

Využitie Y chromozómalnej STR analýzy v praxi

Anotácia: Táto štúdia sa venuje Y-STR (Y chromosom short tandem repeat) polymorfizmom, ktoré sú umiestnené na mužskom Y chromozóme. Y haplotypizácia využíva nové moderné technológie molekulárnej biológie a trendy z oblasti humánnej populačnej genetiky. Spolu s autozomálnou STR používame obe metódy pri určovaní príbuznosti, v prípadoch identifikácie nezvestných osôb, neidentifikovaných ľudských pozostatkov obetí hromadných nešťastí, príbuzenských vzťahov alebo biogeografického pôvodu. Hlavnou oblasťou použitia Y-STR analýzy zostáva detekcia a hodnotenie mužskej DNA zložky v zmiešaných biologických stopách, obvyčajne s dominantnou ženskou DNA. Táto štúdia v závere popisuje využitie metódy pre policajnú prax na konkrétnych prípadoch. Na našom pracovisku je možnosť realizovať predikciu biogeografického pôvodu z Y haplotypu, ako aj trasovanie haplotypov v referenčnej YHRD databáze.

Kľúčové slová: forenzná genetika, Y-STR, populačná databáza, biogeografický pôvod, Y-STR predikcia.

DNA analýza pomocou krátkych tandemových repetícií – STR (z angl. short tandem repeat – vysoko polymorfných úsekov na autozomálnych a gomozomálnych chromozómoch) má za sebou viac ako dvadsať rokov používania pri identifikácii biologického materiálu ľudského pôvodu. Celkový koncept STR analýzy bol rekapitulovaný v súhrnnej publikácii autormi Jobling a Gill¹. Z rôznorodých biologických materiálov nájdených na mieste trestného činu alebo súvisiacich s trestným činom sú DNA analýzou pomocou kapilárnej elektroforézy generované DNA profily. Tie sú následne porovnávané s DNA profilmi známych osôb, buď pre políciu podozrivých, alebo osôb, ktoré je potrebné na účely policajného vyšetrovania identifikovať a vylúčiť (poškodené osoby, domáce osoby, svedkovia, obeť a pod.). V prípade, že nebola zistená zhoda s porovnanými osobami, sú DNA profily vložené do národnej DNA databázy a prehľadané v príslušných indexoch.

Zhoda DNA profilov podporená štatistickou interpretáciou poskytuje presvedčivý dôkaz pre individuálnu identifikáciu. V prípade nezhody sledovaných DNA profilov individuálna identifikácia nie je možná. Vysoká podobnosť zistených DNA profilov naznačuje možnú angažovanosť blízkych príbuzných a vyžaduje komplexnejšiu štatistickú interpretáciu. STR profilovanie sa využíva v prípadoch individuálnej identifikácie (okrem jednovaječných dvojčiat), testovania príbuznosti, predovšetkým určenie otcovstva, ďalej v prípadoch identifikácie nezvestných osôb, neidentifikovaných ľudských pozostatkov alebo obetí hromadných nešťastí.

Pokrok v oblastiach zviazaných s molekulárnou biológiou a populačnou genetikou v riešení technických a technologických postupov zaznamenal v priebehu posledných rokov významný pokrok. Tieto vylepšenia zahŕňajú zlepšenú schopnosť analyzovať degradovanú DNA² alebo inhibovanú DNA³, stopy s obsahom minimálneho množstva DNA^{4,5}, rozšírenie

¹JOBLING, M. A., GILL, P., 2004, Encoded evidence: DNA in forensic analysis. In *Nature Rev. Genet.* č. 5, s. 739-751.

²ALAEDDINI, R., WALSH, J. S., ABBAS, A., 2010, Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA-A review. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 4(3), s. 148-157.

³ALAEDDINI, R., 2011, Forensic implications of PCR inhibition-A review. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 6(3), s. 297-305.

⁴VAN OORSCHOT, A. R., BALLANTYNE, N. K., MITCHELL, R. J., 2010, Forensic trace DNA: a review. In *Investig Genet.* č. 1, s. 14.

⁵BALDING, J. D., 2013, Evaluation of mixed-source, low-template DNA profiles in forensic science. In *PNAS.* č. 110(30), s. 12241-12246.

používaných STR multiplexov⁶, použitie výsledkov STR analýzy pri príbuzenskom vyhľadávaní⁷ a pri samotnej tvorbe referenčných databáz^{8,9}.

Y-STR haplotypizácia alebo analýza ľudského Y chromozómu pomocou STR markerov je metóda používaná na detekciu a rozlišovanie mužskej DNA v biologickom materiáli. Špecifické postavenie mužského Y chromozómu v rámci molekulárnej genetiky a genetiky človeka zosumarizovali Jobling a Tyler-Smith¹⁰. V ďalších štúdiách sú popísané aj možnosti využitia Y-STR vo forenznej praxi¹¹ a jej interpretácia¹². Metóda bola súbežne vyvinutá s DNA analýzou autozomálnych STR markerov na účely mužskej identifikácie a hodnotená obdobným spôsobom. Svoju opodstatnenosť v praxi dokumentuje v jednom z prvých prípadov využitia Y-STR analýzy vo forenznej aplikácii, kde bol zaistený vaginálny výter z pošvy obete a pomocou Y-STR analýzy bol neprávom odsúdený muž vylúčený ako pôvodca biologického materiálu z pošvového výteru obete¹³.

Hlavnou oblasťou použitia Y-STR analýzy zostava detekcia a hodnotenie mužskej DNA zložky v DNA zmesiach, obyčajne s dominantnou ženskou DNA. Kombinácia metód Y-STR haplotypizácie spolu s autozomálnou STR analýzou sa využíva v prípadoch sexuálneho násillia a v prípadoch násillnej trestnej činnosti, pri ktorej došlo k priamemu fyzickému kontaktu. Popritom sa metóda Y-STR haplotypizácie využíva pri rekonštrukcii paternálnych príbuzenských vzťahov, akými sú vzťah otec – syn, brat – brat, starý otec – vnuk, bratrance, strýko a pod. V praxi sú to prípady identifikácie nezvestných osôb či paternitných sporov. V poslednom období podobne ako Y-SNP (z angl. Y chromosom single nucleotide polymorphism) môžeme využiť rozsiahle vedomosti o charaktere migrácie populácií¹⁴ pri Y-STR haplotypizácii, ktoré poskytujú dôležité informácie o biogeografickom pôvode^{15,16} osoby.

Pri tvorbe Y-STR multiplexov pre foreznú analýzu boli vybrané vhodné Y-STR lokusy z celkového radu kandidátov spĺňajúcich požadované kritériá. Väčšinou sú to Y-STR markery s motívom tetrarepetície (základná jednotka sa opakuje štyrikrát za sebou). Po PCR reakcii sú získané krátke amplikóny s priemerným počtom opakovaní 10 až 30 a s dostatočnou diskriminačnou silou a s rozumne nízkou mutačnou rýchlosťou. Vybrané Y-STR markery musia byť jednoznačne špecifické pre Y chromozóm jedincov mužského pohlavia. Na základe koncipovaných požiadaviek boli vybrané a navrhnuté Y-STR

⁶PHILLIPS, Ch., et al., 2013, Development of a novel forensic STR multiplex for ancestry analysis and extended identity testing. In *Electrophoresis*, č. 34(8), s. 1151-1162.

⁷GERSHAW, J. C., et al. 2011, Forensic utilization of familial searches in DNA databases. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 5(1), s. 16-20.

⁸MRŠIĆ, G., et al., 2012, Croatian national reference Y-STR haplotype database. In *Molecular biology reports*. č. 39(7), s. 7727-7741.

⁹WILLUWEIT S., ROEWER L., 2007, Y chromosome haplotype reference database (YHRD): Update. In *Forensic Sci Int. Genet.* 1(2), 83-87.

¹⁰JOBLING, M., A., TYLER-SMITH, C., 2003, The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nature Rev. Genet.* č. 4, s. 598–612.

¹¹ROEWER, L., 2009, Y chromosome STR typing in crime casework. In *Forensic Sci. Med. Pathol.* č. 5, s. 77–84.

¹²ROEWER, L., GEPPERT, M., 2012, Interpretation Guidelines of a Standard Y-chromosome STR 17-plex PCR-CE Assay for Crime Casework. In Antonio Alonso (ed.), *DNA Electrophoresis Protocols for Forensic Genetics, Methods in Molecular Biology*. Springer, č. 830, s. 43-56.

¹³ROEWER, L., EPPLIN, J. T., 1992, Rapid and sensitive typing of forensic stains using PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. In *Forensic Sci Int.* č. 53, s. 163–171.

¹⁴UNDERHILL, P. A., KIVISILD, T., 2007, Use of Y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu. Rev. Genet.* č. 41, s. 539–564.

¹⁵KAYSER, M., SCHNEIDER, P., M., 2009, DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations. In *Forensic Sci. Int. Genet.* č. 3, s. 154–161.

¹⁶ROEWER, L., 2013, DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. In *Investig Genet.* č. 4(1), s. 22.

polymorfizmy na praktické využitie a zostavené jadro základného súboru Y-STR markerov, nazývané minimálny haplotyp alebo minHt¹⁷ (DYS19, DYS385a/b, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392 a DYS393). Vedecká pracovná skupina pre metódy DNA analýzy (SWGAM) odporučila ďalšie dva Y-STR lokusy (DYS438 a DYS439). Pre praktické použitie získava podporu prostredníctvom odporúčania DNA komisie ISFG (International Society of Forensic Genetics)^{18,19}, vo väčšine laboratórií je v súčasnosti panel 17 vybraných markerov používaný ako štandard. Komerčne dostupné Y-STR sady obsahujú rôzne počty lokusov, od 12 polymorfných lokusov až po 23 polymorfných lokusov, z ktorých každá sada sa obvyčajne skladá z jadra odporúčaných Y-STR lokusov, čiže minimálneho haplotypu, a ďalších vybraných markerov. V odbornej literatúre mnoho prác venuje pozornosť problematike Y chromozómových polymorfizmov s cieľom ich hodnotenia pre potreby rozšírenia základného jadra minHt^{20,21,22,23}.

Doslova revolúciu spôsobila rozsiahla štúdia, ktorej cieľom bolo vybrať Y-STR lokusy s rýchlejšou mierou mutácie²⁴, ktorá sa pri v súčasnosti používaných Y-STR spravidla pohybuje v rozmedzí 10^{-3} až 10^{-5} . Autorom sa podarilo nájsť 13 lokusov z celkového počtu 186 Y-STR hodnotených lokusov, kandidátov s oveľa vyššou mierou mutácií, ktorá sa pohybuje približne hodnotách 10^{-2} , a pomenovali ich ako rýchlo mutujúce Y-STR - RM Y-STR (z angl. rapidly mutating Y-STR).

Forezné využitie RM Y-STR bolo laboratórne testované a overované v štúdií²⁵, v súbore 604 nepříbuzných mužov z 51 populácií, a to pomocou sady Yfiler, čo je štandard v laboratóriách a 13-tich RM Y-STR (tie boli realizované v troch multiplexoch). Analýzou 17 lokusov v sade Yfiler bolo zistených 519 unikátnych Y haplotypov plus ďalších 33 haplotypov u 85 mužov. V porovnaní s 13-timi lokusmi RM Y-STR bolo zistených až 595 unikátnych Y haplotypov a len 3 haplotypy u 8 mužov. Navyše autori uvádzajú, že použitím RM Y-STR pri sledovaní distribúcie haplotypov v geografických oblastiach, navonok homogénne populácie či subpopulácie, sú podstatne rozmanitejšie ako pri použití sady Yfiler.

Ďalšie porovnanie bolo zamerané na odlišenie príbuzných po paternálnej línii, kde bolo zhodnotených 156 párov mužov spojených vzájomne rôznym stupňom príbuzenstva. Získané výsledky ukázali, že 17 lokusová sada YFiler odlišila v 7,7 % pár otec – syn, v 8 % pár brat – brat a v 25 % medzi inými príbuznými. Výsledky 13-ich lokusov RM Y-STR boli v silnom kontraste k 17 lokusovej sade YFiler. RM Y-STR umožnili rozoznať v 48,7 % párov otec – syn, v 60 % párov brat – brat a v 75 % medzi inými príbuznými. Tieto zaujímavé výsledky nám umožnia v budúcnosti diferencovať aj donedávna uzavreté skupiny či lokálne

¹⁷KAYSER, M., et al., 1997, Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. In *Int J Legal Med.* č. 110, s. 125-133.

¹⁸GILL, P., et al., 2001, DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. *Int J Legal Med.* č. 114, s. 305-309.

¹⁹GUSMÃO, L., et al., 2006, DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Int J Legal Med.* č. 120(4), s. 191-200.

²⁰BUTLER, J., M., et al., 2002, A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y-chromosome STR markers. In *Forensic Sci Int.* č. 129, s. 10-24.

²¹RODIG, H., et al., 2008, Evaluation of haplotype discrimination capacity of 35 Ychromosomal short tandem repeat loci. In *Forensic Sci Int.* č. 174(2-3), s. 182-188.

²²GEPPERT, M., EDELMANN, J., LESSIG, R., 2009, The Y-chromosomal STRs DYS481, DYS570, DYS576 and DYS643. In *Leg Med.* č. 11, s. 109-110.

²³VERMEULEN, M., et al., 2009, Improving global and regional resolution of male lineage differentiation by simple single-copy Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms. In *Forensic Sci Int.* č. 3(4), s. 205-213.

²⁴BALLANTYNE, K. N., et al., 2010, Mutability of Y-Chromosomal Microsatellites: Rates, Characteristics, Molecular Bases, and Forensic Implications. In *Am. J. Hum. Genet.* č. 87, s. 341-353.

²⁵BALLANTYNE, K. N., et al., 2012, A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 6(2), s. 208-218.

populácie alebo populácie kde je výrazný efekt zakladateľa. Pri riešení paternitných sporov, identifikácii nezvestných osôb, neidentifikovaných ľudských pozostatkov alebo obetí hromadných nešťastí nám súčasný panel vyhovuje.

Nasadenie metódy Y-STR haplotypizácie v praxi bolo nezávisle overované medzinárodnými kolaboratívnymi cvičeniami a štandardizované forenznými laboratóriami²⁶, validované podľa odporúčenia FBI/National Standards a usmernenia SWGDAM^{27,28,29}. Zároveň je potrebné zdôrazniť, že zámerom používania Y-STR markerov nie je nahradiť v súčasnosti používané jadro autozomálnych STR polymorfnych lokusov, ale skôr v mnohých prípadoch ponúknuť samostatný nástroj na odhaľovanie inak nedostupných informácií.

Vo forenznej praxi je možné uplatniť Y-STR analýzu v prípadoch:

- zmiešanej DNA, v ktorej podiel ženskej DNA k mužskej DNA je obvyčajne nepomerne vyšší, typické pri vaginálnych výteroch zaistených po pohlavnom styku,
- možného sexuálneho násillia, keď sérologické vyšetrenie na prítomnosť mužskej spermy alebo spermii je negatívne,
- sexuálneho napadnutia, keď je predmetný dôkazový materiál sérologickým vyšetrením na prítomnosť spermy pozitívny, autozomálna STR analýza neodhalila cudzie DNA znaky, prípadne potenciálne alely od páchatel'a sú tesne nad prahom detekcie pri kapilárnej elektroforéze,
- sexuálneho násillia, keď predmetný dôkazový materiál sérologickým vyšetrením na amylázy je pozitívny a predpokladáme biologickú zmes mužského a ženského materiálu, typické pri bozkávaní či stopách po pohryznutí,
- obnoveného vyšet'rovania, keď sú dôkazovým materiálom staré spermatické stopy, pri ktorých predpokladáme určitý stupeň degradácie spermy, a analýza DNA pomocou diferenciálnej extrakcie môže byť neúspešná alebo jej použitie je riskantné,
- keď je potrebné stanoviť počet jedincov mužského pohlavia v biologickom materiáli,
- fyzického násillia, keď očakávame v predmetnom dôkazovom materiáli mužský biologický materiál, typické pre stery spod nechťov,
- znásillnenia alebo incestu, keď je na skúmanie predložené plodové vajce alebo biologický materiál po lekárskom zákroku,
- pátrania po nezvestných osobách, keď je potrebné stanoviť vzťah po paternálnej línii, medzi pôvodcom biologického materiálu a predloženým porovnávacím materiálom alebo predloženým Y-STR haplotypom,
- keď je potrebné stanoviť biogeografický pôvod nositel'a z biologického materiálu pomocou metódy predikcie Y haploskupiny z konkrétneho Y-STR haplotypu.

Použitie Y-STR analýzy pri DNA analýze zmiešaného biologického materiálu

Technika PCR umožňuje namnožiť sledované STR polymorfizmy v zmiešaných biologických stopách s nevyváženým pomerom jednotlivých zložiek DNA, no nie je možné zintenzívniť minoritnú zložku DNA vo výslednom PCR produkte. V dôsledku nevyvázenej zmesi DNA sa v PCR produktoch hromadia predovšetkým majoritné DNA znaky.

²⁶KAYSER, M., et al., 1997, Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. In *Int J Legal Med.* č. 110, s. 125-133.

²⁷KRENKE, B. E., et al., 2005, Validation of a male-specific, 12-locus fluorescent short tandem repeat (STR) multiplex. *Forensic Sci Int.* č. 148(1), s. 1-14. Erratum In: *Forensic Sci Int.* 151(1):109. Corrected and republished In: *Forensic Sci Int.* č. 151(1), s. 111-124.

²⁸MULERO, J. J., et al., 2006, Development and validation of the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. In *J Forensic Sci.* č. 51(1), s. 64-75.

²⁹THOMPSON, J. M., 2013, Developmental validation of the PowerPlex® Y23 System: A single multiplex Y-STR analysis system for casework and database samples. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 7(2), s. 240-250.

Tento jav spôsobuje celý rad problémov pri interpretácii DNA znakov v zmesiach, elektroferogram vzorky má celý rad arteficiálnych prejavov, ako sú alelický drop out, stutter produkty alebo pull up. Použitím autozomálnych STR markerov minoritná zložka DNA zostáva obyčajne nedetekovateľná, prípadne len čiastočne viditeľná. Nedostatok autozomálnej STR analýzy môžeme odstrániť alebo aspoň čiastočne riešiť práve pomocou Y-STR haplotypizácie, platí to hlavne v prípadoch s vysokým podielom ženskej DNA, typické pre prípady znásilnenia alebo násilnej trestnej činnosti, pri ktorej dochádza bezprostredne k priamemu kontaktu páchatel'a a poškodenej osoby.

Minoritnú zložku v autozomálnych DNA zmesiach je problémom zachytiť a vyhodnotiť v elektroferograme, ak je nad určitým pomerom. Trucker et al.³⁰ sledovali jednotlivé minoritné alely v rozpätí úspešnosti medzi 54 % až 86 % v DNA zmesiach s pomerom 1 : 19 (pomer minoritná DNA : majoritná DNA), alebo v DNA zmesiach s väčšou úspešnosťou získania výsledku ako 95 % pri pomere DNA 1 : 9³¹. Práve táto diagnostická medzera môže byť vyriešená pomocou Y-STR analýzy, najmä v zmesiach s výrazne nižšou mužskou minoritnou zložkou na pozadí ženského DNA profilu v elektroferograme.

Celý rad odborných prác venuje pozornosť vzorkám s nevyváženým pomerom mužskej a ženskej frakcie DNA. Časť vedeckých štúdií bola venovaná modelovým pokusom s rôznym pomerom mužskej/ženskej DNA, koncentráciou a ich detekciou pomocou Y-STR plexov^{32,33}. Úspešnosť Y-STR analýzy v zmesiach je ovplyvnená konštrukciou multiplexov v PCR reakcii, hladinou citlivosti a celkovou kvalitou minoritnej zložky DNA. V súčasnosti komerčne dostupné súbory Y-STR multiplexov na trhu sú zložené od 12 Y-STR markerov až po 23 Y-STR markerov, s detekčným limitom 125 pg mužskej DNA³⁴ alebo 62,5 pg mužskej DNA³⁵. Laboratórne práce s reálnymi vzorkami, pomocou Y-STR analýzy informujú o pozitívnych výsledkoch Y-STR analýzy v približne jednej tretine opätovne testovaných prípadov sexuálneho násillia³⁶, výtery boli vyhodnotené ako "negatívne" na prítomnosť spermií. Dekairielle a Hoste³⁷ uvádzajú mieru úspešnosti až 48 % pri profilácii Y-STR haplotypov, sérologicky pozitívnych na PSA test (PSA – prostatický špecifický antigén, prítomný v mužskom ejakuláte), z rôznych zaistených výterov, DNA profil pomocou autozomálnej STR analýzy nebol zistený.

Na izoláciu DNA v zmesiach, v ktorých máme sérologicky potvrdenú prítomnosť mužských spermií, môžeme používať metódu diferenciálnej extrakcie³⁸, pomocou ktorej máme možnosť oddeliť bunky jadra mužských spermií od zvyškov biologického materiálu (napr. vaginálne sekréty, epitelové bunky, slinné bunky, leukocyty) vo výteroch z pošvy. Zároveň je potrebné si uvedomiť, že metódou diferenciálnej extrakcie nemôžeme oddeľovať

³⁰TUCKER, V., C., et al., 2011, Developmental validation of the PowerPlex® ESI 16 and PowerPlex® ESI 17 Systems: STR multiplexes for the new European standard. In *Forensic Sci Int.* č. 5 (5), s. 436-448.

³¹MARTIN, G., et al., 2014, Developmental validation of the PowerPlex® 21 System. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 9, s. 169-178.

³²PRINZ, M., et al., 1997, Multiplexing of Y-chromosome specific STRs and performance for mixed samples. In *Forensic Sci Int.* č. 85, s.209-218.

³³SHEWALE, J. G., SINHA, S. K., 2003, Y-Short tandem repeat multiplex systems-Y-PLEX TM6 and Y-PLEXTM5. *Forensic Sci Rev.* č. 15, s. 116-135.

³⁴MULERO, J. J., et al., 2006, Development and validation of the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. In *J Forensic Sci.* č. 51(1), s. 64-75.

³⁵THOMPSON, J. M., 2013, Developmental validation of the PowerPlex® Y23 System: A single multiplex Y-STR analysis system for casework and database samples. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 7(2), s. 240-250.

³⁶SIBILLE, I., et al., 2002, Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. In *Forensic Sci Int.* č. 125, s. 212-216.

³⁷DEKAIRELLE, A. F., HOSTE, B., 2001, Application of a Y-STR pentaplex PCR (DYS19, DYS389I and II, DYS390 and DYS393) to sexual assault cases. *Forensic Sci Int.* č. 118, s. 122-125.

³⁸VUICHARD, S., et al., 2011, Differential DNA extraction of challenging simulated sexual-assault samples: a Swiss collaborative study. In *Investig Genet.* č. 2, s. 11

iný biologický materiál, ako sú jadrá buniek spermií, jej použitie je riskantné pri starých spermatických stopách s predpokladom určitého stupňa degradácie spermy.

V prípadoch s negatívnou cytologickou skúškou poskytuje Y chromozómalná analýza aj po relatívne dlhšom čase (do niekoľkých dní) medzi napadnutím a následne lekársym vyšetrením rozhodujúce dôkazy pre vyšetrovateľov.

Interpretácia výsledkov Y chromozómalnej STR analýzy

Interpretovať výsledok Y chromozómalnej STR analýzy je v praxi³⁹ v zásade možný tromi vyjadreniami, podobne ako pri interpretácii DNA profilu autozomálnej STR analýzy.

Zhoda – píky medzi porovnávanými Y-STR haplotypmi majú rovnaký haplotyp a žiadne nevysvetliteľné rozdiely medzi porovnávanými vzorkami neexistujú.

Vylúčenie – pri porovnaní haplotypov sú medzi porovnávanými Y-STR haplotypmi rozdiely, ktoré môžu byť vysvetlené jedine rozdielnym pôvodom vzoriek, t. j. vzorky pochádzajú od rozdielnych osôb.

Žiadny výsledok – DNA profilovaním nebol zistený žiadny Y-STR haplotyp.

Haplotypy zistené pomocou Y-STR analýzy sú umiestnené na nerekombinujúcej časti Y chromozómu, predstavujú teda jeden lokus, štatistické pravidlá použité pre autozomálne STR nepoužívame, na spoľahlivý odhad frekvencie Y-STR haplotypov je potrebné zriadiť Y chromozómalne referenčné databázy⁴⁰.

Pozorované frekvencie haplotypov alebo odvodené frekvencie z referenčných databáz sa spravidla pohybujú v rozmedzí 10^{-3} až 10^{-5} , diskriminačná sila Y-STR haplotypov je nižšia v porovnaní s autozomálnymi STR, táto skutočnosť neplatí pre RM Y-STR.

V súčasnosti sú možné dva prístupy pre hodnotenie pravdepodobnosti náhodnej zhody medzi dvoma po paternálnej línii nepríbuznými Y-STR haplotypmi:

- metóda sčítania haplotypov v angl. literatúre counting method⁴¹, ktorá na odhad využíva celkový počet haplotypov zahrnutých v databáze a

- metóda prieskumu haplotypu, v angl. literatúre haplotype surveying method⁴², ktorá získava extrapoláciou viac informácií priamo zo štruktúry a frekvencie jednotlivých Y-STR haplotypov v databáze. V prípade hodnotenia výsledkov náhodnej zhody nepríbuzných haplotypov obe metódy – metóda sčítania haplotypov a metóda prieskumu haplotypu – sú v silnej zhode s častými haplotypmi (pozorovaná frekvencia $>0,1$ % v referenčnej populácii). Pri hodnotení vzácných haplotypov sú rozdiely o niečo výraznejšie, pretože veľkosť databázy predstavuje spodnú hranicu odhadu frekvencie metódou sčítania haplotypov⁴³.

Potreba vždy aktuálnej a ľahko dostupnej referenčnej databázy v celosvetovom meradle, prístupnej odbornej verejnosti jednoduchým „kliknutím“, bola realizovaná⁴⁴ s medzinárodnou podporou a spoluprácou rôznych inštitúcií a laboratórií z oblasti medicíny, forenzej genetiky či akademickej obce. Výsledkom je v súčasnosti najrozsiahlejšia online

³⁹Interný dokument KEÚ PZ. Návod na interpretáciu genotypov. Závazná pracovná inštrukcia.

⁴⁰ROEWER, L., 2009, Y chromosome STR typing in crime casework. In *Forensic Sci. Med. Pathol.* č. 5, s. 77–84.

⁴¹GILL, P., et al., 2001, DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. In *Int J Legal Med.* č. 114, s. 305–309.

⁴²ROEWER, L., et al., 2000, A new method for the evaluation of matches in nonrecombining genomes: application to Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes in European males. In *Forensic Sci Int.* č. 114(1), s. 31–43.

⁴³KRAWCZAK, M., 2001, Forensic evaluation of Y-STR haplotype matches—a comment. In *Forensic Sci Int.* č. 118, s. 114.

⁴⁴ROEWER, L., et al., 2000, A new method for the evaluation of matches in nonrecombining genomes: application to Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes in European males. In *Forensic Sci Int.* č. 114(1), s. 31–43.

referenčná databáza – Y Chromosome Haplotype Reference Database (URL: www.yhrd.org). Aktuálne vydanie databázy z konca roku 2013 (release 46) obsahuje 126,931 haplotypov, z tohto 99,823 SWGDAM, 71,235 Yfiler a 19,592 PPY23 profilov z rôznych populácií celého sveta⁴⁵.

Wolf et al.⁴⁶ opísali matematický predpoklad na výpočet štatistickej interpretácie v prípade zmesných vzoriek, ktorých pôvodcami je viacero jedincov mužského pohlavia (v policajnej praxi sa stretávame pri viacnásobnom znásilnení rôznymi útočníkmi). V takom prípade sa stretávame so zastúpením viacerých haplotypov v jednej vzorke. Tento modul bol zároveň implementovaný v rámci databázy YHRD, ktorý je v súčasnosti možné využiť vo forenznej praxi.

Prioritou pri tvorbe referenčných databáz je voľba vhodnej stratégie výberu a následného odberu vzoriek, výber jednotlivých záznamov zo sledovanej populácie, kde okrem samotnej veľkosti databázy, závislej od demografickej štruktúry populácie či lokálnych subpopulácií, je aktuálna potreba čo najreálnejšie zahrnúť všetky zložky populácie reprezentujúce celé populačné spektrum, a tak dosiahnuť čo najvernejšiu diverzitu haplotypov.

Jednotlivé záznamy obsahujú informácie o rodisku biologického otca, prípadne starého otca po paternálnej línii, ideálna je možnosť zahrnúť overené genealogické štúdie, ďalej, ak je to možné, uviesť informácie o priezviskách či ich zmenách, príslušnosť k jazykovej skupine, demografickú históriu, náboženskú príslušnosť⁴⁷. Nerešpektovanie sociálnych, kultúrnych a náboženských vplyvov v miestnych komunitách či uzavretých spoločenstvách často vedie k prílišnému nadhodnoteniu alebo podhodnoteniu jednotlivých skupín v rámci celkovej populácie a k možnosti nesprávnej interpretácie. Pri správnom nastavení stratégie a odberu vzoriek môžeme v európskych populáciách, predtým považovaných z pohľadu forenznej genetiky za dostatočne homogénne, objaviť genetické rozdiely v Y chromozomálnych klastroch, vytvorených v historicky posledných demografických udalostiach⁴⁸.

Úsilie širokej odbornej komunity, ako sa aj s týmto problémom vyrovnáť, môžeme sledovať na stránke YHRD, kde je zároveň uvádzaný priebeh aktualizácií, celkový počet populácií a haplotypov. Pre jednotlivé možnosti vyhľadávania v databáze sú preddefinované vyhľadávacie algoritmy. Haplotypy sú v databáze zaradené v rôznych geograficky a jazykovo preddefinovaných hierarchických úrovniach – metapopuláciách, ktoré zahŕňajú regionálne genetické pripojenie vzoriek (napr. východoeurópska metapopulácia, západoeurópska metapopulácia). Priradenie vzoriek do príslušných metapopulácií (metapopulácia zahŕňa skupiny vzoriek prepojené vzájomne tokom génov a migráciou) je potvrdené genetickými testami⁴⁹.

V policajnej praxi Y-STR haplotypizácia poskytuje užitočné informácie, keď môžeme paternálne príbuzenstvo spájať s miestom trestného činu. Detlaff-Kakol a Pawlowski⁵⁰ opisuje metodicky zaujímavý prípad skríningu vybranej, relatívne početnej vzorky jedincov

⁴⁵WILLUWEIT, S., ROEWER, L., 2007, International Forensic Y Chromosome User Group Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. In *Forensic Sci Int Genet.* č. 1(2), s. 83–87.

⁴⁶WOLF, A., et al., 2005, Forensic interpretation of Y-chromosomal DNA mixtures. In *Forensic Sci Int.* č. 152(2–3), s. 209–213.

⁴⁷ROEWER, L., 2009, Y chromosome STR typing in crime casework. In *Forensic Sci. Med. Pathol.* č. 5, s. 77–84.

⁴⁸ROEWER, L., et al., 2005, International Forensic Y Chromosome User Group. Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. In *Hum Genet.* č. 116, s. 279–291.

⁴⁹WILLUWEIT, S., ROEWER, L., 2007, International Forensic Y Chromosome User Group Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. In *Forensic Sci Int Genet.* č. 1(2), s. 83–87.

⁵⁰DETLAFF-KAKOL, A., PAWLOWSKI, R., 2002, First polish DNA ‘‘manhunt’’ - an application of Y-chromosome STRs. In *Int J Legal Med.* č. 116, s. 289–291.

mužského pohlavia pomocou Y-STR analýzy na účel identifikácie páchatel'a. DNA profily získané zo spermatických stôp zanechaných na mieste činu poskytli dôležitú informáciu, že jeden a ten istý muž spáchal všetky znásilnenia. Vyšetrených bolo deväť Y-STR lokusov, získané výsledky boli použité na zníženie okruhu veľkého počtu podozrivých. Nájdený bol jeden muž, ktorý mal identický Y-STR haplotyp vo všetkých deviatich Y chromozómových STR lokusov a DNA profil v deviatich z desiatich autozomálnych STR lokusov. Táto informácia síce muža vylúčila, ale zreteľne naznačila, že skutočný násilník, ktorý zanechal stopy na mieste činu má príbuzenský vzťah k už vylúčenému mužovi. Analýzou referenčnej DNA porovnávacej vzorky brata bola potvrdená zhoda so skúmaným biologickým materiálom (identický autozomálny DNA profil so stopami na mieste činu).

Prípado zo Slovenska, kde v roku 2009 bol na KEÚ PZ Bratislava riešený zločin lúpeže, pri ktorom poškodená vyjadrila podozrenie, že pri lúpežnom prepadnutí bola aj znásilnená. Trestnému činu lúpeže predchádzalo napadnutie neznámou osobou, pri ktorom bola obeť proti svojej vôli intoxikovaná neznámou chemickou látkou. Vyšetrovateľ predložil okrem iných stôp a predmetov nohavičky zaistené od poškodenej a výter z pošvy obeť. Sérologickým skúmaním bola dokázaná na dámskych nohavičkách a výtere z pošvy sperma, autozomálnou analýzou DNA bola v oboch stopách zistená zmes, ktorej majoritnú časť tvorili alely od poškodenej. Pomocou sady Yfiler a Y-STR analýzy boli zistené zhodné haplotypy. Zistený Y haplotyp bol prehliadnutý v národnej databáze, kde bola zistená zhoda s osobou, ktorá mala záznam už v minulosti, taktiež v súvislosti so sexuálnym trestným činom. Porovnaním DNA profilu osoby uloženej v databáze s minoritnými alelami v zmesiach nebolo možné vylúčiť tohto muža ako pôvodcu biologického materiálu.

Prípady, ako sú tieto, keď Y-STR analýza poskytuje cenné informácie o paternálnej príbuznosti testovaných osôb, očakávame čoraz častejšie. V blízkej budúcnosti bude použitie profilovania Y chromozómu bežnou súčasťou policajnej praxe a jednou z možností interpretácie dôkazov pred súdom.

Ďalší prípad demonštruje spôsob predikcie biogeografického pôvodu, keď autozomálny DNA profil chýbal a k dispozícii bol Y-STR haplotyp⁵¹, ako stopa boli predložené stery spod nechťov obeť. Policajnou operatívnou činnosťou bol vytypovaný široký okruh možných podozrivých osôb, následný masový skrining 558 jedincov mužského pohlavia viedol k mužovi, ktorého zistený DNA haplotyp sa zhodoval vo všetkých 11-ich Y-STR lokusoch s haplotypom zisteným zo sterov spod nechťov. Dôkazový materiál a podozrivý muž boli ďalej analyzovaní pomocou rozšírenej sady Y-STR markerov, až nakoniec bola zistená jedna nezhoda (jeden Y-STR marker z celkového počtu 21 vyšetrených markerov). Výsledok viedol k vylúčeniu muža ako pôvodcu biologického materiálu.

Prehľadanie zisteného Y haplotypu zo sterov spod nechťov v databáze YHRD medzi 63,369 haplotypmi 9-lokusového štandardu (63,369 haplotypov analyzovaných 9-tich Y-STR markerov a vložených do databázy z rôznych metapopulácií celého sveta) zreteľne ukázalo na muža, ktorý na základe biogeografického trasovania pôvodu mal africké korene. Zistená zhoda 9-tich Y-STR markerov medzi neznámym haplotypom spod nechťov obeť a šiestimi zodpovedajúcimi haplotypmi v databáze YHRD naznačila, že hľadaný pôvodca s uvedeným haplotypom pochádza z africkej, afro-karibskej alebo afro-americkej metapopulácie.

Prípado mal pokračovanie, o rok neskôr bol zatknutý podozrivý muž, ktorého haplotyp sa úplne zhodoval s 21 lokusmi haplotypu, muž sa priznal k zločinu. Etnický pôvod tohto muža bol afro-karibský. Z uvedeného prípadu vyplýva nutnosť rozšírenia základného súboru sledovaných 11 lokusov v bežnej forenznnej praxi o ďalšie vysoko informatívne Y-STR lokusy na potvrdenie alebo vylúčenie náhodnej zhody haplotypov.

⁵¹ROEWER, L., 2009, Y chromosome STR typing in crime casework. In *Forensic Sci. Med. Pathol.* č. 5, s. 77–84.

Ďalším zaujímavým prípadom, kde bola využitá predikcia biogeografického pôvodu pomocou Y haplotypov, bola séria piatich vražd a znásilnení, ku ktorým došlo v priebehu 18 mesiacov v Baton Rouge, Louisiana⁵².

Na základe výpovedí očitého svedka bol videný beloch, ako opúšťa v pickupe jedno z miest trestného činu. Polícia začala zber porovnávacích vzoriek DNA od viac ako 1000 belochov v okolí mesta, napriek rozsiahlemu vyšetrovaniu v teréne a investigatívnej práci sa nepodarilo nájsť vinníka dlhých sedem mesiacov.

Po tomto čase si polícia nechala vypracovať test biogeografického pôvodu pôvodcu biologických vzoriek získaných z miest trestného činu. Testom bolo zistené, že vzorky pochádzajú od muža, ktorý mal z 85 % afro-amerických predkov a z 15 % americko-indický biogeografický pôvod. Vyšetrovacie úrady obrátili svoju pozornosť aj týmto smerom a do dvoch mesiacov bol zatknutý miestny rezident, Afroameričan s rozsiahlym záznamom v trestnom registri. Úspešnosť hľadania potvrdila zhoda s 13 autozomálnymi STR zadržanej osoby so stopami nájdenými na mieste činu.

V ďalšom prípade vraždy 16-ročného dievčaťa v Holandsku bol testovaný biogeografický pôvod DNA, ktorý ukázal na západoeurópsku metapopuláciu, čím bolo vylúčené podozrenie miestnych obyvateľov upriamené na neďalekú ubytovňu. V danej ubytovni boli ubytovaní žiadatelia o azyl z Blízkeho východu a severnej Afriky⁵³, ktorých biogeografický pôvod je odlišný od západoeurópskej metapopulácie.

Tieto, ako aj ďalšie prípady podporujú tvrdenie, že v budúcnosti analýzy umožňujúce predvídať biogeografický pôvod spolu s metódami DNA fenotypizácie môžu byť použité pri inteligentnom DNA skríningu biologického materiálu neznámeho pôvodu. Na to sú potrebné v budúcnosti ďalšie validačné štúdie, ako aj riešenie etickej a právnej roviny testovania. Nové spôsoby skúmania Y chromozómu by sa tak stali štandardom rešpektovaným v širokej odbornej verejnosti a v akademických kruhoch.

Záver

Y-STR haplotypizácia je metóda detekcie a rozlíšenia mužskej DNA, Y-STR analýza je neoceniteľným doplnkom ku štandardnému panelu autozomálnych STR lokusov pri DNA profilovaní, a to najmä v prípadoch násilných trestných činov, kde sú častejšie prítomné zmesné vzorky.

Paternálna dedičnosť Y haplotypu znemožňuje interpretáciu náhodných zhôd Y-STR haplotypov, z dôvodu výskytu totožného Y-STR profilu medzi príbuznými mužmi aj v niekoľkých generáciách. Na posúdenie náhodnej zhody sú nevyhnutné veľké, dostatočne štruktúrované databázy, aby bolo možné odhadnúť, do akej miery je „zdieľaný“ haplotyp v referenčnej populácii. Viac konzervatívnejší, zároveň ľahko interpretovateľný a obhájitelný prístup hodnotenia haplotypov je metóda sčítania haplotypov, ktorá vyžaduje veľkú databázu so vzorkami populácie z celého sveta. Na tento účel bola koncipovaná referenčná databáza Y Chromosome Haplotype Reference Database – YHRD.

Príbuzní po paternálnej línii majú snahu žiť v geografickom a kultúrnom území svojich pôvodných predkov. Analýza Y chromozómu má potenciál hodnotiť závery o biogeografickom pôvode daného Y-STR profilu aj na tejto skutočnosti.

V súčasnosti validované panely Y-STR markerov sú používané laboratóriami na odhaľovanie trestnej činnosti. V prípadoch, keď sú k dispozícii len informácie z Y chromozómu, je nevyhnutné jadro sady Y-STR lokusov rozšíriť o ďalšie, vysoko informatívne lokusy na potvrdenie alebo vylúčenie náhodnej zhody haplotypov.

⁵²BUTLER, J. M., 2005, Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. Academic Press. s. 688.

⁵³KAYSER, M., DE KNIJFF, P., 2011, Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nature Rev. Genet.* č. 12. s. 179-192.

Pod'akovanie: Táto štúdia vznikla vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt: Centrum excelentnosti bezpečnostného výskumu kód ITMS: 26240120034, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- ALAEDDINI, R., 2011, Forensic implications of PCR inhibition-A review. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 6(3), s. 297-305.
- ALAEDDINI, R., WALSH, J. S., ABBAS, A., 2010, Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA-A review. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 4(3), s. 148-157.
- BALDING, J. D., 2013, Evaluation of mixed-source, low-template DNA profiles in forensic science. In *PNAS.* č. 110(30), s. 12241-12246.
- BALLANTYNE, K. N., et al., 2010, Mutability of Y-Chromosomal Microsatellites: Rates, Characteristics, Molecular Bases, and Forensic Implications. In *Am. J. Hum. Genet.* č. 87, s. 341–353.
- BALLANTYNE, K. N., et al., 2012, A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 6(2), s. 208-218.
- BUTLER, J. M., 2005, Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. Academic Press. s. 688.
- BUTLER, J., M., et al., 2002, A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y-chromosome STR markers. In *Forensic Sci Int.* č. 129, s. 10–24.
- DEKAIRELLE, A. F., HOSTE, B., 2001, Application of a Y-STR pentaplex PCR (DYS19, DYS389I and II, DYS390 and DYS393) to sexual assault cases. *Forensic Sci Int.* č. 118, s. 122–125.
- DETTLAFF-KAKOL, A., PAWLOWSKI, R., 2002, First polish DNA “manhunt”- an application of Y-chromosome STRs. In *Int J Legal Med.* č. 116, s. 289–291.
- GEPPERT, M., EDELMANN, J., LESSIG, R., 2009, The Y-chromosomal STRs DYS481, DYS570, DYS576 and DYS643. In *Leg Med.* č. 11, s. 109-110.
- GERSHAW, J. C., et al. 2011, Forensic utilization of familial searches in DNA databases. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 5(1), s. 16-20.
- GILL, P., et al., 2001, DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. In *Int J Legal Med.* č. 114, s. 305–309.
- GUSMÃO, L., et al., 2006, DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Int J Legal Med.* č. 120(4), s. 191–200.
- Interný dokument KEU PZ. Návod na interpretáciu genotypov. Záväzná pracovná inštrukcia.
- JOBLING, M. A., GILL, P., 2004, Encoded evidence: DNA in forensic analysis. In *Nature Rev. Genet.* č. 5, s. 739-751.
- JOBLING, M., A., TYLER-SMITH, C., 2003, The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nature Rev. Genet.* č. 4, s. 598–612.
- KAYSER, M., DE KNIJFF, P., 2011, Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nature Rev. Genet.* č. 12. s. 179-192.
- KAYSER, M., et al., 1997, Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. In *Int J Legal Med.* č. 110, s. 125-133.
- KAYSER, M., SCHNEIDER, P., M., 2009, DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations. In *Forensic Sci. Int. Genet.* č. 3, s. 154–161.

KRAWCZAK, M., 2001, Forensic evaluation of Y-STR haplotype matches-a comment. In *Forensic Sci Int.* č. 118, s. 114.

KRENKE, B. E., 2005, Validation of a male-specific, 12-locus fluorescent short tandem repeat (STR) multiplex. *Forensic Sci Int.* č. 148(1), s. 1–14. Erratum In: *Forensic Sci Int.* 151(1):109. Corrected and republished In: *Forensic Sci Int.* č. 151(1), s. 111-124.

MARTIN, G., et al., 2014, Developmental validation of the PowerPlex® 21 System. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 9, s. 169-178.

MRŠIĆ, G., et al., 2012, Croatian national reference Y-STR haplotype database. In *Molecular biology reports.* č. 39(7), s. 7727-7741.

MULERO, J. J., et al., 2006, Development and validation of the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. In *J Forensic Sci.* č. 51(1), s. 64–75.

PHILLIPS, Ch., et al., 2013, Development of a novel forensic STR multiplex for ancestry analysis and extended identity testing. In *Electrophoresis*, č. 34(8), s. 1151-1162.

PRINZ, M., et al., 1997, Multiplexing of Y-chromosome specific STRs and performance for mixed samples. In *Forensic Sci Int.* č. 85, s. 209–218.

RODIG, H., et al., 2008, Evaluation of haplotype discrimination capacity of 35 Y-chromosomal short tandem repeat loci. In *Forensic Sci Int.* č. 174(2–3), s. 182–188.

ROEWER, L., 2009, Y chromosome STR typing in crime casework. In *Forensic Sci. Med. Pathol.* č. 5, s. 77–84.

ROEWER, L., 2013, DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. In *Investig Genet.* č. 4(1), s. 22.

ROEWER, L., EPPLEN, J. T., 1992, Rapid and sensitive typing of forensic tains using PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. In *Forensic Sci Int.* č. 53, s. 163–171.

ROEWER, L., et al., 2000, A new method for the evaluation of matches in nonrecombining genomes: application to Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes in European males. In *Forensic Sci Int.* č. 114(1), s. 31–43.

ROEWER, L., et al., 2005, International Forensic Y Chromosome User Group. Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. In *Hum Genet.* č. 116, s. 279–291.

ROEWER, L., GEPPERT, M., 2012, Interpretation Guidelines of a Standard Y-chromosome STR 17-plex PCR-CE Assay for Crime Casework. In Antonio Alonso (ed.), *DNA Electrophoresis Protocols for Forensic Genetics, Methods in Molecular Biology.* Springer, č. 830, s. 43-56.

SHEWALE, J. G., SINHA, S. K., 2003, Y-Short tandem repeat multiplex systems-Y-PLEX TM6 and Y-PLEXTM5. *Forensic Sci Rev.* č. 15, s. 116–135.

SIBILLE, I., et al., 2002, Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. *Forensic Sci Int.* č. 125, s. 212–216.

THOMPSON, J. M., 2013, Developmental validation of the PowerPlex® Y23 System: A single multiplex Y-STR analysis system for casework and database samples. In *Forensic Sci Int. Genet.* č. 7(2), s. 240-250.

TUCKER, V., C., et al., 2011, Developmental validation of the PowerPlex® ESI 16 and PowerPlex® ESI 17 Systems: STR multiplexes for the new European standard. In *Forensic Sci Int.* č. 5 (5), s. 436-448.

UNDERHILL, P. A., KIVISILD, T., 2007, Use of Y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu. Rev. Genet.* č. 41, s. 539–564.

VAN OORSCHOT, A. R., BALLANTYNE, N. K., MITCHELL, R. J., 2010, Forensic trace DNA: a review. In *Investig Genet.* č. 1, s. 14.

VERMEULEN, M., et al., 2009, Improving global and regional resolution of male lineage differentiation by simple single-copy Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms. In *Forensic Sci Int.* č. 3(4), s. 205-213.

VUICHARD, S., et al., 2011, Differential DNA extraction of challenging simulated sexual-assault samples: a Swiss collaborative study. In *Investig Genet.* č. 2, s. 11.

WILLUWEIT, S., ROEWER, L., 2007, International Forensic Y Chromosome User Group Y chromosome haplotype reference database (YHRD): update. In *Forensic Sci Int Genet.* č. 1(2), s. 83–87.

WOLF, A., et al., 2005, Forensic interpretation of Y-chromosomal DNA mixtures. In *Forensic Sci Int.* č. 152(2–3), s. 209–213.

Key words: forensic genetics, Y-STR, population databases, biogeographic ancestry, Y-STR prediction

Summary

Y chromosome STR typing in forensic investigation: This study is concerned on STR (Y chromosome short tandem repeat) polymorphisms, which are located on male Y chromosome, and also on utilizing new modern technologies of molecular biology in human population genetics. Y-STR typing represents an alternative method to the current routine used autosomal STR analysis for more accurate individual identification.

Y-STR typing is furthermore used in determining family relationships, biogeographical origin and in forensic DNA typing. Y-STR analysis is an invaluable tool to examine evidence in sexual assault cases and in other forensic casework. Unambiguous detection of the male component in DNA mixtures with a high female background is still the main field of application of forensic Y-STR haplotyping. Since paternal relatives tend to live in the geographical and cultural territory of their ancestors, the Y chromosome analysis has a potential to make inference on the population of origin of a given Y chromosomal profile. Y-chromosome which shows a strongly clustered geographical distribution due to the linear inheritance and the patrilocality of ancestral groups. Large population databases, namely the Y-STR Haplotype Reference Database (YHRD), have been established to assess the evidentiary value of Y-STR matches by means of frequency estimation methods (counting and extrapolation). Currently a panel of validated Y-STR markers is used by crime labs. In cases, where other than Y chromosome information is not available, this core marker set must inevitably be extended by additional highly informative loci to confirm or exclude a match.

*mjr. Mgr. Andrej Choma, PhD.
Oddelenie biológie a genetickej analýzy
Kriminalistického a expertízneho ústavu PZ
Bratislava
e-mail: andrej.choma@minv.sk, kl. 57324;*

Recenzenti: Ing. Eduard Sivčo, RNDr. Regina Sepšiová, PhD.