfizmu, môže sa stať, že u jedného človeka sa nachádza na danej pozícii tymín a enzým molekulu DNA poštíe. Niektorí iní môžu mať v danej pozícii namiesto tymínu cytozín a jeho DNA sa enzýmom v tomto mieste nepoštíe. Rozdielne poštepená DNA oboch ľudí je potom základom pre ďalšiu analýzu, vďaka ktorej je možné tieto dve osoby s definitívnou platnosťou odlišiť.



Obr. 3: Znázornenie polymorfizmu dĺžky reštrikčných fragmentov (RFLP).

**Akým spôsobom sa poštepená ľudská DNA ďalej analyzuje, ako ju dokážeme zviditeľniť a využiť na identifikáciu konkrétnej osoby, či aké ďalšie triky forenzní genetici využívajú pri svojej práci, sa dozviete v prednáške „DNA ako dôkaz“ a v našej pripravovanej publikácii.**