

Genetyka i Prawo

KWARTALNIK NAUKOWY
ZAKŁADU GENETYKI
MOLEKULARNEJ
I SĄDOWEJ

numer 1(8) | Wiosna 2010

Uniwersytet Mikołaja Kopernika
Collegium Medicum
Katedra Medycyny Sądowej



ZAKŁAD GENETYKI
MOLEKULARNEJ I SĄDOWEJ
Uniwersytet Mikołaja Kopernika
Collegium Medicum – Katedra Medycyny Sądowej

Botanika sądowa

Coraz skuteczniejsza broń w walce z przestępczością. Jakie możliwości dla współczesnej kryminalistyki niesie za sobą ta dziedzina? O tym opowiada dr Heather Miller Coyle z amerykańskiego Departamentu Nauk Sądowych Uniwersytetu New Haven.

Drodzy Czytelnicy

Ślady biologiczne pochodzenia roślinnego stosunkowo rzadko rosną do rangi kluczowych dowodów w sprawach sądowych. Są jednak sytuacje, w których identyfikacja roślin może przynieść niemałe korzyści wymiarowi sprawiedliwości i organom ścigania. Jest to przyczyna, dla której wśród nauk sądowych pojawiła się odrębna dyscyplina – botanika sądowa. Od dawna wykorzystuje ona szereg danych z zakresu budowy morfologicznej roślin w celu dokonania ich klasyfikacji i określenia przynależności gatunkowej. W ciągu ostatnich kilku lat botanicy sądowi coraz częściej sięgają jednak po metody badań DNA, które pozwalają nie tylko na ustalenie gatunku, ale również na określenie przynależności osobniczej roślinnej próbki. Okazuje się, że metody genetyczne można szczególnie skutecznie wykorzystywać w zwalczaniu przestępczości narkotykowej. Mimo to botaników sądowych o uznanym autorytecie w środowisku międzynarodowym jest wciąż bardzo niewiele. Jednym z nich jest dr Heather Miller Coyle z Uniwersytetu New Haven (USA), której oddajemy głos w bieżącym numerze naszego magazynu. Opowiada ona m.in. o najbardziej spektakularnych sprawach, w których istotną rolę odegrały dowody biologiczne pochodzenia roślinnego. W rubryce „Metody badawcze” przybliżamy Państwu jeszcze bardziej szczegółowo techniki biologii molekularnej w botanice sądowej wraz z zakresem ich zastosowań.

Od początku istnienia naszego kwartalnika bardzo dużą wagę przywiązujemy do jakości pracy laboratoriów genetyczno-sądowych. Na szczęście poziom naszych uniwersyteckich ośrodków zdaje się być coraz wyższy, m.in. dzięki uczestnictwu w polskich i międzynarodowych ćwiczeniach międzylaboratoryjnych. Gorąco zachęcamy Państwa do lektury rubryki „Standardy i atestacje”. Publikujemy w niej listę laboratoriów, które uzyskały atest Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii (PTMSiK) na genetyczne badania śladów biologicznych w latach 2010-2011. Z przedstawionego zestawienia widać już obraz pewnej specjalizacji – niektóre laboratoria dysponują najszerzym warształem badawczym, inne reprezentują wysoki poziom, lecz w nieco węższym zakresie. Po raz pierwszy – i to z całkiem dobrym skutkiem – w atestacji wzięły udział wybrane laboratoria policyjne. Z niezrozumiałych względów jedynie laboratoria prywatne (poza jednym wyjątkiem) nie były zainteresowane sprawdzeniem swoich kompetencji poprzez uczestnictwo w tym jedynym polskim programie. Tymczasem posiadanie atestu jest jednym z wyznaczników wysokiej jakości pracy danego ośrodka. Warto zatem wziąć pod uwagę to kryterium w wyborze biegłych, którzy mają służyć pomocą w rozwiązywaniu trudnych spraw.

Dr hab. Tomasz Grzybowski,
prof. UMK

* Spis treści

3

NOWOŚCI W GENETYCE SĄDOWEJ

Ochrona wilka szarego

Kocia baza danych

DNA i mRNA – równie użyteczne

4-5

METODY BADAWCZE

Roślina prawdę ci powie

Materiał roślinny może stanowić cenną informację w wielu kategoriach przestępstw – nie tylko w przypadku zdarzeń narkotykowych, ale i np. przy ustalaniu sprawców zabójstw podczas określenia powiązania pomiędzy ofiarą, podejrzanym, przedmiotami użytymi podczas zbrodni, a także miejscem, w którym doszło do przestępstwa.

6-9

STANDARDY I ATESTACJE

Atest dla najlepszych

Dr hab. Piotr Kozioł opowiada o zakończonym właśnie procesie atestacji laboratoriów genetycznych, którego celem było udzielenie atestów na lata 2010–11 wielu polskim ośrodkom wykonującym badania DNA. Kto wziął w nim udział i jak przebiegał sam proces?

10-11

WYWIAD NUMERU

Roślinny dowód, czyli rzecz o botanice sądowej

O roli botaniki we współczesnej kryminalistyce rozmawiamy z dr Heather Miller Coyle, ekspertem z dziedziny genetyki sądowej specjalizującym się w metodyce analizy DNA roślin z Departamentu Nauk Sądowych amerykańskiego Uniwersytetu New Haven.

12-15

CIEKAWY PRZYPADKI

Historia żółtego wymazu

Badania genetyczne, jeśli są wykonane w sposób nierzetelny i/lub z wykorzystaniem niewłaściwych środków, mogą nie tylko nie naprowadzić na trop sprawcy, lecz skierować sprawę na zupełnie niewłaściwy tor, o czym przekonał się nasz zakład biorący udział w analizie śladów pochodzących z przestępstwa na tle seksualnym.

NA OKŁADCE:

Zdjęcia kwiatów otrzymane dzięki uprzejmości prof. dr. hab. Jacka Kubicy.

WYDAWCA:
Zakład Genetyki Molekularnej i Sądowej
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum

REDAKTOR WYDANIA:
Tomasz Grzybowski

ZESPÓŁ REDAKCYJNY
Urszula Rogalla, Katarzyna Skonieczna,
Katarzyna Linkowska, Marcin Woźniak

KONCEPCJA, PROJEKT, EDYCJA:
NOVIMEDIA Content Publishing
www.novimedia.pl

NOVIMEDIA CONTENT PUBLISHING

Zostały podjęte wszelkie środki, aby zawarte w publikacji informacje były dokładne i aktualne w dniu oddania do druku. Rozpowszechnianie materiałów redakcyjnych bez pisemnej zgody wydawcy jest zabronione. Copyright © 2008 ZGMiS, wszelkie prawa zastrzeżone.

Copyright © 2008 Novimedia CP, wszelkie prawa zastrzeżone.

* Ochrona wilka szarego

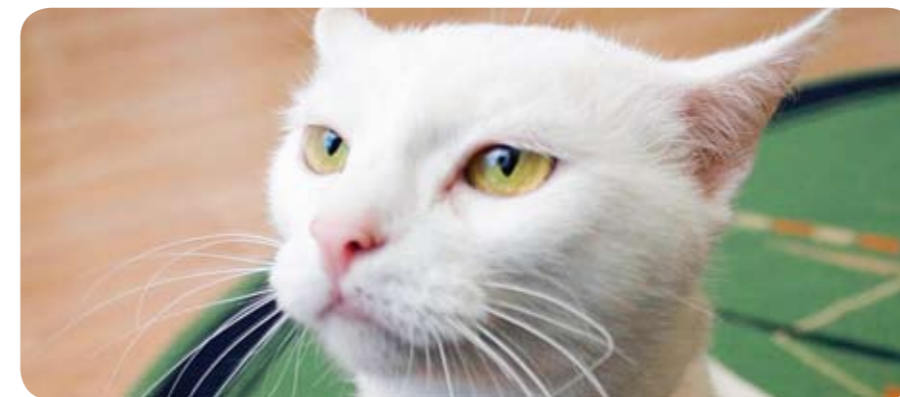
Wraz z rozwojem cywilizacyjnym Europy doszło do znacznego ograniczenia siedlisk wielu dzikich zwierząt. Populacja wilka szarego, mimo wielu prób jego reintrodukcji, wciąż w wielu krajach zagrożona jest wyginięciem, a niemal we wszystkich podlega ochronie gatunkowej.

Ostatnio, po wielu latach przerwy, kilka wilczych watah pojawiło się w Apeninach i Alpach zachodnich. Niestety, wiele osobników padło łupem kłusowników. Dzięki genetyce sądowej udało się skierować podejrzenia związane z wieloma nielegalnymi odstrzałami na pewnego mieszkańca Ligurii. Zdradził go noszony przez niego naszyjnik wykonany z 10 wilczych kłów. Udało się z nich wyizolować DNA i ustalić genotypy dla 12 autosomalnych markerów STR oraz trzech układów Y-STR, a także zbadać sekwencję regionu kontrolnego mtDNA i obecność miejsca restrykcyjnego ZFX/ZFY pozwalającego określić płeć dawcy. Wyniki pozwoliły stwierdzić, że poddane analizom kły pochodziły od trzech basiorów i trzech wader z włoskiej populacji wilków. Co więcej, okazało się, że dwa spośród zidentyfikowanych wilków były już wcześniej genotypowane w ramach programu ochrony wilka szarego. Śledztwo jest w toku.



* Kocia baza danych

Dowody rzeczowe w postaci zwierzęcego materiału biologicznego, wbrew temu, co sugerują seriale telewizyjne, stosunkowo rzadko wykorzystywane są w toku śledztwa. Jest to dziwne o tyle, że sierść kota czy psa, przeniesiona przez sprawcę na miejsce zdarzenia, może pozwolić go zidentyfikować, nawet jeśli on sam nie zostawi swojego materiału biologicznego.



Tego rodzaju analizy nie są szczególnie skomplikowane chociażby ze względu na fakt, że genetyk ma do dyspozycji nie tylko cebulkę włosa, ale także komórki nabłonkowe naniesione przez zwierzę podczas czyszczenia futra. Co więcej, badanie włosa pozwala również na identyfikację fenotypową. Międzynarodowy zespół badaczy podjął próbę utworzenia bazy danych obejmującej fragment regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA. Jak dotąd zbadano

1394 koty z 25 różnych populacji światowych, reprezentujące 26 ras. 83 proc. osobników reprezentowało 12 głównych haplotypów. Kolejne 8 proc. stanowiły haplotypy pochodne. 7,5 proc. kotów miało unikatową sekwencję fragmentu mtDNA. Na podstawie uzyskanych danych udało się udowodnić, że ten zaledwie 402-nukleotydowy fragment mtDNA cechujący wartości siły dyskryminacji wystarczające dla celów sądowych.

* DNA i mRNA – równie użyteczne

Coraz bardziej popularną metodą oznaczania pochodzenia śladu biologicznego jest analiza wyekstrahowanego z niego mRNA. Jak dotąd nie istniał jeden zintegrowany zestaw testów pozwalający odróżnić na poziomie molekularnym kilka rodzajów płynów ustrojowych.

Pod koniec ub. roku opracowano test multipleksowy obejmujący 11 markerów. Pozwalają one nie tylko odróżnić krew pełną od menstruacyjnej, ale też oznaczyć ślinę, nasienie (zarówno zawierające plemniki, jak i ich pozbawione) oraz wydzielinę z pochwy (skuteczne zarówno u kobiet menstruujących, w okresie menopauzalnym, w ciąży jak i po zabiegu histerektomii). Zazwyczaj oznaczenie w oparciu o mRNA miało zastosowanie jedynie przy większych ilościach dostępnego materiału biologicznego, aby z pozostałej jego części można było jeszcze wyizolować DNA niezbędny dla dalszej identyfikacji osobniczej. Niewielkie ilości badanej substancji przestały jednak być już problemem, gdyż opracowano technikę pozwalającą na jednoczesną ekstrakcję DNA i RNA bez szkody dla żadnego z kwasów nukleinowych.

Redakcja: Urszula Rogalla

Roślina prawdę ci powie...

W praktyce sądowej spotyka się przypadki, w których jednym z zabezpieczonych dowodów jest materiał pochodzenia roślinnego. W większości mowa tu o przestępstwach narkotykowych.

Jak wskazują doniesienia, materiał roślinny może stanowić cenną informację w wielu kategoriach przestępstw, np. przy ustalaniu sprawców zabójstw podczas określenia powiązania pomiędzy ofiarą, podejrzanym, przedmiotami użytymi podczas zbrodni, a także miejscem, w którym doszło do przestępstwa. W szczególności gdy podczas popełnienia zbrodni materiał roślinny został przeniesiony z jednego miejsca na drugie.

Identyfikacja śladu roślinnego

Pierwszym krokiem podczas analizy materiału pochodzenia roślinnego będącego dowodem w sprawach sądowych jest wskazanie do jakiego gatunku roślin dany ślad należy. W przeszłości powyższe analizy opierały się głównie na badaniach morfologicznych cech roślin i ograniczone były do takich dowodów, w których dysponowano nienaruszonym materiałem, np. całymi liśćmi. Jednak w praktyce sądowej często obserwuje się, że materiał będący przedmiotem badań jest w znacznym stopniu pofragmentowany, co z oczywistych względów utrudnia, a w niektórych przypadkach uniemożliwia wykonanie jego oceny tradycyjnymi metodami botanicznymi. Obecnie klasyfikacji biologicznej badanego materiału roślinnego można dokonać na podstawie analizy jego DNA. U roślin materiał genetyczny zawarty jest w trzech różnych organellach komórkowych: jądrze, chloroplastach oraz mitochondriach. Aby odróżnić od siebie odmienne gatunki organizmów żywych na podstawie DNA i usystematyzować je, do analizy molekularnej wybiera się takie sekwencje materiału genetycznego, które wykazują dużą zmienność pomiędzy różnymi gatunkami, ale zarazem są mało zmienne w obrębie danego gatunku. W przypadku próbek pochodzenia roślinnego opisane powyżej cechy można przypisać fragmentom DNA zlokalizowanym zarówno w jądrze komórkowym (np.: ITS1, ITS2), jak i chloroplastie (np.: rcbL, trnL, matK, ndhF). Do chwili obecnej dla niektórych z ww. markerów zostały opracowane gotowe testy genetyczne, które można wykorzystać w celu identyfikacji gatunkowej materiału roślinnego.

Kiedy sięgnąć po testy DNA?

W genetyce sądowej określenie przynależności gatunkowej badanego śladu pochodzenia roślinnego najczęściej wykonywano w sprawach związanych z przestępczością narkotykową, w celu ustalenia obecności roślin z gatunku *Cannabis sativa* L. (konopi siewnych). Z raportów wynika, że do chwili obecnej najczęściej w tego typu oznaczeniach dokonywano analizy za pomocą testów genetycznych opartych na sekwencjonowaniu regionów DNA – zarówno jądrowego – ITS1, ITS2, jak i chloroplastowego – trnL. Zaletami wykonania diagnostycznych analiz genetycznych jest stosunkowo krótki czas ich realizacji oraz niewielka ilość koniecznego do przeprowadzenia badania materiału wyjściowego. Stanowią go mogą śladowe ilości rozdrobnionych roślin pozostawione np. na rękach osób mających z nimi styczność lub przedmiotach będących z tymi osobami w bezpośrednim kontakcie. Zatem wartym zauważenia jest fakt, że nawet w przypadkach, gdy analiza materiału roślinnego klasycznymi metodami botanicznymi i/lub biochemicznymi (tj. w przypadku konopi analiza w kierunku obecności THC) nie jest możliwa – ze względu na zbyt małą ilość materiału wyjściowego – istnieje możliwość przeprowadzenia testu DNA, pozwalającego jednoznacznie wskazać źródło pochodzenia badanej próbki. W niektórych typach przestępstw określenie tylko przynależności gatunkowej nie jest wystarczającym dowodem. Potrzebna jest dokładniejsza analiza pozwalająca ustalić, czy badany fragment materiału roślinnego pochodzi z konkretnej rośliny, np. występującej w miejscu zbrodni. Jedną z pierwszych tego typu analiz została przeprowadzona z wykorzystaniem techniki losowej amplifikacji polimorficznego DNA, tzw. RAPD-PCR, która pozwala odróżnić od siebie badane osobniki. Powyżej opisywaną technikę zastosowano w przypadku ustalenia sprawcy zabójstwa kobiety, której ciało odnaleziono w pobliżu drzewa na pustyni w Arizonie. Udowodnienie, że znalezione w samochodzie podejrzanego strąki nasion pochodzą z tego konkretnego drzewa (do analizy porównawczej wybrano również kilka innych osobników należących do tego samego gatunku), przy którym

znaleziono ciało ofiary, spowodowało jego przyznanie się do winy.

Nieznane markery STR

Obecnie najczęściej wykorzystywaną analizą genetyczną w identyfikacji roślin jest analiza sekwencji krótkich powtórzeń tandemowych, tzw. sekwencji mikrosatelitarnych lub STR. Jest ona również powszechnie stosowana w celach identyfikacyjnych ludzkiego DNA. Ze względu na obserwowany wysoki stopień zróżnicowania w liczbie powtórzeń w obrębie danej sekwencji mikrosatelitarnej oraz faktu występowania wielu różnych sekwencji typu STR u danego osobnika, analiza panelu takich sekwencji umożliwia z wysokim stopniem prawdopodobieństwa

potwierdzenie lub wykluczenie, iż analizowane próbki pochodzą od jednego osobnika. Zatem możliwym jest zbadanie, czy znaleziony u podejrzanego ślad w postaci materiału roślinnego pochodzi z określonej rośliny występującej np. na miejscu zbrodni. Jak wykazuje praktyka biegłych sądowych z dziedziny genetyki, zastosowanie panelu zaledwie czterech różnych sekwencji typu STR do analizy liści dębu znalezionych w samochodzie podejrzanego o zabójstwo mężczyzny (jedynym dowodem w badanej sprawie mogącym świadczyć o obecności podejrzanego na miejscu zbrodni) pozwoliło wykluczyć, iż pochodzą one z drzew rosnących w miejscu znalezienia ciała ofiary. Choć w powyższym przypadku przeprowadzone analizy genetyczne doprowadziły w efekcie do stwierdzenia braku związku pomiędzy podejrzanym a miejscem znalezienia ciała ofiary, to potencjalnie badania markerów typu STR śladów pochodzenia roślinnego mogą stanowić istotny element łączący ofiarę ze spraw-

cą. Ponadto opisywana wyżej metodologia może być również wykorzystana podczas badań roślin z rodzaju konopi do ustalania potencjalnych powiązań pomiędzy osobami zaangażowanymi w przestępstwa narkotykowe. W przeprowadzonych do tej pory analizach zaobserwowano, że rośliny z jednej, klonalnie rozmnażanej uprawy charakteryzują się tym samym genotypem (a więc charakteryzuje je obecność tego samego wzoru w obrębie sekwencji mikrosatelitarnych), natomiast wykazują istotne różnice pomiędzy różnymi, niezależnymi, klonalnymi hodowlami. W związku z powyższym sugeruje się, że badania genetycznych markerów typu STR mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w celu identyfikacji i indywidualizacji roślin z rodzaju konopi. Mogą one w przyszłości stanowić podstawę do określania współzależności pomiędzy hodowcami, osobami rozprowadzającymi, a nabywcami konopi.

Katarzyna Skonieczna

* Wartościowe rcbL oraz matK

W ostatnich latach intensywne badania prowadzone przez Consortium for the Barcode of Life Plant Working Group, międzynarodową grupę badawczą pracującą nad zastosowaniem analiz DNA do klasyfikacji roślin, zaowocowały wytypowaniem dwóch regionów w DNA chloroplastowym: rcbL oraz matK. Ich zsekwencjonowanie pozwala na klasyfikację każdej badanej rośliny w obrębie rodzaju, a w ponad 70 proc. przypadków badanych roślin umożliwia określenie konkretnego gatunku, do jakiego analizowany materiał należy. Obecnie prowadzone są badania uzupełniające, które w efekcie mają prowadzić do uzyskania markerów genetycznych, na podstawie których każdy materiał roślinny będzie można zakwalifikować do konkretnego gatunku roślin. Ich wyniki mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie także w medycynie sądowej, służąc do rutynowej oceny przynależności gatunkowej badanych próbek.

Nawet w przypadkach, gdy analiza materiału roślinnego klasycznymi metodami botanicznymi i/lub biochemicznymi nie jest możliwa (...) istnieje możliwość przeprowadzenia testu DNA, pozwalającego jednoznacznie wskazać źródło pochodzenia badanej próbki.



Udowodnienie, że znalezione w samochodzie podejrzanego strąki nasion pochodzą z drzewa, przy którym znaleziono ciało ofiary, spowodowało jego przyznanie się do winy.

Atest dla najlepszych



Wiele laboratoriów (...) z powodzeniem przystępuje również do międzynarodowych atestacji, reprezentując wysoki, europejski poziom badań. Sądę, że część z naszych laboratoriów jest gotowa do wdrożenia najwyższych standardów...

Atestacja ośrodków wykonujących badania DNA sprzyja ustalaniu norm, a także ocen prawidłowości analiz laboratoryjnych i opiniowania. Jest jednym z najważniejszych środków wykorzystywanych w celu zapewnienia wysokiego poziomu ekspertyz z zakresu genetyki sądowej.

Tomasz Grzybowski

Komisja Genetyki Sądowej PTMSiK zakończyła program atestacji laboratoriów genetycznych i udzieliła atestów na lata 2010–11. Jakie laboratoria zdecydowały się na uczestnictwo w tym programie?

Dr hab. Piotr Koziol

W atestacji w zakresie badań DNA w śladach biologicznych wzięło udział 18 laboratoriów: wszystkie laboratoria genetyczne z Katedr i Zakładów Medycyny Sądowej (KiZMS), laboratorium Instytutu Ekspertyz Sądowych, pięć laboratoriów policyjnych i jedno laboratorium Spółki z o.o.

Tomasz Grzybowski

W laboratorium genetyki sądowej KiZMS w Lublinie przygotowano próbki do atestacji w zakresie śladów biologicznych. Czy zechciałby Pan krótko je scharakteryzować?

Dr hab. Piotr Koziol

Zgodnie z zasadami przyjętymi przez Komisję przygotowano dwa ślady biologiczne oraz dwie próbki materiału porównawczego. Ślad nr 1 stanowiła mieszanina krwi dwóch kobiet i jednego mężczyzny, natomiast ślad nr 2 przygotowano w ten sposób, że na nasiąknięty krwią zwierzęcą fragment worka lnianego naniesiono niewielką plamę nasienia ludzkiego. Próbki porównawcze stanowiła krew jednej z kobiet oraz brat (rodzony) mężczyzny, którego krew użyto do przygotowania śladu nr 1. W użytym materiale należało prawidłowo określić genotypy w zakresie podstawowym, wymienionym w regulaminie atestacji. Zakres ten mógł być poszerzony o zadeklarowane dodatkowe układy autosomalnych markerów DNA i układów Y-STR oraz mitochondrialnego DNA. Przygotowując ślady do atestacji zwrócono uwagę uczestników na dwa aspekty: po pierwsze, że badania rodzaju śladu i jego gatunkowego pochodzenia są bardzo ważne (ślad nr 2), po drugie, że wyciąganie wniosków z wyników dotyczących mieszanin jest trudne i niekiedy bardzo kontrowersyj-

ne (ślad nr 1). Analiza nadesłanych wyników wykazała, że atestacja spełniła swoje zadania i przyczyniła się do podniesienia poziomu naszych ekspertyz.

Tomasz Grzybowski

Czy prawidłowe oznaczenie próbek wymagało od uczestniczących laboratoriów zastosowania jakiś niestandardowych metod badawczych? Jak ocenia Pan stopień trudności tego eksperymentu?

Dr hab. Piotr Koziol

Ocenie atestacyjnej podlegało prawidłowe genotypowanie markerów autosomalnych, Y-STR i mtDNA, natomiast przeprowadzenie badań wstępnych rodzaju substancji biologicznej, jak również wykonanie obliczeń statystycznych, było opcjonalne, a zatem można było je pominąć bez wpływu na końcową ocenę. A jednak to właśnie identyfikacja rodzaju śladu i ustalenie jego pochodzenia gatunkowego wymagały niestandardowego podejścia. Moja

z atestowanych laboratoriów. Problemem okazało się również wnioskowanie odnośnie do wyników mieszaniny osób w śladzie 1 i to zarówno na etapie oceny, która próbka porównawcza jest lub nie jest obecna w śladzie, jak również na etapie obliczeń probabilistycznych. Dodatkową jakością atestacji można by uzyskać, gdyby uczestnicy byli zobowiązani opracować opinię i odpowiedzieć na pytania w hipotetycznych sytuacjach, np.: sytuacja I dla śladu nr 1: „Zaginął mężczyzna, który ostatni raz był widziany w towarzystwie dwóch kobiet A i B. W mieszkaniu pani A znaleziono ślady krwi. Jako materiał porównawczy zabezpieczono krew pani B i krew brata zaginionego mężczyzny. Należałoby odpowiedzieć na pytanie: Czy zabezpieczony ślad jest krwią ludzką, czy może pochodzić od zaginionego mężczyzny? Sytuacja II dla śladu nr 2: „W miejscowości X znaleziono martwe zwierzę (kozę domową) ze śladami brutalnego znęcania się, co, zgodnie z kodeksem karnym, podlega karze. Istnieje podejrzenie, że sprawcą czynu jest XY o skłonnościach zoofila. Na miej-

18 laboratoriów wzięło udział w atestacji w zakresie badań DNA w śladach biologicznych

pierwsza uwaga dotyczy wyników badań, które wykazały, że ogólnie uznawany za specyficzny test na obecność śliny daje dodatnie wyniki z... nasieniem. Oznaczenie gatunku zwierzęcia było bardzo trudne z uwagi na fakt, że należało albo na etapie badań wizualizacyjnych pod UV oddzielić materiał zakrwawiony od miejsc, gdzie dodatkowo było nasienie i tradycyjnymi metodami immunologicznymi próbować oznaczyć gatunek zwierzęcia, albo opracować oryginalną metodę tzw. lizy preferencyjnej, pozwalającej na oddzielenie mtDNA krwi koziej od mtDNA plemników nasienia ludzkiego, a następnie zsekwencjonować fragment cytochromu b w celu identyfikacji gatunku. Właśnie tę drugą możliwość z powodzeniem zastosowało jedno

scu zdarzenia zabezpieczono fragmenty worka nasiąkniętego brunatną substancją, na której ujawniono dodatkowo w świetle UV opalizujące szarooliwkowe plamy”. Należałoby odpowiedzieć na pytanie: Czy zabezpieczony ślad biologiczny jest krwią kozy domowej, człowieka lub innego zwierzęcia oraz czy obecne są inne ślady biologiczne (np. nasienie męskie) i czy mogą pochodzić od XY? Moim zdaniem tego typu spekulacje mogłyby być podjęte w kolejnej atestacji.

Tomasz Grzybowski

Czy Komisja zauważyła jakieś błędy podczas oceny wyników badań nadesłanych przez uczestniczące laboratoria?

Dr hab. Piotr Koziół

Ocena wyników atestacji została dokonana przez Komisję Genetyki Sądowej w grudniu 2009 r. Z początkiem 2010 r. poszczególne laboratoria uzyskały atesty na badania DNA w śladach biologicznych na lata 2010-2011. Zgodnie z ustaleniami z Przewodniczącą Komisji prof. Zofią Szczerkowską, szczegółowy raport i podsumowanie wyników atestacji zostanie przedstawione podczas sesji genetyki sądowej w czasie XV Zjazdu Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii w Gdańsku i mam nadzieję, że będzie on przedmiotem żywej dyskusji uczestników Zjazdu. Mogę jedynie zauważyć, że nie wszystkie laboratoria uzyskały atest w zadeklarowanym zakresie badań.

Tomasz Grzybowski

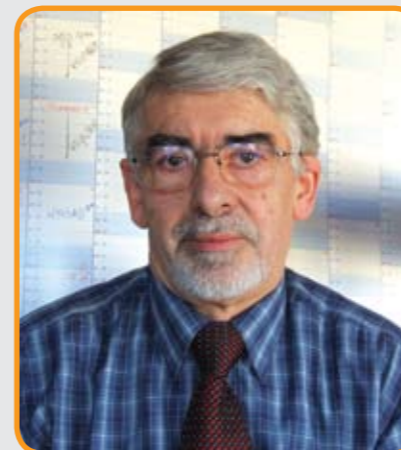
Jak ocenia Pan poziom polskich laboratoriów genetyczno-sądowych? Czy można zauważyć w tym zakresie pewien postęp od czasu poprzedniej atestacji (na lata 2008-2009)?

Dr hab. Piotr Koziół

Uczestniczyłem we wszystkich atestacjach laboratoriów genetyki sądowej organizowanych w ramach działania Komisji Genetyki Sądowej PTMSiK (pierwsza obradowała w 1993 r.). Stwierdzam, że laboratoria genetyki sądowej obecnie wykazały ogromny postęp, a równanie poziomu do najlepszych laboratoriów jest szczególnie widoczne, gdy porównujemy wyniki ostatniej atestacji z poprzednią. Wszystkie laboratoria

dysponują wysoce specjalistyczną aparaturą do izolacji DNA, jego oceny ilościowej i jakościowej, do amplifikacji markerów STR oraz genotypowania. Wiele laboratoriów, oprócz krajowej atestacji, z powodzeniem przystępuje również do międzynarodowych atestacji, reprezentując wysoki, europejski poziom badań. Sądzę, że część z naszych laboratoriów jest gotowa do wdrożenia najwyższych standardów jakości zgodnych z wymaganiami normy ISO 17025. Możemy sobie życzyć, aby wszystkie elementy uwzględniane w atestacji stanowiły standard w rutynowych ekspertyzach genetycznych.

Laboratoria uzyskały atesty na badania DNA w śladach biologicznych w różnym zakresie (patrz ramki).



* BIOGRAM

DR HAB. N. MED. PIOTR KOZIÓŁ

Współautor 139 prac naukowych, w tym 76 artykułów w krajowych i zagranicznych czasopismach naukowych.

Absolwent Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS w Lublinie,

dr n. przyr. AM w Lublinie, pracownik naukowo-dydaktyczny Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UM w Lublinie. Od wczesnych lat 70. rozwijał metody genetycznego ustalania pokrewieństwa, badania populacyjne markerów genetycznych, jak również techniki identyfikacji śladów biologicznych. Jest jednym z prekursorów badań polimorfizmu DNA w Polsce dla potrzeb ekspertyzy ustalania ojcostwa.

* KOMU ATESTY?

Atest na badania DNA w zakresie podstawowym, poszerzonym o pięć dodatkowych markerów autosomalnych i Y-STR oraz mtDNA (HV1, HV2), otrzymały następujące laboratoria:

1. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.
2. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.
3. Laboratorium Zakładu Genetyki Molekularnej i Sądowej Katedry Medycyny Sądowej Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy.
4. Laboratorium Genetyki Sądowej Zakładu Technik Molekularnych Katedry Medycyny Sądowej Akademii Medycznej we Wrocławiu.
5. Laboratorium Genetyki Sądowej Instytutu Ekspertyz Sądowych w Krakowie.

Atest na badania DNA w zakresie podstawowym, poszerzonym o markery Y-STR oraz w zakresie mtDNA (HV1), uzyskało Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Warszawie.

Atesty na badania DNA w zakresie podstawowym, poszerzonym o dodatkowe markery autosomalne i Y-STR, uzyskały następujące laboratoria:

1. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.
2. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.
3. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.
4. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.
5. Laboratorium Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Collegium Medicum UJ w Krakowie.
6. Laboratorium Kryminalistyczne KWP w Gdańsku.
7. Laboratorium Kryminalistyczne KWP w Lublinie.
8. Laboratorium Kryminalistyczne KWP w Łodzi.

Atest na badania DNA w śladach biologicznych w zakresie podstawowym, poszerzonym o markery Y-STR, uzyskało Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Komendy Głównej Policji w Warszawie.

Atesty na badania DNA w śladach biologicznych w zakresie podstawowym uzyskało:

1. Laboratorium Genetyki Sądowej Zakładu Medycyny Sądowej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.
2. Laboratorium Kryminalistyczne KWP w Katowicach.

Atestu na badania DNA w śladach biologicznych nie uzyskało Laboratorium Genetyki Medycznej, Centrum Badań DNA w Poznaniu.



Roślinny dowód, czyli rzecz o botanice sądowej

Jak zbadać roślinę, by mogła nam posłużyć jako narzędzie do walki z przestępczością? O jej szczególnych możliwościach dla współczesnej kryminalistyki opowiada dr Heather Miller Coyle.

Tomasz Grzybowski

Jak zdefiniowałaby Pani botanikę sądową?

Dr Heather M. Coyle

To dziedzina wiedzy, która zajmuje się aplikacjami biologii roślin dla potrzeb spraw sądowych. Obejmuje badania z zakresu anatomii roślin w celu dokonania ich klasyfikacji i określenia przynależności gatunkowej, identyfikacji pyłków kwiatowego czy też badania DNA służące do identyfikacji gatunkowej materiału roślinnego bądź ustalenia jego przynależności osobniczej.

Tomasz Grzybowski

Genetycy opisują i klasyfikują ogromną różnorodność genetyczną właściwą dla populacji roślinnych. Czy ma ona jakies zastosowania w sądownictwie?

Dr Heather M. Coyle

Na naszej planecie występują niezliczone gatunki roślin. Każdy z nich ma określone cechy morfologiczne, a także swój własny, niemalże niepowtarzalny profil DNA. Różnorodność jest bardzo przydatna dla genetyków populacji, gdyż pozwala na odnalezienie kombinacji unikalnych cech, pozwalających na specyficzne sklasyfikowanie danego organizmu. Im więcej cech będziemy w stanie zaobserwować lub zbadać, tym dokładniejsza i bardziej specyficzna będzie nasza identyfikacja gatunku rośliny.

Tomasz Grzybowski

Czy botanicy sądowi rutynowo wykorzystują badania DNA dla celów identyfikacji gatunkowej i indywidualnej roślin?

Dr Heather M. Coyle

Są oni proszeni o pomoc, gdy wymaga tego charakter śledztwa prowadzonego w danej sprawie. Zazwyczaj pracują na uczelniach albo w laboratoriach i zajmują się badaniami roślin w zakresie ewolucji bądź genetyki. W razie potrzeby służą też pomocą śledczym czy adwokatom w sprawach, w których dowód roślinny wydaje się być istotny. Na świecie pracuje jedynie garstka botaników sądowych i większość z nich specjalizuje się w konkretnych dziedzi-

nach. Na przykład badanie morfologii i DNA w celu ustalenia powiązań materiału dowodowego (np. igły sosnowej ujawnionej w mankiecie spodni podejrzanego z drzewem, pod którym miało zostać popełnione przestępstwo); analiza pyłków dla udowodnienia, że samochód przejeżdżał przez okolicę, w której porzucono zwłoki czy badanie zawartości roślinnej w treści żołądkowej celem ustalenia miejsca ostatniego posiłku ofiary czy nawet czasu zgonu.

Tomasz Grzybowski

Czy służby antynarkotykowe mogą odnieść korzyści z badania roślinnego DNA?

Dr Heather M. Coyle

Jak najbardziej, badania takie są bardzo pomocne w scharakteryzowaniu próbek narkotyków pochodzenia roślinnego, tak pod względem chemicznym, jak i biologicznym, celem zaklasyfikowania substancji. Następnie można wykonać szereg analiz dla powiązania próbki z jej źródłem. Typowanie roślinnego DNA w walce z narkotykami jest wciąż nową dziedziną, jednak

sam pomysł zrodził się już dość dawno. W istocie profilowanie DNA w identyfikacji osobniczej człowieka oraz bazy danych profili genetycznych systemu CODIS odniosły niekwestionowany sukces w rozwiązywaniu różnych spraw. Szczególnie gdy brak było podejrzanego oraz ścigano osoby skazane wcześniej na mocy wyroków sądowych. Ta sama technologia przeniesiona na grunt botaniki jest równie obiecująca.

Tomasz Grzybowski

Czy mogłaby Pani wymienić najbardziej spektakularne osiągnięcia w dziedzinie typowania roślinnego DNA w celach sądowych w ostatnich latach? Czy któraś z nowszych technik biologii molekularnej może ułatwić badania DNA roślinnego?

Dr Heather M. Coyle

Można wymienić kilka spraw, w których profilowanie roślin okazało się być całkiem pomocne. Jedną z nich jest przelomowa dla botaniki sądowej sprawa tocząca się w okręgu Maricopa, w Arizonie. Ciało uduszonej młodej kobiety



zostało znalezione na pustyni, w niedalekiej odległości od kilku drzew parkinsonii. Pater znaleziony nieopodal zwłok był pierwszym wskazaniem na podejrzanego. Podczas oględzin samochodu podejrzanego ujawniono kilka strączków parkinsonii. Ponieważ żadne z laboratoriów sądowych nie wykonywało tego rodzaju testów, o ekspertyzę w zakresie identyfikacji DNA zebranych śladów oraz o ustalenie profili drzew parkinsonii z innych lokalizacji poproszono naukowca z Uniwersytetu Arizony. Wśród analizowanych dodatkowo drzew były oczywiście także i te rosnące w pobliżu znalezienia zwłok dziewczyny. Przeprowadzone badania pozwoliły na uzyskanie wszystkich profili, jednak zgodność zaobserwowano jedynie dla próbek z samochodu podejrzanego oraz drzew rosnących nieopodal miejsca zdarzenia. Dowód ten został wykorzystany podczas rozprawy, a oskarżonego uznano winnym zarzucanych mu

czynów. W innej sprawie wykorzystano fakt, że wióry drewna znajdowane wzdłuż brzegu rzeki w Connecticut nosiły ślady nacięć zgodne ze śladami, jakie pozostawiał rębak skonfiskowany podejrzanemu przez policję. Był to nadzwyczaj istotny dowód w tej przełomowej sprawie, ponieważ całe ciało Helle Crafts, zamordowanej przez męża, z którym była w separacji, nigdy nie zostało odnalezione. Sprawa została ostatecznie rozstrzygnięta, a dowód śmierci kobiety uzyskano na podstawie szeregu poszlak prowadzących do jej domu. Dowód poszlakowy stanowiły wióry drewna, kilka włókien z odzieży, kilka pasm włosów, pomalowany lakierem paznokieć, kilka wiórów kości oraz zęb. W kolejnej zakończony sukcesem sprawie wykorzystano szczątki liści w celu zlokalizowania ciała zaginionej dziewczynki, jak się okazało zamordowanej przez swojego ojca podczas sprzeczki domowej dotyczącej rozwodu rodziców. Ciało ojca dziewczynki zostało znalezione w samochodzie z raną postrzałową głowy, którą zadał sobie sam. Tuż obok leżała pokryta krwią i szczątkami roślinnymi kurtka dziewczynki. Botanik z Uniwersytetu Stanowego Kalifornii zdołał zidentyfikować znalezione rośliny jako mącznicę lekarską (*Arc-tostaphylos patula*), dąb kalifornijski (*Quercus chrysolepis*), jodłę kalifornijską (*Abies concolor*), sosnę żółtą (*Pinus ponderosa*) i czarny dąb kalifornijski (*Quercus kelloggii*). Na podstawie wymagań życiowych powyższych roślin, ustalono pięć potencjalnych miejsc, w których możliwy był ich wzrost, po czym wysłano w te miejsca ekipy poszukiwawczo-ratunkowe. Po kilku dniach poszukiwań odnaleziono zawinięte w koc ciało zaginionej dziewczynki i oddano je rodzinie. Typowanie roślinnego DNA praktykowane jest od wielu lat przez środowiska botaników. Działania zmierzające ku archiwizowaniu próbek roślinnego DNA na specjalnych kartach w sposób przypominający procedury stosowane w utrzymywaniu baz danych ludzkiego DNA przyniosły efekt w postaci możliwości rutynowego wykorzystywania analiz roślinnego

DNA dla celów identyfikacyjnych. Wylimitowano przez to konieczność przechowywania w nieskończoność próbek samych roślin. W przeszłości materiał roślinny był zbierany do kopert i przechowywany w suchym środowisku. Pozwalało to wprawdzie na późniejszą identyfikację morfologiczną, jednak próbki stawały się kruche i traciły część materiału genetycznego. Archiwizacja bezpośrednio na kartach i w postaci fotografii pozwala na długotrwałe przechowywanie danych na temat morfologii, ale również pozwala na późniejsze analizy DNA dzięki dostępności samej próbki. Dzięki temu możliwa jest klasyfikacja na podstawie morfologii i badań DNA oraz ewentualne powtarzanie badań w razie potrzeby. Co więcej, karty te eliminują dotychczasowe ograniczenia związane z badaniami genetycznymi próbek narkotyków. Pozwalają przechowywać próbki w formie niezdatnej do użycia, co minimalizuje problemy z ich licencjonowaniem, bezpieczeństwem i magazynowaniem.

* BIOGRAM DR HEATHER MILLER COYLE



Dr Heather Miller Coyle jest absolwentką Uniwersytetu Stanu Nowy Jork (Plattsburgh, USA), natomiast stopień doktora uzyskała na Uniwersytecie New Hampshire (Durham, USA). W 2005 roku rozpoczęła pracę w Departamencie Nauk Sądowych Uniwersytetu New Haven (USA), gdzie wyklada biologię sądową, genetykę populacyjną i molekularną oraz metody biomedyczne. Jest ekspertem z dziedziny genetyki sądowej o uznanym autorytecie w środowisku międzynarodowym. Jej zainteresowania naukowe koncentrują się wokół metod analizy DNA różnych gatunków roślin, m.in. dla potrzeb walki z przestępczością narkotykową. Jest autorem wielu prac naukowych z tego zakresu, a także redaktorem dwóch znanych księzek na temat analizy DNA pochodzenia roślinnego i zwierzęcego („Forensic Botany: Principles and Applications to Criminal Casework” oraz „Nonhuman DNA Typing: Theory and Casework Applications”).

Badania roślinnego DNA pozwalają w istotny sposób scharakteryzować próbki narkotyków pochodzenia roślinnego, zarówno pod względem chemicznym, jak i biologicznym.



Historia żółtego wymazu

Rezultat badań genetycznych uważany jest przez wymiar sprawiedliwości za dowód charakteryzujący się wyjątkowo dużą wiarygodnością. Okazuje się jednak, że sam wynik badania nie może być traktowany jako świadectwo winy czy niewinności, czego dowód dała pewna sprawa, z jaką zmierzył się nasz zakład.

Pewnego czerwcowego wieczoru w małym miasteczku W. na zachodzie Polski na komisariacie policji pojawiła się pani Anna. Zgłosiła ona oficerowi dyżurnemu, iż została zgwałcona przez mężczyznę, którego, jak jej się wydawało, znała z widzenia. Zgodnie z przyjętą procedurą pani Anna została skierowana na badania ginekologiczne, podczas których pobrano wymaz z dróg rodnych. Równocześnie, na podstawie rysopisu dostarczonego przez panią Annę, policja przystąpiła do poszukiwania gwałciiciela. Zostały one zakończone, gdy zatrzymano pana Ryszarda, mężczyznę znanego miejscowej policji, choć raczej z drobnych przestępstw i wykroczeń niż z przestępstw natury seksualnej. Pan Ryszard po okazaniu został jednak wskazany przez panią Annę jako możliwy napastnik, choć nie potrafiła ona z całkowitą pewnością potwierdzić, że to właśnie on ją zgwałcił.

Kluczowy ślad. Dalsze czynności śledcze obejmowały między innymi decyzję o wykonaniu badań wymazu z dróg rodnych pani Anny celem ujawnienia obecności nasienia i stwier-

pobrania wymazu, próbuje zastosować inną formę pobrania, która w jego przekonaniu umożliwi prawidłowe zabezpieczenie materiału. Zdarza się np., że pobrany materiał jest umieszczany w różnego typu płynach służących konserwowaniu tkanek do badań mikroskopowych. Niestety, potraktowanie takim płynem wydatnie utrudnia odzyskanie z zabezpieczonego wymazu materiału genetycznego i bardzo często uniemożliwia w praktyce uzyskanie profilu genetycznego śladu. Przyczyną takiego postępowania są bardzo różne – począwszy od pośpiechu i braku odpowiedniego przeszkolenia, na zawodowej rutynie skończywszy.

Coś tu nie gra. Wymaz, który został zabezpieczony od pani Anny i trafił do naszego laboratorium, wzbudził nasze podejrzenia już od momentu, kiedy go zobaczyliśmy, gdyż był nim fragment gazy w kolorze intensywnie żółtym. Jego kolor sugerował, że do jego otrzymania zastosowano jeden z odczynników używanych w preparatyce mikroskopowej i który powoduje opisane wyżej problemy z uzyskaniem profilu genetycznego. Nietypową okolicznością był

dzenia, czy ewentualne ślady mogą pochodzić od pana Ryszarda. Wspomniany wymaz trafił do laboratorium naszego zakładu, gdzie poddaliśmy go najpierw szczegółowym oględzinom. Zwykle wymazy tego typu występują w dwóch postaciach. Niektórzy ginekolodzy przenoszą pobraną zawartość na mikroskopowe szkiełka podstawowe, poddają suszeniu i w tej formie wysyłają do dalszych badań. Inni zabezpieczają wymaz na waciku osadzonym na długim patyczku i po wysuszeniu odsyłają do zleceniodawcy. Z punktu widzenia badań genetycznych obydwie opisane wyżej formy zabezpieczenia wymazu są prawidłowe, pod warunkiem właściwego wysuszenia śladu. Zdarza się jednak, że ginekolog, czy też inny lekarz dokonujący

również fakt, iż wymaz pobrano na gazę. Postanowiliśmy jednak spróbować dokonać analizy tego śladu. W pierwszej kolejności fragmenty otrzymanego wymazu poddaliśmy testom mającym wykazać obecność ludzkiego nasienia. Opierały się one na analizie obecności i aktywności w badanym śladzie białek specyficznych dla spermy. Przeprowadzone testy nie wykazały obecności nasienia, co mogło jednak być spowodowane zarówno jego brakiem w śladzie, jak i zniszczeniem wykrywanych białek w wyniku oddziaływania odczynnika, którym „zakonserwowano” wymaz. Ostateczną odpowiedź co do pochodzenia śladu miały dać zatem badania genetyczne, choć kierując się wcześniejszymi doświadczeniami ze śladami

Wynik badań genetycznych jest tylko ostatnim etapem długiego łańcucha procesów, gdzie każde ogniwo ma istotne znaczenie.

* KRÓTKIE PODSUMOWANIE

Ponieważ nasza rola w przedstawionej wyżej sprawie dobiegła końca po ujawnieniu owych szokujących informacji, nie wiemy, jakim wyrokiem zakończyła się omawiana sprawa. Na marginesie opisanych wydarzeń warto jednak pozwolić sobie na kilka uwag natury ogólnej.

- Badania genetyczne są jednym z najprężniejszych narzędzi dostępnych organom ścigania i wymiarowi sprawiedliwości.
- Wysoka pewność wniosków odnośnie pochodzenia badanego materiału biologicznego oddaje nieocenione usługi zarówno w badaniach śladów biologicznych, jak i w analizie spornego pokrewieństwa.
- Czasem zdarza się, że owa wysoka pewność jest błędnie interpretowana jako dowód winy bądź niewinności co, może prowadzić do poważnych błędów, rzutujących na przebieg danej sprawy.
- Należy więc pamiętać, że wynik badań genetycznych jest tylko ostatnim etapem długiego łańcucha procesów, gdzie każde ogniwo ma istotne znaczenie.
- Zaniedbania, niedopatrzania czy błędy poczynione na najwcześniejszym etapie śledztwa mogą zatem znacząco wpłynąć na interpretację otrzymanych wyników badań genetycznych, nawet jeśli wyniki same w sobie zdają się jednoznacznie wskazywać na sprawcę przestępstwa.



Jak pokazała opisana tu historia, każdy dowód, w tym także uzyskany z badań DNA, traktować należy z najwyższą ostrożnością, aby nie przyczynić się do skazania niewinnej osoby

przetarła okolice rany gazą zwilżoną środkiem dezynfekcyjnym, a następnie zapytała asystujących policjantów, gdzie ma odłożyć wykorzystaną do tego celu gazę. Jeden z policjantów miał wg słów oskarżonego powiedzieć: „ja się tym zajmę”, po czym miał schować gazę do koperty...

Podsumowując, zdaniem oskarżonego, to właśnie ten fragment gazy trafił do naszego laboratorium jako wymaz pobrany od pani Anny! Sąd zapytał, czy biorąc pod uwagę wersję przedstawioną przez oskarżonego, obserwowany wynik badań, określony w opinii jako „nietypowy” dla wymazów z dróg rodnych, może być wyjaśniony faktami przedstawionymi przez oskarżonego. Biorąc pod uwagę otrzymane wyniki badań wstępnych (brak śladów nasienia) i genetycznych (brak DNA we frakcji plemników oraz niemożność wykrycia DNA pani Anny w śladzie), a także uwzględniając, że niektóre środki dezynfekcyjne (np. Rywanol) mają kolor żółty, biegły stwierdził, że przedstawiony przez oskarżonego sposób powstania badanego wymazu mógł doprowadzić do rezultatów takich, jakie opisano w opinii wydanej przez nasz zakład. Nie trzeba chyba dodawać, że w obliczu opisywanych faktów doszło do podważenia aktu oskarżenia, zbudowanego głównie, jak się okazało, na niepewnym oświadczeniu poszkodowanej i wynikach badań genetycznych wymazu, który okazał się pochodzić z niepewnego źródła!

Marcin Woźniak

potraktowanymi owym żółtym odczynnikiem, nie spodziewaliśmy się sukcesu.

Czyżby sukces? Wymaz poddaliśmy procedurze tzw. ekstrakcji różnicowej, której celem jest rozdzielenie DNA komórek nabłonkowych i plemników występujących w danym śladzie. W wyniku tej procedury z badanego śladu otrzymuje się dwa preparaty DNA. Pierwszy z nich powinien zawierać DNA z ewentualnych plemników występujących w śladzie – preparat ten jest oznaczany zwyczajowo literą M. Drugi – oznaczany zwyczajowo literą F – zawierać powinien DNA ze wszystkich pozostałych komórek (krwi, nabłonkowych itp.). Po analizie obu preparatów DNA otrzymanych z badanego wymazu okazało się, że jedynie dla preparatu F uzyskano pełny profil genetyczny, podczas gdy dla preparatu M nie udało się otrzymać żadnego profilu. Co ciekawe, profil preparatu F pochodził od jednej osoby i był nią pan Ryszard. Wydawałoby się, że taki wynik powinien usatysfakcjonować nas jako biegłych, gdyż

uzyskaliśmy potwierdzenie obecności DNA pana Ryszarda w wymazie pobranym od pani Anny, co uprawdopodobniło jego udział w zgłoszonym gwałcie.

Nie wszystko złoto... Otrzymany wynik badań genetycznych budził jednak nasze wątpliwości. Pytanie, które sobie zadawaliśmy, brzmiało: skoro wymaz pochodził od pani Anny, to dlaczego nie było w nim jej DNA? W przypadku wymazów z dróg rodnych zwykle jest tak, że zawierają one dużą liczbę komórek nabłonkowych kobiety, od której pochodzą, oraz ewentualnie nasienie i bardzo niewielką liczbę komórek nabłonkowych gwałciiciela. Jeśli nie doszło do ejakulacji, wymaz taki zawiera jedynie komórki nabłonkowe kobiety i niewielką domieszkę komórek nabłonkowych napastnika. W tym drugim przypadku wyniki analizy genetycznej wyglądają zwykle tak, że analiza frakcji M nie daje rezultatu, a analiza frakcji F wykazuje obecność DNA kobiety, od której pochodzi wymaz z ewentualną niewielką domieszką DNA mężczyzny, który ją zgwałcił. Jeśli zatem

w badanym wymazie było nasienie, to dlaczego pochodzący z niego DNA nie występował we frakcji M? Jeśli natomiast nasienia nie było, to w jaki sposób w badanym wymazie znalazło się tak dużo DNA pana Ryszarda, że zdominował on DNA pani Anny i stał się jedynym materiałem, którego wykrycie było możliwe? Dopuszczalnym wyjaśnieniem tego fenomenu było zastosowanie w toku zabezpieczania wymazu owego feralnego żółtego „konserwantu”, który mógł na tyle zmodyfikować strukturę błon komórkowych, że procedura izolacji różnicowej była nieefektywna i cały DNA obecny w badanej próbce, zarówno pochodzący z ewentualnych plemników, jak i z komórek nabłonkowych, trafił do frakcji F. Jeśli owych plemników było w próbce dużo, to pochodzący z nich materiał genetyczny mógł znacząco dominować ilościowo w otrzymanym preparacie, co mogło uniemożliwić wykrycie DNA pani Anny. Ostatecznie zdecydowaliśmy się sporządzić opinię, w której wskazaliśmy na obecność w badanym wymazie DNA pana Ryszarda, opisaliśmy jednak nasze wątpliwości co do

otrzymanego wyniku, określając go ostatecznie jako „nietypowy dla tego rodzaju śladu”.

Niespodzianka w sądzie. Sprawa gwałtu dokonanego na pani Annie znalazła swój dalszy, zaskakujący ciąg w sądzie. Biegły z naszego zakładu został wezwany do miasteczka W. na rozprawę toczącą się przed tamtejszym Sądem Rejonowym. Po zreferowaniu wyników przeprowadzonych badań nadeszła pora na pytania stron. Prokuratura nie miała żadnych pytań, natomiast oskarżony poprosił, aby przeczytać fragment jego zeznania, które składał wcześniej w prokuraturze w toku postępowania przygotowawczego. Treść tego zeznania, składanego – co ważne – jeszcze przed wykonaniem opinii z badań wymazu pobranego od pani Anny, była co najmniej zaskakująca w kontekście wydanej opinii. Otóż oskarżony twierdził, że w momencie, kiedy został zatrzymany przez funkcjonariuszy policji, doszło u niego do otarcia naskórka, które wymagało opatrzenia. Opatrywanie przebiegało w warunkach polowych. Według słów oskarżonego, pielęgniarka opatrująca go



W przypadku gwałtu ślady, w których potencjalnie znajduje się nasienie, poddaje się tzw. ekstrakcji różnicowej.

KONTAKT:

Prof. dr hab. med. Karol Śliwka
kierownik Katedry Medycyny Sądowej

> kizmedsad@cm.umk.pl

Dr hab. Tomasz Grzybowski
prof. UMK

genetyczne badania ojcostwa i inne badania
pokrewieństwa, identyfikacja szczątków ludzkich,
badania pokrewieństwa w linii żeńskiej (mtDNA),
badania pochodzenia ewolucyjnego linii żeńskiej

> tgrzyb@cm.umk.pl

Dr Marcin Woźniak

genetyczna identyfikacja śladów biologicznych,
badania pokrewieństwa w linii męskiej (chromosom Y),
badania pochodzenia ewolucyjnego linii męskiej

> marcinw@cm.umk.pl

Dr Jarosław Bednarek

badania morfologiczno-porównawcze włosów,
antropologia sądowa

> bednarek@cm.umk.pl



**ZAKŁAD GENETYKI
MOLEKULARNEJ I SĄDOWEJ**
Uniwersytet Mikołaja Kopernika
Collegium Medicum – Katedra Medycyny Sądowej

Katedra Medycyny Sądowej Collegium Medicum UMK
Zakład Genetyki Molekularnej i Sądowej
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz
tel. 052. 585.35.52
fax 052. 585.35.53

> kizmedsad@cm.umk.pl