



UPPSALA
UNIVERSITET

DNA-analyser av brottsbevis inom polisen

Elin Nygård

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2011
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Dagens tekniker för att analysera DNA som hittats på brottsplatser från offer och från misstänkta har utvecklats avsevärt sedan den första metoden utvecklades. Denna metod har legat som grund för att sedan förfinas och utvecklas till ett antal olika metoder som kan användas beroende av omständigheterna kring brott som begåtts. Dessa nya metoder har resulterat i att gamla olösta fall, Cold Cases, har kunnat tas upp igen för ett nytt försök att få fallen lösta.

Allt eftersom DNA-analyseringen utökats har lagring av dess resultat omdiskuterats. Idag finns tre stycken olika typer av register där DNA-profiler sparas. DNA-profilerna sparas olika lång tid beroende på om profilen kunnat kopplas till individ. Profilerna tas bort från registren en tid efter avtjänat straff.

Inledning

Den 22 november 1983 i Narborough, en liten by i England söder om Leicester, påträffades en 15-årig flicka i en skogsdunge. Flickan som senare visade sig vara Lynda Mann hade blivit strypt till döds. Vid obduktion och vidare laboratorieanalyser kunde man finna spår av sekret som tydde på försök till sexuellt utnyttjande. Sekretet analyserades på så vis att man typbestämde sperman i ett enzymssystem, phosphoglucomutase (PGM). Resultatet gav en stark reaktion på PGM1+ och sedan kunde även blodgrupp på förövaren tas fram. Gärningsmannen visade sig ha blodgrupp A och med kombinationen PGM1+ kunde man nu sälla männen i området med jämförande blodprov. Alec Jeffreys, en genetiker som arbetade med att kartlägga människans gener och dess utveckling, gjorde en fantastisk upptäckt i september 1984. "Genetic fingerprinting" kom han att kalla tekniken för att profilera en individs genetiska markörer (Wambaugh 1989). Tre år efter mordet på Lynda Mann hittade man Dawn Ashworth i ett område närliggande Narborough. Hon hade gått samma öde till mötes som Lynda, strypt och utsatt för grovt sexuellt våld. Med hjälp av Alec Jeffreys teknik, genetic fingerprinting, kunde han visa att den man som satt häktad inte var den skyldige. Jeffreys tester visade att det var samma gärningsman i Lynda- och Dawnfallet. Poliserna fick söka vidare efter den person vars DNA-profil Jeffreys fått fram. Alla män boendes i byn i åldrarna 17-34 uppmuntrades att frivilligt lämna blod - och salivprov för analys. Av dessa män infann sig 90 procent, de 10 procent som inte infann sig var dem som blev polisens huvudintresse. Hösten 1987 inkommer ett tips om att någon hört att en man lämnat blod i en annan mans ställe. Polisen kunde genast se att den man som lämnat blod för Colin Pithfork inte hade samma namnteckning som Colin tidigare lämnat. Colin Pithfork anhölls och erkände de båda morderna. Analys av blodet visade att det matchade blodet som fanns vid mordet på Lynda och Dawn (Wambaugh 1989).

Varför det är så lämpligt att använda DNA som bevis

DNA är ursprungligen från biologiskt nedärvt material som är unikt för varje individ, såvida de inte är enäggstvillingar. I rättegångar anses dna-bevis som de mest tillförlitliga och är de mest slag kraftiga bevisen man kan använda sig av. Vittnens utsagor kan innehålla vissa felaktiga faktorer, den mänskliga faktorn. Andra former av bevis som behöver tolkas utsätts alltid för en risk att de tolkas fel, man måste alltid räkna med felmarginaler. DNA-analyser är unika och kan därför koppla samman individer till brottsplatser om spår av DNA lämnats (Frumkin *et al.* 2010). Sannolikheten att en annan människa ska ha exakt samma DNA-profil, det vill säga samma antal repeterande sekvenser på alla kromosomer, är 1 på 1 triljon (Strachan & Read 2010).

STR – områden (Short Tandem Repeats)

Det är specifika områden på DNA-molekylerna som väljs ut, så kallade STR-områden (Short Tandem Repeats) även kallade microsatelliter. Dessa STR-bitar är områden på DNA vilka består av 2-5 baspar som repeteras olika många gånger för olika individer. STR-områden finns utspridda över hela kromosomerna och genom att man analyserar flera olika valda STR-områden är det högst osannolikt att en annan individ har exakt samma antal repetitioner på alla STR-områden på båda kromosomerna (Törnström 2005). Dessa repetitiva områden på DNA-molekylen är icke-kodande och är unika för varje individ och utgör därför ett mycket användbart redskap för identifiering (Strachan & Read 2010).

Användningsområden

Analyser av DNA används idag inom flera olika områden och dess metoder har förfinats för att passa dessa olika användningsområden. Analyseringen för att binda personer, både misstänkta och offer, till brottsplatser och till varandra är det främst användningsområdet som lyfts fram i media. Lika stor betydelse har svaren från analyserna för att avskrika misstänkta från brott som begåtts.

Olika typer av DNA-prover kan säkerhetsställa släktskap och är något som används frekvent i dagens samhälle, så kallade faderskapstest. Vid stora katastrofer finns idag möjligheten att identifiera de som förkommit i samband med dessa tragedier och på så vis kunna informera släktingar om vad deras anhöriga gått för öde till mötes (Gill 2005).

DNA-analys

Förutsättningar

Förutsättningarna för en optimal DNA-analys är främst kvaliteten av provet man önskar att analysera. Tillgången av celler som innehåller cellkärnor och således DNA-molekyler är det absolut primära för processen. Kvantiteten av prov har också betydelse, det är önskvärt med ca 80-100 celler för att få ett tydligt resultat. Tillgång till stor mängd prov är självfallet en fördel då det kan falla sig så att inte hela ursprungsprovet är av god kvalitet. Även om fler typer av analysering önskas genomföras så är det till stor fördel med stor kvantitet av ursprungsprovet. Beroende på i vilket skick som provet är i beslutas vilken extraktionsmetod man ska använda

sig av, för att få fram cellerna som ska analyseras (Törnström 2005). Här nedan beskrivs standardproceduren för att från ett DNA-prov få fram en DNA-profil.

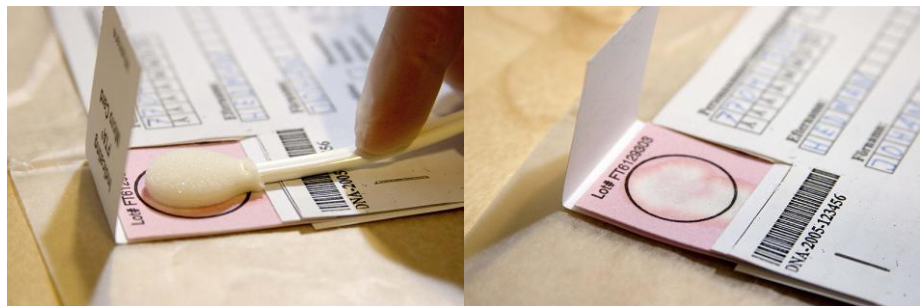
Provtagning

FTA – kort

FTA är en förkortning för Flinders Technology Associates och är ett hjälpmedel för att samla DNA och förvara det på ett bra sätt till dess att analys ska genomföras. FTA – korten är behandlade med inhibitoriska ämnen som förhindrar att DNA-provet bryts ned. Kortet innehåller även antimikrobiska agenter som på så sätt ser till att bakterier och svampar inte kan bildas, därav ingen kontaminering. Ännu en fördel med FTA – korten är att de skyddar DNA-molekylerna från UV-strålning som är en stor faktor till att DNA förstörs.

Då man samlat endotelceller från insidan av kinden med hjälp av en provtagningspinne trycks området mot det utmärkta området på FTA-kortet. Då provet överförs ändrar området färg från rosa till vit där DNA - provet finns. För att analysera provet stansas cirka 100 små cirklar ut från provet som finns inom den markerade cirkeln på FTA – kortet.

Experiment som har jämfört utvinningen av DNA från prover som förvarats på ett FTA – kort och prover som samlats med hjälp av en provtagningspinne som har ett yttre skikt av cellulärt material som sedan får torka och behandlas i ett provrör visar att FTA – korten ger ett bättre resultat. Detta kan dels bero på att FTA – korten är behandlade med agenter som förhindrar att mikroorganismer bildas på proverna. Fördelen med FTA-kort är att DNA-prov kan sparas i rumstemperatur i upp till 10 år innan analys sker. Analys av DNA som samlats med en provtagningspinne måste genomföras inom fem dagar efter provtagningen. Den avgörande anledningen till att FTA – korten ger bättre analysresultat är troligen att proven undkommer kontaminering (Milne *et al.* 2006, Al Safar H. S *et al.* 2011)



Figur 1. DNA-prov, epitelceller från insidan av kinden, som överförs på ett FTA-kort (Marcus Andrae/SKL).

Utvinning av DNA

Då man har fått fram cellerna som ska analyseras måste man frigöra DNA-molekylerna från dessa. För detta krävs att man upphetar cellerna så att deras cellväggar förstörs, upphetningen sker i 2 olika värmeintervall, det varmaste är 100 grader. Upphetningen av cellerna skadar inte DNA:t eftersom det tål högre temperaturer än cellerna, därför är det en effektiv metod för att frigöra DNA (Törnström 2005).

Då man fått fram DNA gör man en så kallad RT-PCR (Realtidbaserad Polymerase Chain Reaction) för att på så sätt kunna avgöra hur många baspar DNA man har lyckats extrahera från ursprungsprovet (Ansell & Stegetyr 2008). Då man genomför

en RT-PCR förstör man provet och därför används endast en bråkdel utav ursrungsprovet till denna analys. Provet kopieras och jämförs sedan med värden på känd mängd DNA. På det sättet kan man få fram koncentrationen av DNA i ursrungsprovet. Man använder sig av RT-PCR för att få en bra utgångspunkt på analysarbetet (Törnström 2005).

Kopiering av STR-områden

När RT-PCR har körts och visat att det finns önskad mängd DNA påbörjas själva kopieringen av DNA-t. De områden som analyseras är förvalda områden som det finns statistiska index på, genomförda med hjälp av markörer, för olika populationer. Resultaten av analysen kan sedan jämföras med rätt index, det vill säga markörerna för den populationen och geografiska område man tillhör och på så vis kan man kontrollera sannolikheten för att en annan individ skulle ha exakt samma antal repetitioner för vardera markören (Strachan & Read 2010).

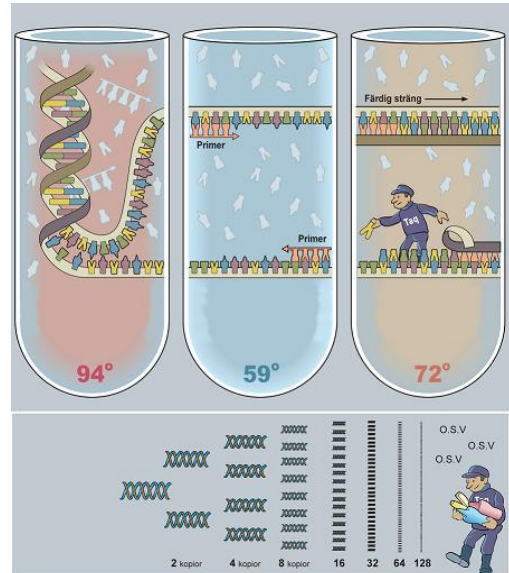


Fig. 2 Kopiering och amplifiering av DNA i PCR-reaktion. Omgjord efter (Martin Ek)

Tio STR-områden väljs ut på DNA-molekylen för att bli amplifierade med hjälp av PCR-metoden (Se figur.2 för beskrivning av amplifieringen). Då man kör PCR amplifierar man ofta flera STR-områden samtidigt, då kallas det för multiplex PCR. Chansen att släktingar har lika STR-områden är ganska stor och därför brukar man välja ut några fler områden som amplifieras vid fall där släktingar är inblandade. För att kunna könsbestämma individen som DNA-t tillhör analyseras även området som är könsbestämmande på DNA-molekylen (Törnström 2005). Det könsbestämmande området är det lokus där genen amelogenin sitter. Amelogenin finns på både x- och y-kromosomen och det är den genen som man sekvenserar för könsbestämning. Amelogenins storlek skiljer sig mellan x- och y-kromosomen och utgör därigenom ett utmärkt verktyg för könsbestämning (Strachan & Read 2010).

Det DNA-kitt som avser alla de beståndsdelar som används vid en DNA-analysering har som standard analyserat 10 STR-områden plus könsbestämning. Nu har Statens Kriminaltekniska Laboratorium (SKL) bytt DNA-kitt för att öka antalet STR-områden som analyseras. Det nya kittet analyserar 15 STR-områden samt området för könsbestämning. Ju fler STR-områden som analyseras desto mer detaljerad DNA-profil (Albinsson *et al.* 2011).

Separering och utläsning

Då amplifieringen av områdena med hjälp av PCR har genomförts placeras man proverna på en gel. Därefter körs en gelelektrofores och proverna kommer då att vandra olika långt i gelen beroende på hur stora fragmenten är, det vill säga hur många baspar provet består av. Då proverna vandrat klart har man fått olika band i

gelen som visar storleken i antal baspar, antalet repetitioner, för de olika proverna. Dessa band kan sedan jämföras med andra analyser som gjorts på till exempel misstänkta, brottsbevis och med de standardiserade markörerna. De finns två olika system med standardiserade markörer för STR-områden. Dels finns det ett system som heter CODIS som används främst i USA och dels finns det SGM+ som är det system som används i Europa. Det är olika system då genpooler ser olika ut för olika folkslag. Specifika alleler är mer eller mindre vanliga för olika folkslag och det måste tas hänsyn till i analysen. Markörerna för de olika systemen har valts ut för att få fram en klar identifiering utan att avslöja för mycket om individens gener. (Strachan & Read 2010).

Utvärdering av analysen

För att sedan ta ställning till sannolikheten att DNA-analyser överensstämmer med varandra använder man sig bland annat av statistiska uträkningar som har sin grund i de standardiserade systemen över allelfrekvenserna för population i ett visst geografiskt område (Strachan & Read 2010). Om profiler överensstämmer efter analys av olika prover säger man att man har en match.

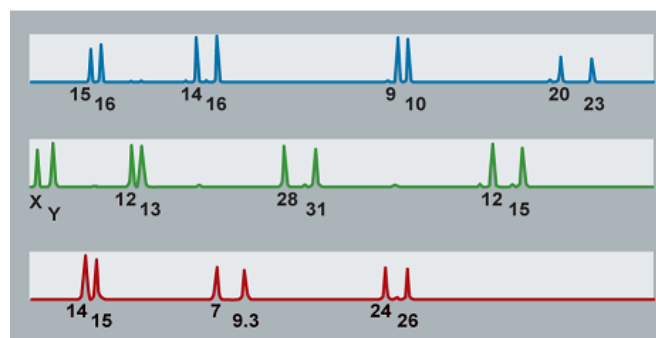


Fig. 3 Elektroferogram som visar allelfrekvenserna för STR-bitarna. Pikarna visar antalet baspar på de två olika kromosomerna för 10 STR-områden samt könsbestämning. Elektroferogrammet är DNA-profilen. Omgjord efter (Kriminalteknik 1-2005 Martin Ek)

Allelfrekvenserna kan väljas att presenteras på olika sätt. Ett lätt överskådligt sätt är att märka in STR-bitarna med olika fluorescerande färger. Den fluorescerande färgen uppstår då primers är inmärkt med olika färger då de amplifierar STR-bitarna (Fig.3) (Jackson & Jackson 2011).

Begränsningar av analysmetoden

Kontaminering

Den största risken för att analyseringen inte ska ge tydliga resultat beror främst på om provet kontamineras med annat DNA utifrån. Kontaminering är ett problem som man ständigt lär ta hänsyn till när man hanterar DNA-prover eftersom DNA-molekyler finns ständigt i vår närvaro. Degradering av DNA-molekylerna är även ett problem man måste kringgå, att förvara proverna i frys och kyl när det inte används är en förutsättning. För hantering av prover innehållande DNA krävs försiktighet och stor noggrannhet för att förhindra yttre påverkan (Törnström 2005). Torra DNA-prover kan förvaras i en papperspåse i rumstemperatur medan blöta DNA-prover förvaras i frys tills det ska analyseras. Blöta prover kan även i vissa fall låta torkas i rumstemperatur för att sedan förvaras i en papperspåse. Papperspåsar används för att de behåller torrheten hos proverna (Jackson & Jackson 2011).

Eliminationsdatabasen skapades 2010 och är en databas som innehåller DNA-profiler över dem som arbetar på SKL eller dem som på annat sätt varit i kontakt med DNA-spår. Denna databas finns för att fungera som en kontamineringskontroll. De profiler som läggs in i spårregistret matchas automatiskt mot eliminationsdatabasen för att kontaminering skall kunna uteslutas. Om matchning förekommer mellan profil i spårregistret och eliminationsdatabasen så gallras ofta dessa bort, då det tyder på att provet blivit kontaminerat av personal eller annan behörig person. Användning av eliminations databasen höjer tillförlitligheten för de utlåtanden av analyser som görs (Widén 2011).

För att ännu ha kontroll på möjlig kontaminering av DNA-prover tas alltid prov från miljön kring fyndplatsen av DNA-provet. På det sättet kan man dels se om provet innehåller partiklar från omgivningen som kan störa analysen och på så vis ge en felaktig DNA-profil. Även då kontaminering av DNA-provet kan ha skett kan man se om det är kontaminerat från omgivningen genom att jämföra analyserna eller om det är kontaminerat från annat håll. (Jackson & Jackson 2011).

LCN- Low Copy Number

Då tillgången på ursprungsprov av DNA är litet använder man sig av metoden LCN (Low Copy Number). Metoden har som alla andra metoder fördelar och nackdelar. Då man analyserar prov med hjälp av LCN kombinerar man analysen med andra metoder som för att få fram resultat som inte går att få fram med LCN-metoden. Då man endast har tillgång till få celler körs PCR i fler cykler, oftast 34, för att få ett signifikant resultat. Att öka antalet cykler kan dock ha negativa effekter, så som att alleler tillkommer eller faller bort. Bakgrunds information kan följa med i analysen och på så sätt kontaminera resultaten så att de utvärderas felaktigt.

Prover delas in i två grupper beroende på deras ursprungsmaterial. Ben och hår tillhör en grupp som är benämnd "discrete". Karaktäristiska drag för den gruppen är att man kan utvinna det ursprungliga DNA:t. Därmed undvika risken att provet kontamineras och på så sätt påverkar resultatet av analysen. Då man använder sig av LCN är prover som tillhör denna grupp att föredra. Den andra gruppen som kallas "non-discrete" är prover som vätskor som blod och saliv. Dessa prover är mer utsatta för kontaminering och det kan på så vis vara svårt att avgöra om det är ursprungskällans DNA som analyseras (Gill 2001).

Olika metoder beroende på fall

Även om standardmetoden för analysering av DNA är PCR av specifika STR-områden så kan det i vissa fall behövas ytterliggare analyser. Olika ärendens situation måste tas hänsyn till och utifrån det utforma den/de mest passande analyserna.

Mitochondrial-DNA (mtDNA)

Analysering av mtDNA görs då mängden eller kvaliteten av kärn-DNA inte är tillräckligt för att ge goda resultat vid analysering. Det vill säga att STR-tekniken är otillräcklig i de fall då provet är av dålig kvalitet. Stor fördel med mtDNA är dess kvantitet i alla kroppens celler.

MtDNA ärvs genom modern, ett haploid nerärvningsmönster. MtDNA innehåller mindre information jämfört med kärn-DNA, men eftersom det finns i så stor kvantitet så kan man få ut en analys och på så vis jämföra mtDNA. Dock kan man inte få fram en fullgod DNA-profil som man kan med STR-tekniken. Men med hjälp av minisequencing för analysering av SNP kan man se om sekvenserna av mtDNA matchar med andra mtDNA- sekvenser som är involverade i ett ärende. Matchande mtDNA tyder på släktskap och måste analyseras vidare för att koppla samman rätt individ med profilen. Då individs mtDNA inte matchar kan den avskrivas från ärendet. På så sätt är det en effektiv metod för att avskriva individer från ärenden och då kunna fokusera på dem som fortfarande är aktuella (Jackson & Jackson 2011).

SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

En mutation där en specifik kvävebas bytts ut till en annan är vanligt och förekommer på åtskilliga ställen i en individs genom. Dessa mutationer som också kallas för SNP (Single Nucleotide Polymorphism) är individuella och kan därför också användas som ett hjälpmedel för identifiering.

SNPs i ett genom undersöks med hjälp av sekvensering av DNA. Sekvensering av ett helt genom är både kostsamt och tidskrävande och inget som används i dagens forensiska analyser. Analys av SNPs kan dock komplettera analys av STR-områden i de fall de behövs. (Jackson & Jackson 2001). Nackdelen är dock att man inte kan använda sig av så kallade multiplexmetoder, alltså att analysera flera SNPs samtidigt. Även har metoden sina begränsningar då det gäller komplexiteten av de repetitiva sekvenserna (Edlund & Allen 2009). SNPs används dock för att analysera mtDNA.

Mix av biologiska spår

Prov innehållande DNA som blandats med varandra, så som t.ex. blodspår som blandats med saliv, ger STR-profiler som är mixade. Då det ena DNA-spåret är från könsceller går dessa att separera från det andra biologiska spåret. Det är svårt att separera andra biologiska spår från varandra som både består av epitelceller (Clayton *et al.* 1998).

Släktskap

Analysering av DNA kan säkerhetsställa släktskap och används i stor utsträckning idag av just den anledningen. Dels kan tester göras för att säkerhetsställa släktskap för familjer då det i vissa fall kan vara oklart. Men att det med hjälp av DNA går att koppla samman individer genom släktskap är mycket användbart inom brottsutredningar.

Faderskapstest

Y-kromosomen förs vidare från fadern till sonen, vilket innebär att alla manliga släktingar har samma markörer på y-kromosomen. X-kromosomen från fadern förs vidare till dottern. Dottern har därmed en x-kromosom från fadern och en x-kromosom från modern. Vid ett så kallat faderskapstest jämförs analys av y-kromosomen hos sonen och den tänkta fadern för att säkerhetsställa faderskap. Om

y-kromosomen inte är identisk kan man utesluta att den tänkta fadern är den riktiga fadern. En anledning till skillnader i y-kromosom mellan son och fader kan dock vara att en mutation förekommit. För att då kunna säkerhetsställa faderskap krävs ytterligare analyser i form av uträkningar kring sannolikheten att den specifika allelen blivit muterad från fadern till sonen och att därmed fadern är far till sonen. Även uträkningar kring sannolikheten att den tänkta fader inte är fader genomförs. Med hjälp av statistik på hur vanligt förekommande specifika haplotyper är används även för att beräkna sannolikheten för faderskap (Rolf *et al*, 2001). För att säkerhetsställa faderskap till en dotter analyseras x-kromosomerna och jämförs med faderns x-kromosom och moderns båda x-kromosomer. Om markörerna på kromosomerna hos dottern matchar markörerna på faderns och en av moderns x-kromosomer är denne troligen fadern.

Man kan aldrig till hundra procent säkerhetsställa faderskap, beroende på chansen att en annan man i världen har exakt samma STR-markörer. Däremot kan man uttala sig om möjligheten att mannen i fråga inte är fadern. De statistiska uträkningarna brukar då vara så pass låga att de accepteras (Strachan & Read 2010).

Enäggstvillingar

Monozygota tvillingar, det vill säga enäggstvillingar, har samma genetiska uppsättning och visar samma STR-mönster i DNA-profilen. Därför kan man inte använda STR-metoden för att skilja på enäggstvillingar. Men hur man ska gå tillväga för att skilja dessa tvillingar från varandra är ännu oklart. Studie på enäggstvillingar visar att när individerna blir äldre ändras metyleringsmönstret av DNA-molekylen, den så kallade epigenetiska profilen. I de enstaka fall då enäggstvillingar har huvudrollerna i ett ärende kan det finnas en möjlighet att undersöka deras epigenetiska profil i specifika celler och vävnader (Fraga *et al*, 2005).

Nya metoder och utveckling

Metoderna för att nå en så förfinad teknik för att analysera DNA som resulterar i DNA-profiler är under ständig utveckling. Dels pågår utvecklandet av varje steg i den befintliga standard metoden för analysering, det vill säga PCR av STR-områden, och dels utvecklas nya metoder som har andra fördelar beroende på olika typer av förutsättningar. Här nedan tas en del av de nya metoder som tagits fram.

Single-cell analysis

Spår av DNA som återfinns vid olika brott kan ofta vara av otroligt liten kvantitet, dessutom kan DNA från olika individer vara blandade med varandra vilket komplicerar analysarbetet. För att kunna genomföra analys av minimala mängder DNA utvecklas nu en metod, single-cell analysis, som baseras på att endast enstaka epitelceller krävs för analys. Denna metod ska främst vara användbar då ytterst små mängder DNA-spår finns att tillgå men även vara funktionell då DNA från olika individer har beblandats med varandra. Metoden bygger på att man tar enstaka celler direkt från brottsbeviset och sedan körs PCR-analys på dessa celler. Detta gör att man inte riskerar att förlora viktig DNA under de olika extraktionsstegen som görs i en sedvanlig analysprocess. Single-cell metoden möjliggör även separation av DNA som blandats till en mix med DNA från olika individer. Metoden bygger på att man

med hjälp av uv-ljus kan lokalisera kärn-dna på ytan av bevismaterialet och på så vis fokusera på att fånga upp dessa enstaka celler. Detta utförs med hjälp av en lins som cellerna fastnar vid (Brück *et al.*, 2011).

Y-kromosom bestämning

I fall där proverna innehåller DNA från flera individer som mixats med varandra krävs metoder som kan separera de olika ursprungs DNA från varandra. Då det handlar om DNA från olika kön, ofta förekommande vid våldtäcktsfall, som mixats kan man separera och analysera dessa separat med hjälp av y-kromosomen hos män. I våldtäcktsfall eller liknande övergrepp så är det vanligast att mannen är förövaren medan kvinnan är offret. Detta gör att mannens DNA ofta finns i lägre kvantitet i förhållande till kvinnans, då deras DNA mixats. Y-kromosomen förs vidare från generation till generation utan påtaglig förändring, vilket gör den till en tillförlitlig variabel för att säkerhetsställa identitet. För att kunna identifiera mannen använder man sig av specifika Y-kromosom primers som amplifierar specifika Y-STR på Y-kromosomen. Dessa primers används sedan i en sedvanlig PCR-reaktion med STR-bestämning som avslutas med separering av slutprodukten med hjälp av gelelektrofores. Detta ger resultat med bestämning för varianter av Y-STR (Prinz *et al.* 1997).

Senare studie har genomförts för att se om man kan med hjälp av pyrosekvensering bestämma Y-kromosom med avseende på STR-områden (Y-STR) istället för med PCR (Edlund & Allen 2009). Pyrosekvensering är en sekvenseringsmetod som bygger på addering av nukleotider till de enkelsträngade DNA, man vill sekvensera, som avger ljus som respons då en nukleotid kan binda till DNA-strängen. Ljusresponsen bygger på att pyrofosfat avges då nukleotiden kan binda komplementärt till det enkelsträngade DNA:t varpå enzymet ATP-luciferas omvandlar pyrofosfaten till ATP. ATP kan i sin tur ge energi till luciferas som kan omvandla luciferin som avger synligt ljus. Ljusstyrkan kan sedan mätas och olika toppar för ljusintensiteten kan ses i ett så kallat pyrogram. Dessa toppar är proportionella med antalet nukleotider som bundit till strängen av DNA (Ronaghi *et al.* 1996).

Studien visade att för 7 markörer så fungerade analysen då resultaten jämfördes med data från annan Y-STR bestämning. Fördelen med att använda pyrosekvensering är att man lättare kan upptäcka varianter som är av samma antal baspar, så kallade SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) (Edlund & Allen 2009).

mRNA

Fokus har främst legat på DNA-molekylen då det handlar om att identifiera individer och skilja dem åt. Nu har man också även börjat titta närmare på mRNA-molekylen som visar olika uttrycksmönster i olika vävnader. Det har visat sig att mRNA kan vara aktuell för att typbestämma DNA-provers ursprungsvävnad.

Med hjälp av RT-PCR har man genomfört analyser med markörgener för att bestämma vilken typ av kroppsvätska eller vävnad som DNA-provet härstammar från. Markörgener som är specifika för olika kroppsvätskor valdes ut efter tidigare efterforskningar och kunskap. Experiment visar att det mRNA som är specifikt för de markörgener man valt ut finns i endast den typ av kroppsvätska och inte i de andra

som man undersökt. De kroppsvätskor som undersökts är blod, mensblod, saliv, sperma och sekret från underliv (Fleming & Harbison 2010). För att särskilja blod och mensblod är det sedan tidigare känt att mensblod innehåller en proteingrupp, matrix metallprotein (MMP) som inte är närvarande i vanligt blod. Val av en markör för en MMP- gen möjliggör därmed urskiljning av blod och mensblod. (Bauer & Patzelt 2002)

I framtiden hoppas man på att man lyckats ta fram en metod som kan analysera kärn-DNA och mRNA vid samma tillfälle (Fleming & Harbison 2010, Haas *et al.* 2009).

mRNA har alltid beskrivits som ostabilt och har därför inte varit i fokus som ett verktyg för identifiering av spår. Experiment för att kontrollera mRNAs stabilitet har genomförts. Ett mRNA - prov sedan två år tillbaka undersöktes och det visade sig att det gav resultat utan några inslag som tyder på dålig kvalitet. (Haas *et al.* 2009)

I framtiden kan det vara möjligt att ett chip med microarrays utvecklas som kan spåra vilken typ av markörgener som är uttrycks och på så sätt avgöra vilken typ av kroppsvätska DNA:t härstammar ifrån. Flertalet experiment har satt fokus på mRNA som en möjlig lösning för identifiering av ursprungskälla för DNA-prov (Haas *et al.* 2011).

DNA-profil skapas från tyg som individ varit i kontakt med

I samband med att människor har kroppskontakt med materiella ting så överförs DNA från individen till den sak som individen är i kontakt med. Av den anledningen kan vi därför analysera det område på saken som individen varit i kontakt med. Vissa material är mer fördelaktiga att analysera DNA ifrån

Metod för att analysera det DNA som lämnas på tyger direkt utan att extrahera DNA:t först har utvecklats. Denna metod undviker att DNA går förlorat och även risken för kontaminering minskar (Linacre *et al.* 2009).

Artificiellt DNA

Standard metoderna för att analysera DNA-prov kan inte skilja mellan naturligt (*in vivo*) DNA och artificiellt DNA (*in vitro*). Experiment som undersöker metyleringen visar att i *in vivo* DNA finns loci som är metylerade och loci som är ometylerade. Metylering innebär att en metylgrupp (CH₃) är påkopplad på området på DNA-molekylen. Detta inhiberar uttrycket av genen. I *in vitro* DNA finns endast ometylerade loci. *In vitro* DNA kan delvis innehålla spår av *in vivo* DNA men som till stor del är utblandat med *in vitro* DNA. DNA spåren kan också vara helt artificiella, alltså *in vitro* DNA (Frumkin 2010).

Smart - DNA

Artificiellt DNA i sprayform har utvecklats. DNA:t är designat med specifika koder för att vara unikt för den plats som det används på. DNA:t sprayas ut i lokalen då ett inbrott sker. Gärningsmännen får då DNA:t på sig och kan på så vis kopplas samman till lokalen och brottet. DNA:t sitter fast upp till tre veckor och kan inte tvättas bort. Allt fler butiker använder sig av tjänsten som skydd mot inbrott (Englund B 2011).

DNA-register

SKL tar emot och utför cirka 30 000-40 000 DNA-analyser per år. Dessa DNA-profiler testas mot de profiler som finns i SKL:s spårbank (Lundbäck 2009).

Lagen för hantering av DNA-profiler ändrades år 2006 då användningen och lagrandet av analyser utökades. Innan 2006 fanns två olika register, DNA-register och spårregister. I DNA-registret lagras de DNA-profiler tillhörande individer som har blivit dömda för grova brott. Profilen sparas i registret 10 år efter att individen avtjänat sitt straff. Profilen tas då bort från registret. Spårregistret lagrar information i form av DNA-profiler som gjorts på olika bevismaterial men som inte kunnat kopplas till individ. Profilerna sparas i 30 år för att sedan raderas från registret. I januari 2006 tillkom ett nytt register, utredningsregistret. Detta register har som funktion att samla DNA-profiler över individer som är skäligen misstänka under pågående utredning. Om det visar sig att individen inte är skyldig till något tas den bort från registret. Om det visar sig att individen döms för högre straff än böter flyttas DNA-profilen och lagras istället i DNA-registret (Sveriges riksdag, Justitiedepartementet 2005, SKL 20110818)

Cold Cases - Kalla fall

I Sverige har vi i dagsläget Cold case-grupper inom polisen som just koncentrerar sig på specifika fall som begåtts sen en längre tid tillbaka men som förblivit ouppklarade av olika skäl. Dessa fall är mord som begåtts under olika omständigheter och oftast sedan en längre tid tillbaka då man inte kunde använda sig av DNA-tekniken och spårsäkring i lika stor utsträckning som idag. Nu har man dels med hjälp av DNA-tekniken kunnat återuppta fallen och förhoppningsvis kunna hitta en lösning. Dock är ofta de prov innehållandes DNA av dålig kvalitet då en lång tid förflutit och för att det vid den tiden brottet begick inte fanns så stor kunskap kring spårsäkring och kontaminering (Härdmark 2007).

Diskussion

Att nya metoder och delar av metoder ständigt förfinas för att få fram en fullgod DNA-profil från de minsta möjliga och även kontaminerade spår som upptäcks kring ett brott som begåtts är väldigt positivt. Men för att utveckla och förfina dessa metoder krävs resurser. För att ha en möjlighet att lösa de fall som Cold case-grupperna runt om i Sverige har på sitt bord krävs ofta en ny teknisk undersökning. Eftersom dessa spår ofta är av dålig kvalitet på grund av att dessa förvarats under en längre tid och ofta inte heller på ett föredömligt sätt på grund av okunskap den tiden brottet begicks, så kan extra känsliga metoder krävas för att få fram något resultat vid analys av DNA. Dessa ouppklarade brott, som ofta är mord, preskriberas inte längre utan kan utredas under obegränsad tid. Att preskriptionstiden för mord har tagits bort är mycket positivt då det kan komma fram nya spår kring ärendet som kan leda till ett genombrott i utredningen.

Utökande av DNA-registren skulle vara att föredra då dessa kan underlätta utredningar. Fler topsningar av individer skulle inte vara en nackdel i

utredningssynpunkt dock är det svårt att hitta ett sätt för detta som är förenligt med att skydda integriteten. Ett sätt kanske skulle vara att analysera färre STR-områden hos individer så att man inte får en fullgod DNA-profil men att man får en grund. I de fall som vissa grundprofiler behöver undersökas ytterligare kan dessa enstaka individer få lämna ett nytt DNA-prov för att en fullgod DNA-profil skall kunna genomföras.

I dagens system för registren för person som blivit dömd för brott tas DNA-profilen bort från registret 10 år efter att denne avtjänat sitt straff. Enligt studier som gjorts av Brottsförebyggande rådet (BRÅ) kan man se att de individer som tidigare varit kriminellt belastade har en tendens att falla in i liknande beteende och utföra ytterligare kriminell handling (http://www.bra.se/extra/measurepoint/?module_instance=4&name=%C5terfall%20i%20brott&url=/dynamaster/file_archive/101104/541e61a6d2f4c05a090dc6c0d61286d5/7%255fterfall%255fi%255fbrott.pdf). Därför kan tyckas att dessas DNA-profil bör sparas till framtiden. Dock har de ju avtjänat sitt straff och kan därför tyckas att det är rätt att de tas bort ur registret. Min åsikt är att det bästa vore att spara dessa profiler i registret då det inte påverkar individen om den finns kvar eller ej. Registren över DNA-profiler är inte officiella och så länge dessa individer inte gör något kriminellt kommer det inte att bli någon match med deras profil vid framtida brott. En nackdel med sparandet av DNA-profiler tillhörande tidigare dömda individer kan vara att andra individer försöker sätta dit dessa då de redan finns i registren.

DNA som blandats med varandra på brottsplatser är idag en utmaning. Då det ena provet kommer från en man kan man som tidigare nämnt använda sig av y-kromosom screening. Fall där DNA:t kommer från epitelceller från olika individer som blandats och då det dessutom kan vara stor skillnad i kvantitet i förhållande till varandra stöter dagens metoder på problem. Då DNA blandats mellan ett fåtal personer kan man med hjälp av olika tillvägagångssätt lösa situationen. Vad händer i de fall då flertalet individers DNA blandats med varandra och det inte finns något referensmaterial att jämföra med. Denna situation är inte otänkbar och ytterligare forskning kring detta skulle vara att föredra även om Single-cell analysis verkar vara den mest effektiva metoden i dagsläget.

Om utvecklingen fortsätter i den takt som den gjort sedan Jeffreys fingerprinting ser det mycket ljust ut för DNA-tekniken. En önskan om att kunna utföra en snabb och effektiv analys av DNA-spår direkt på brottsplatsen vore väl att föredra. Men allt har sin tid och det är bara att vänta och se vad framtiden ger. Oavsett så är det spännande att fundera kring hur vi om cirka 20 år genomför analyser av brottsbevis.

Epigenetiken hos enäggstvillingar är något som borde forskas vidare på för att se vad man kan göra för att skilja dessa åt. När besläktade individer som är involverade i en händelse kan kanske också ha fördel av att få epigenetiska förändringar analyserade.

Tack

Ett stort tack till mina handledare Monika Schmitz och Katariina Kiviniemi Birgersson för er vägledning och hjälp under skrivandets gång. Tackar även mina kurskamrater Linnea Bergström och Zhino Khalid för kommentarer kring arbetet.

Vill också tacka Johan Byggnings för hjälp med redigering av figurer och synpunkter kring dessa. Vill även tacka mina arbetskamrater på Polisens kontaktcenter i Norberg för era uppmuntrande ord och glädje samt att jag kunde kombinera arbetet med mitt skrivande.

Tackar även min mamma Yvonne Nygård för korrekturläsning.

Referenser

- Albinsson L, Hedman J, Ansell R, Biologenheten SKL. 2011. SKL byter DNA-kitt. *Kriminalteknik* **1**: 4-5
- Al Safar H.S, Abidi F.H, Khazanehdari K.A, Dadour I.R, Tay G.K. 2011. Evaluation of different sources of DNA for use in genome wide studies and forensic application. *Applied Microbiology Biotechnology* **89**: 807-815
- Ansell R. & Stegetyr Y. 2008. Läkares säkring av bevis efter sexualbrott viktig del i rättsprocessen. *Läkartidningen, Klinik och forskning* nr.9. **105**: 634-637
- Bauer M, Patzelt D. 2002. Evaluation of mRNA markers for the identification of menstrual blood. *Journal of Forensic Sciences*. **47**: 1–5.
- Brück S, Evers H, Heidorn Eng F, Müller U, Kilper R, Verhoff M A. 2011. Single cells for forensic dna analysis – from evidence material to test tube. *Journal of forensic sciences* **56**: 176-180
- Clayton T.M, Whitaker J.P, Sparkes R, Gill P. 1998. Analysis and interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling. *Forensic Science International* **91**: 55-70
- Edlund H & Allen M. 2009. Y chromosomal STR analysis using Pyrosequencing technology. *Forensic Science International: Genetics* **3**: 119-124
- Ek M. 2005. *Kriminalteknik* **1**
- Englund B. 2011. DNA-spray ska stoppa rån. *Dagenshandel.se* 20110823
- Fleming R.!, Harbison S.A. 2010. The development of an mRNA multiplex RT-PCR assay for the definitive identification of body fluids. *Forensic Science International: Genetics* **4**: 244–256
- Fraga M.F, Ballestar E, Paz M.F, Ropero S, Setien F, Heine-Suñer M.L. D, Cigudosa J.C, Urioste M, Benitez J, Boix-Chornet M, Sanchez-Aguilera A, Ling C, Carlsson

- E, Poulsen P, Vaag A, Stephan Z, Spector T.D, Wu Y-Z, Plass C, and Esteller M. 2005. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *PNAS* **102**: 10604-10609
- Frumkin D, Wasserstrom A, Davidson A, Grafit A. 2010. Authentication of forensic DNA samples. *Forensic Science International: Genetics* **4**: 95-103
- Gill P. 2005. DNA as Evidence — The Technology of Identification, *The New England Journal Of Medicine*. 2669-2670
- Härdmark E. 2007. Olösta mord utreds på nytt. *Svenska Dagbladet*
- Haas C, Hanson E, Bär W, Banemann R, Bentom A.M, Berti A, Borges E, Bouakaze C, Carracedo A, Carvalhom M, Choma A, Dötsch M, Durianciková M, Hoff-Olsen P, Hohoff C, Johansen P, Lindenbergh P.A, Loddenkötter B, Ludes B, Maroñas O, Morling N, Niederstätter H, Parson W, Patel G, Popielarz C, Salata E, Schneider P.M, Sijen T, Sviezená B, L. Zatkalíková L, Ballantyne J. 2011. mRNA profiling for the identification of blood-Results of a collaborative EDNAP exercise. *Forensic Science International Genetics* **5**: 21-26
- Haas C, Klessler B, Maake C, Bär W, Kratzer A. 2009. mRNA profiling for body fluid identification by reverse transcription endpoint PCR and real-time PCR. *Forensic Science International Genetics* **3**: 80-88
- Jackson A.R.W, Jackson J. 2011. The analysis of deoxyribonucleic acid (DNA): DNA profiling, Guest chapter by Harry Mountain, *Forensic Science* **3**: 158-211. Ashford Colour Press Ltd, Gosport.
- Linacre A, Pekarek V, Swaran Y.C, Tobe S.S 2010. Generation of DNA profiles from fabrics without DNA extraction. *Forensic Science International Genetics* **4**: 137-141
- Lundbäck C. 2009. *Misstänkt* **1**: 21
- Milne E, Van Bockxmeer F.M, Robertson L, Brisbane J.M, Ashton L.J, Scott R.J, Armstrong B.K. 2006. Buccal DNA collection: Comparisons of buccal swabs with FTA cards, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **15**: 816-819.
- Prinz M, Boll K, Baum H and Shaler B, 1997. Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples, *Forensic Science International* **85**: 209–218.
- Rolf B, Keil W, Brinkmann B, Roewer L, Fimmers R. 2001. Paternity testing using Y-STR haplotypes: assigning a probability for paternity in cases of mutations, *International Journal Of Legal Medicine* **115**: 12-15
- Ronaghi M, Karamohamed S, Pettersson B, Uhlen M and Nyren P, 1996. Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release, *Analytical Biochemistry* **242**: 84–89.

Strachan T, Read A. 2010. Genetic testing of individuals. Human molecular genetics **4**: 569-604. Garland Science, USA.

Sveriges riksdag, Justitiedepartementet, Regeringens proposition 2005 06:29,
Utvidgad användning av DNA-tekniken inom brottsbekämpningen m.m. Beslut
togs 2005 12:30

Törnström E. 2005. Hur går en DNA-analys till?. Kriminalteknik **1**: 1-5

Wambaugh J. The blooding. London: Bantam Press, 1989.

Widén C, Biologiheten SKL. 2011. DNA eliminationsdatabas. Kriminalteknik **1**: 8-9

Webadress

<http://www.skl.polisen.se/sv/For-rattsvasendet/Om-DNA-analyser/DNA-Register/>
Hämtad 2011-08-18.

http://www.bra.se/extra/measurepoint/?module_instance=4&name=%C5terfall%20i%20brott&url=/dynamaster/file_archive/101104/541e61a6d2f4c05a090dc6c0d61286d5/7%255fterfall%255fi%255fbrott.pdf Hämtad 2011-10-17