

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

DNA profileerimine isikute tuvastamiseks

Bakalaureusetöö

12 EAP

Cristopher-Kevin Kunila

Juhendaja: Tervise Arengu Instituuti vanemteadur
Anu Aaspõllu PhD
Kaasjuhendaja: Ants Kurg PhD

TARTU 2021

INFOLEHT

DNA profileerimine isikute tuvastamiseks

DNA profileerimine on asendamatu töömeetod kuritegude uurimisel ja lahendamisel. Selle kaudu on võimalik isikuid eristada, kasutades sündmuskohtadelt talletatud bioloogilisi proove, nt veri, sperma, juuksed, puuteproovid jne. Bioloogiliste proovide identifitseerimiseks on olemas ka kiirtestid, mis kinnitavad, kas tegemist on bioloogilise vedelikuga või millegi muuga. DNA profileerimiseks on mitmeid erinevaid meetodeid ja igal neist on omad plussid ja miinused. Tänapäevased tehnoloogiad võimaldavad DNA profiili abil ennustada näiteks inimese nahavärvi, vanust, juuksevärvi ja silmade värvi. DNA profiilid laetakse ülesse DNA andmebaasi ning kui otsitava isiku profiil on seal olemas, on need võimalik omavahel kokku viia. Selliselt on võimalik seostada sündmuskohalt võetud proov kindla isikuga ning see viitab, et isik oli sündmuskohal ning see on oluliseks tõendiks isiku süüdimõistmisel, kuid DNA profiil ei tohiks kindlasti olla ainus tõend, kuna see võib viia süütu inimese vangi saatmiseni.

Märksõnad: DNA profileerimine, kontaminatsioon

CERCS: B220 Geneetika, tsütogeneetika

DNA profiling to identify individuals

DNA profiling is an indispensable working method for investigating and solving crimes. It makes it possible to differentiate individuals using biological samples gathered from the scene, such as blood, semen, hair, contact samples, etc. Rapid tests are also available to identify biological samples, confirming whether it is a biological fluid or something else. There are many different methods for DNA profiling, and each has its own pros and cons. Modern technologies make it possible to predict, for example, human skin colour, age, hair colour and eye colour using a DNA profile. DNA profiles are uploaded to the national DNA database and if the searched person's profile is there, they can be combined. In this way, it is possible to associate a sample from the scene with a specific person, and this indicates that the person was at the scene and is important evidence for the person's conviction, but the DNA profile should certainly not be the only evidence, as it may lead to an innocent person being sentenced to prison.

Keywords: DNA profiling, contamination

CERCS: B220 Genetics, cytogenetics

SISUKORD

INFOLEHT	2
SISUKORD	3
KASUTATUD LÜHENDID.....	4
SISSEJUHATUS.....	5
1. DNA PROFILEERIMISE ALGUS.....	7
1. DNA MATERJALI TALLETAMINE SÜNDMUSKOHALT	9
1.1. BIOLOOGILISED JÄLJED DNA EKSPERTIISIKS.....	10
1.2. KONTAMINATSIOON	10
2. DNA PROFILEERIMISE MEETODID	13
2.1. RFLP MEETOD.....	13
2.2. STR MEETODID.....	13
2.3. SNPIDE MÄÄRAMISE MEETOD	14
2.4. MTDNA MÄÄRAMINE	15
2.5. MPS MEETOD	15
2.5.1. MPS rakendus - Verogen.....	17
3. ANDMEBAASID.....	18
3.1. CODIS	18
3.2. ANCESTRYDNA	18
3.3. GEENIVARAMU ANDMEBAAS	19
4. DNA PROFILEERIMISE TULEVIK.....	20
KOKKUVÕTE.....	23
RESÜMEE	24
KASUTATUD KIRJANDUS.....	25
KASUTATUD VEEBIAADRESSID.....	27
LIHTLITSENTS.....	29

KASUTATUD LÜHENDID

STR - lühike tandeemne kordus

MPS - Massiivselt paralleelne sekveneerimine

SNP – Ühe nukleotiidi polümorfism

FBI - Föderaalne Juurdlusbüroo

RFLP – Restriktisiooniliste fragmentide pikkuspolümorfism

NDIS - Riiklik DNA indeksisüsteem

PCR – Polümeraasi ahelreaktsioon.

CODIS - Kombineeritud DNA indeksi süsteem

NGS – järgmise põlvkonna sekveneerimise meetod

MAD – keskmine absoluutne hälve

SISSEJUHATUS

DNA molekulid sisaldavad geneetilisi juhiseid organismi kujunemiseks ja toimimiseks. Kuigi 99,9% DNA-st on kõigil inimestel identse järjestusega, võimaldab 0,1% erinevusi üht inimest teistest eristada ja seepärast on geneetilised analüüsid kohtuekspertide jaoks suure tähtsusega. DNA-profileerimise abil saab siduda kahtlustatava isiku sündmuskohaga. Sama DNA-järjestus on inimese iga raku tuumas, erandiks on tuumata punased verelibled. Inimese rakud irduvad organismist pidevalt, seega jätab iga inimene endast keskkonda maha DNA-jälje. DNA-d on majas leiduvas tolmus, klaasil olevates jälgedes, aga ka juustes, mis meil välja langevad. Kõikjale, kus inimene käib ja mida ta puudutab, võivad jääda tema DNA jäljed (Wienroth, et al., 2014).

Kuni 2000. aastani ei suutnud kohtuekspertid väga väikese koguse bioloogilise materjali olemasolul kokku panna DNA profiili. Kuid tehnoloogia arengu ja samuti analüüsimeetodite tundlikkuse tõusuga on nüüd võimalik kokku panna DNA-profiil väga väikesest kogusest DNA-st (Wienroth, et al., 2014). Varasemalt oli DNA-profiili määramiseks vaja suhteliselt värsket vere või sperma proovi, mis oleks vähemalt ühe eurosendi suurune (eurosendi diameeter 16.25mm) (Silverman, 2015).

Tänapäeval saab profiili vaid 50 pikogrammist DNA-st, mis vastab umbes kaheksas rakus leiduval DNA kogusele, sellised jäljed on paljale silmale nähtamatud (Wienroth, et al., 2014)-

DNA-d saab tuvastada ja analüüsida, kasutades mitmeid erinevaid geneetilisi markereid. Näiteks kasutatakse DNA-profileerimiseks enamasti STR-markereid (lühike tandemne kordus), lähtudes rakutuuma kromosoomides olevatest DNA järjestustest. Kasutada võib ka mitokondriaalset DNAd. Viise, kuidas DNA-d keha eri kudedest ekstraheerida, on erinevaid. DNA kättesaamine verest, süljest ja spermast on suhteliselt tulemuslik, kuid DNA kättesaamine inimese poolt puudutatud objektidelt on palju keerulisem, kuna objektile võib olla vaid üks naha rakk. STR-täisprofiili saab karvadest määrata enamasti ainult siis, kui neil on juuresibul. Tihtipeale selgub sündmuskohal, et juuresibulaga karvu ei ole, sellisel juhul ei pruugi STR-täisprofiili saamine olla tulemuslik. Siiski on võimalik koostada mitokondriaalne DNA-profiil. Mitokondriaalne DNA pole inimese identifitseerimisel nii tõhus, kuid võib siiski olla väga kasulik tõend, näiteks kui inimene on ära põlenud või tugevasti lagunenu (Arnaud, 2017).

Käesolev töö keskendub DNA profileerimise ajaloole, profileerimise meetoditele, kontaminatsioonile ning tulevikule DNA profileerimises. Uurimistöö eesmärgiks on uurida Eestis ja mujal tavapäraselt kasutatavaid DNA-profileerimise meetodeid kuritegude lahendamise kontekstis ning hinnata nende eeliseid ja piiratusi. Samuti anda lühiülevaade DNA-profileerimise taustast ning tuua näiteid, kus tänu DNA-profileerimisele on kurjategija tabatud ning ka vastupidiseid näiteid. Tutvuda Eesti kriminalistide tööga ning selle läbi leida kitsaskohti sündmuskohtadelt DNA-proovide talletamisel ning säilitamisel. Samuti tuua näiteid millised on võimalused DNA profileerimiseks tulevikus.

Bakalaureusetöö koostati Tervise Arengu Instituudis.

1. DNA PROFILEERIMISE ALGUS

DNA profileerimise teerajajaks peetakse professor Sir Alec Jeffreyst, kes tegi esimese eduka profileerimise 10. septembril 1984. aastal. Ta avastas, et igal isikul on ainulaadne DNA muster ehk DNA profiil, mille alusel on võimalik isikuid identifitseerida. Alguses olid kohus ja rahvas DNA profileerimise suhtes skeptilised. Kuigi meetod oli alles arendamisel, oli juba suur nõudlus testide järele. Esimesed kaks aastat tegeles kõigi juhtumitega Leicesteri labor, kus Sir Alec Jeffreys töötas teadurina. Tema koos meeskonnaga töötas välja meetodi, mida nad nimetasid kohtuekspertiisi jaoks "geneetiliseks sõrmejäljeks". Selle meetodi rakendamine on aeganõudvam, ühe analüüsi tegemiseks (Woollard, 2016).

Algselt kasutusele võetud DNA tüpiseerimine põhines restriksiooniliste fragmentide pikkuspolümorfismi (RFLP) määramisel, milleks on vaja suurtes kogustes (20 kuni 30 mg) degradeerumata genoomset DNA-d. Ent sündmuskohtadelt saadakse enamasti bioloogilised proovid, mis sisaldavad ainult väikeseid koguseid DNA-d. Seetõttu ei saanud RFLP-meetodit paljudes olukordades rakendada (Panneerchelvam & Norazmi, 2003).

RFLP meetodi esimene rakendus pälvis suurt avalikku tähelepanu. 1983. ja 1986. aastal vägistati ja mõrvati Leicestershire'is kaks noort tüdrukut. Politsei kahtlustas Colin Pitchforki, kuna need kuriteod olid toime pandud samas piirkonnas ning sarnasel viisil. Vahistatud mees tunnistas üles ühe mõrva, kuid mitte teist ning politsei otsustas kasutada geneetilist profileerimist, et tõestada tema seotust mõlema juhtumiga. Colin Pitchfork mõisteti süüdi mõlema tüdruku tapmises. See oli väga oluline juhtum, kuna peale seda tekkis inimestel ja kohtul usk DNA profileerimisse (Woollard, 2016).

Isikute tuvastamisel on väga oluline roll DNA andmebaasidel. Esimene DNA andmebaas kuritegude lahendamiseks oli Ühendkuningriigi riiklik DNA andmebaas. See loodi 1995. aastal ning seal olid ainult süüdimõistatud kurjategijate või kohtuprotsessi ootavate inimeste andmed. Proovid hävitati, kui isik hiljem süütuks tunnistati (YourGenome, 2014)

FBI käivitas 1998. aastal riikliku DNA indeksisüsteemi (NDIS) - koos tarkvara haldamiseks kombineeritud DNA indeksisüsteemi (CODIS) - ja sellest ajast alates on sellest saanud üks enam kasutatavaid õigusrikkujate DNA-andmebaasi pidamise tarkvaralahendusi (ENFSI, 2017).

Enamus forensilisteks rakendusteks kasutatavaid andmebaase on STR-markerite põhised. STR on lühike tandeemne kordusjärjestus, kahe või enama nukleotiidi muster, mis korduvad üksteise järel konkreetsetes DNA piirkonnas. STR korduvate motiivide pikkus võib olla 2 kuni 6

aluspaari. Lühikese tandeemse korduvjärjestuse polümorfismi aluseks on korduste erinev arv konkreetsetes DNA lookustes. Tuvastades kindla järjestuse kordused genoomi kindlates kohtades, on võimalik luua indiviidi geneetiline DNA profiil. DNA profiili kindlakstegemiseks amplifitseeritakse STR markerid, kasutades praimeritena külgnevate piirkondade ainulaadseid järjestusi. Fluorestseeruvalt märgistatud praimerite abil saab amplifitseeritudprodukte identifitseerida ja kvantifitseerida kapillaarelektroforeesi kaudu (Devyser, 2017).

Hetkel on maailmas eri andmebaasides kokku umbes 100 000 000 inimese DNA profiilid ning need ei hõlma infot füüsiliste näitajate kohta (DNAresource, 2021).

Esimene DNA ekspertiis Eestis valmis 3.mail 1995 ning selle DNA ekspertiisi tellijaks oli Eesti politsei. Ekspertiis oli väga edukas ning tänu sellele tunnistas kurjategija enda toime pandud teo üles (Põld, 2008).

2004. aasta juunis võeti Eestis kasutusele FBI tarkvara CODIS, mis on Eestis kasutusel tänase päevani Riikliku DNA-registri pidamiseks (Riigiteataja, 2021). Andmebaasi laetakse kuriteopaikadelt ning kuriteos kahtlustatavatelt ja süüdimõistetutelt võetud DNA proovide andmed. Eesti politsei oli 2006-ks aastaks kogunud andmebaasi juba 15 000 DNA proovi. DNA andmebaasidel on olnud suur roll kurjategijate tabamisel, kuid ka inimeste süütuse tõestamisel. Tänu andmebaasidele on mitmed juhtumid saanud lahenduse, mis muidu olekski jäänud lahendamata (Põld, 2008).

Eesti politsei käivitas Kohtuekspertiisi büroos aastal 1996 projekti, mille eesmärgiks oli isikute molekulaargeneetiline identifitseerimine. Selleks hetkeks oli Eestis tehtud 10 DNA ekspertiisi, projekti eesmärgiks oli viia läbi populatsiooniuuring, milline on uuritava isiku genotüübi esinemissagedus ning uuriti bioloogilise materjali säilimist ja kasutamistingimusi. Eesti Kohtuekspertiisi ja Kriminialistika Keskus võeti 1998. aasta mais ENFSI liikmeks (Lindmäe, 2011).

Hetkel on Eesti Riiklikus DNA registris 52 697 erineva inimese profiili andmed (DNAresource, 2021)

1. DNA MATERJALI TALLETAMINE SÜNDMUSKOHALT

DNA on meie organismi enamike rakkudes tuumades, välja arvatud punaverelibledes (punaverelibled on inimesel ilma tuumata ja ei sobi tuumse DNA analüüsimiseks) ja mitokondrites. Iga inimese DNA on ainulaadne, välja arvatud ühemunaraku mitmikutel. Inimene jätab enda DNA-d kõikjale, kus ta viibib, seega on see väga heaks tõendusmaterjaliks uurijatele, kuna tänu DNA-le on võimalik tõendada, kus inimene on käinud ja mida ta on puutunud (Wienroth, et al., 2014).

DNA abil on võimalik tuvastada, mõista süüdi ja vabastada süüst inimesi, kuid ka see meetod ei pruugi aidata tõe välja selgitamisel. Alati ei pruugi sündmuskohalt leida piisaval hulgal kuriteoga seotud bioloogilist materjali, näiteks kui isik on kandnud kindaid. DNA-analüüsimisel võivad tekkida ka vead. Lisaks on võimalik DNA analüüsitulemusi valesti tõlgendada ning neid üle tähtsustada ja selle tulemusena süüdi mõista süütu inimene. Seega ei tohiks DNA olla ainus tõend kurjategija süüdimõistmisel, vaid üks osa tõendite kogumist (Wienroth, et al., 2014).

2011. aasta oktoobris arreteeriti Adam Scott ja teda süüdistati naise vägistamises Manchesteris, Suurbritannias

Naise tupe piirkonnast võetud proov näitas sperma jälgi ja üks võetud proovidest andis DNA-profiili, mis sobis härra Scotti DNA-ga. See oli ainus tõend, mis viitas härra Scotti seotusele vägistamise juhtumiga. Proovi töödelnud kohtuekspert ütles, et tõenäosus, et see DNA kuulub kellelegi teisele kui Adam Scottile on 1 miljardist (Rennison, 2012).

Härra Scott väitis, et tema oli rünnaku ajal oma kodulinnas Plymouthis, mis asub üle 300 kilomeetri kaugemal ja pole oma elus kordagi Manchesteris käinud. DNA-d analüüsinud ekspert väitis, et DNA-proov tõendab, et Adam Scott oli ohvriga vahekorras. Hilisema uurimise käigus selgus, et oli tehtud viga. DNA-profiil ei anna mingit teavet selle kohta, millisest kehavedelikust see pärineb. Proovi tüübi kindlaks tegemiseks viiakse sõltumatult läbi eeltest ja kinnitavaid teste. Kaks kuud pärast arreteerimist leitud mobiiltelefoni väljavõtted kinnitasid Scotti versiooni sündmuste käigust. Väljavõte näitas, et tema mobiiltelefoni oli kasutatud Plymouthis paar tundi pärast kannatanu vägistamist. Pärast viit kuud vahi all viibimist, Scott vabastati. Järgnev uurimine näitas, et Scotti sai kahtlustuse laboris proovide juhusliku saastumise tõttu. Päev enne vägistamisohvri proovide analüüsimist, oli laboris töötatud Scotti

võrdlusproovidega. Kahjuks korduvkasutati ühekordselt kasutatavat laboriplastikplaati, mida oli kasutatud Scotti võrdlusproovide analüüsimisel, ka vägistamisproovi analüüsimisel, mille tõttu tehti vale järeldus. Tegelikku süüdlast ei ole tänaseni leitud (Rennison, 2012).

See juhtum toob välja kaks olulist punkti:

- a) DNA-d ei tohiks kasutada kriminaalasjas ainsa tõendina (Roth, 2010).
- b) tekib märkimisväärne oht mõista süüdi vale inimene, kui DNA saab tõendusmaterjalidest suurima tähtsuse (Gill, 2014).

1.1. Bioloogilised jäljed DNA ekspertiisiks

Bioloogilisi jälgi, kust saame võtta DNAd, on palju näiteks: veri, sperma, sülg, nahk, uriin, karvad ja juuksed, hambad, luud ja muud koed. Inimene jätab endast jälgi maha kogu aeg ning eksperdi ülesanne on need jäljed üles leida, selleks on eksperdil abiks kiirtestid, mis aitavad kahtluse korral testida, kas tegemist on bioloogilise jäljega või mitte. On olemas kahte erinevat testi tüüpi, eeltestid ja kinnitavad testid. Vere tuvastamiseks on olemas erinevad eeltestid näiteks: Fenoolftaleiin, Leukomalahiitroheline, Bensidiin ja derivaadid, Tetrabase, Luminool (Cole, 2009)

Tetrabase test on kaheastmeline reaktsioonitest, mida kasutatakse vere kiireks tuvastamiseks sündmuskohal. Test viiakse läbi kahe lahusega: 1. N,N,N,N-tetrametüül-4,4-diaminodifenüülmetaani lahusega äädikhappes ja 2. baariumperoksiidi lahusega äädikhappes, mis näitavad hemoglobiini esinemist. Test viiakse läbi kahes etapis. Kõigepealt lisatakse uuritavale proovile tilk esimest lahust ja seejärel tilk teist lahust. Kui proov sisaldab hemoglobiini, on tulemuseks sinise värvuse kujunemine. Selle testi abil pole võimalik tuvastada, kas veri on loomade või inimeste veri. Katse annab valepositiivseid tulemusi oksüdeerivate metallidega ja puhastusvahenditega (Wille, 2018).

Sülje tuvastamiseks on eeltestina võimalik kasutada amülaasi aktiivsuse määramist ning kinnitava testina inimese sülje α -amülaasi tuvastamist ja RNA-põhised teste. Uriini jaoks on olemas kiirtestid, tuvastamaks, kas tegemist on uriiniga (Cole, 2009).

1.2. Kontaminatsioon

Inimeselt jääb pidevalt tema DNAd keskkonda, rääkides eritame sülge, riieteile jääb meie rakke, peast pudeneb juuksekarvu jne. Seda on oluline teada kõigil, kes töötavad DNA proovidega,

näiteks laborikeskkonnas viibijad või politseinikud, kes otsivad DNA-d kuriteopaigalt või rünnakute ohvritelt, olgu nad siis elavad või surnud. Inimene saastab keskkonna ilma maskita rääkides umbes 2–30 sekundiga. Seega need, kes töötavad DNAGA, peaksid alati kandma vähemalt maski ja steriilseid kaitsekindaid ja kui see ei ole võimalik, siis tuleks vältida rääkimist ja asjade puudutamist. Politseinikel, kes töötavad sündmuskohal, peaksid kõigil olema seljas kaitseülikonnakonnad, kasutada tuleb kaitsekindaid ja maske. Kuid enamasti pole kriminalistid esimesena sündmuskohal, esimesena võivad jõuda hoopis kõrvalised isikud, tunnistajad, patrullpolitseinikud, päästeametnikud, meditsiinitöötajad ja nad võivad tahtmatult sündmuskoha enda DNAGA saastada (Port, et al., 2008).

Üks tavalisi viise, kuidas sündmuskohta saastatakse on see, kui räägitakse sündmuskohal ilma maskita. Kui näiteks on vaidlus inimeste vahel, siis on sündmuskoht nende ümber saastunud nende DNAGA. Oluline erinevus on ka inimese füsioloogilistel omadustel, mida pikem on inimene, seda kaugemale kandub sülg ning hajub ruumis (Port, et al., 2008).

Lisaks raskusjõu mõjule tuleb arvestada ka õhuvoolude, tuule ja ventilatsiooni mõjudega. Kõik need mõjutavad DNA trajektoori nii sise- kui ka välitingimustes. Mõjutada võib ka helitugevus, millega inimene räägib. Näiteks köhimine ja aevastamine saastab suure ala.

Muud põhjused, mis võivad saastumist põhjustada, hõlmavad DNA proovide kogumiseks kasutatud proovivõtutehnikat. Eestis võetakse proove kahe vatitampooniga, et oleks võimalik tulemusi võrrelda, üks võetakse kuiva ja teine destilleeritud veega niisutatud vatitampooniga. Need, kes reageerivad kuriteopaigale enne kriminalistide saabumist tuleks juhendada, et vältida suhtlust nii palju kui võimalik ja kui on vaja suhelda, siis tuleb minna sündmuskohalt eemale (Port, et al., 2008).

Kui näiteks on tegemist vägistamise või kägistamise juhtumiga, on ülimalt oluline, et surnukeha ei saastuks kõrvaliste isikute DNAGA, et oleks võimalik hiljem võtta DNA proov ning kahtlustatav kuriteoga seostada (Port, et al., 2008).

Suureks probleemiks DNA analüüsitulemuste interpreteerimisel on segaproovid, mis on tekkinud näiteks ka kahtlustatava ja kannatanu rüseluse käigus (Port, et al., 2008).

Politsei kiirreageerija Rando Hõlpus jäi lõplikult õigeks tapmissüüdistuses, kuna tema osa tapvas lasus ei leidnud kohtus kinnitust.

Surмага lõppenud tulistamine toimus 23. septembril 2016 Lasnamäel kortermaja trepikojas. Lasu tagajärjel suri 41aastane Jaanus ning kahtlustatav oli Politsei kiirreageerija Rando Hõlpus. Ohvrit rindkerre tabanud kuul pärines politseinik Hõlpuse teenistusrelvast. Hõlpus oli tutvunud Jaanusega samal päeval ja temaga alkoholi tarvitanud. Pärast lasu toimumist jäi politseinik trepikojas surnu peale magama. Kaitsjad ütlesid algusest peale, et nende klient ei tapnud Jaanust ning selge pole ka see, mis asjaoludel lask toimus ning kes üldse püstoli päästikule vajutas. Kaitsja demonstreeris kohtus, et Hõlpuse poolt kasutatud politseipüstoli Walther PPQ päästik liigub eriti kergesti ning seda suudaks vajutada isegi väikelaps. Ringkonnakohtu jaoks sai määravaks see, et eksperdid leidsid püstolilt nii Rando kui Jaanuse DNAd. Seega pole selge, kumma mehe käes relv tulistamise hetkel üldse oli. Ringkonnakohus ei välista ka lasu toimumist rüseluse või kukkumise käigus teadvustamata instinktiivse haaramisliigutuse mõjul. See omakorda tähendab, et hoolimata inimese surmast ei pruukinud karistusõiguslikus mõttes mingit kuritegu aset leidagi. Kaitsja sõnul ei tea ta, mis trepikojas toimus ja mis põhjustas lasu: ja lõplik tõde jääbki väga suure tõenäosusega välja selgitamata (Vahter, 2018)

2. DNA PROFILEERIMISE MEETODID

2.1. RFLP meetod

RFLP meetod, ehk restriksiooniliste fragmentide pikkuse polümorfism, kasutab ära homoloogiliste DNA järjestuste variatsioone, mida nimetatakse polümorfismideks, et eristada inimesi omavahel või ka näiteks loomadel vahet teha. RFLP analüüsil lõigatakse proovi DNA fragmentideks ühe või mitme restriksiooniensüümi abil ja saadud restriksioonifragmendid lahutatakse seejärel geelelektroforeesil vastavalt nende suurusele (B.Mittal, 2013).

Kuigi uuemad, kiiremad ja odavamate DNA analüüsimise tehnoloogiad on RFLP meetodi rakendamise üle võtnud, on oluline märkida, et RFLP analüüs oli esimene DNA profileerimise meetod. RFLP analüüs oli samuti oluline genoomide kaardistamisel, geenihäirete geenide lokaliseerimisel, haigusrisi hindamisel ja isaduse testimisel (B.Mittal, 2013).

2.2. STR meetodid

Tänapäeva kriminaalasjades ja muud tüüpi menetlusasjades kasutatakse enamasti DNA-profileerimiseks STR markerite analüüsi. Umbes 3 miljoni DNA-aluse hulgas, mis ei kodeeri valke, on piirkonnad, kus korduvad aluste lühikeste järjestuste motiivid. Isikutuvastamiseks kasutatakse enamasti lühikesi kordusjärjestusi ehk STR lookusi, mille alleelid erinevad üksteisest pikkuse osas, seega ei ole vaja määrata DNA nukleotiidide järjestust, vaid kopeeritud DNA lõikude pikkusi. Selliseid piirkondi/markereid nimetatakse lühikesteks tandemseteks kordusjärjestusteks ja need on STR analüüsi aluseks. Nende markerite kogum võib väga suure tõenäosusega osutada konkreetsele indiviidile, kuna tõenäosus, et kahel erineval inimesel on nendes piirkondades sama arv korduvaid järjestusi, on väga väike (Taylor, 2011).

STR markerite analüüsimiseks kasutatakse tavapäraselt elektroforeesi. Kuna nukleiinhapped, sh siis ka DNA, on suuremas osas puhvrites negatiivse laenguga, hakkavad nad elektriväljas eemalduma negatiivsest elektroodist ja liikuma positiivse elektroodi suunas. DNA analüüsimisel viiakse see läbi geelis, kus väiksemad molekulid, st lühemad DNA fragmendid ehk kopeeritud DNA lõigud, liiguvad kiiremini, pikemad aeglasemalt. Elektroforees on pigem suhteline kui absoluutne mõõtmismeetod, seetõttu võrreldakse uuritavate DNA lõikude pikkuse hindamiseks neid standardse pikkusmarkeriga, mis koosneb teadaoleva pikkusega DNA

fragmentidest. Kuna multipleks-PCR-i kaudu paljundatud DNA fragmendid on küllalt lähedase pikkusega, kasutatakse nende täiendavaks eristamiseks eri fluorestseeruvaid värve, mis on ühendatud reaktsiooni läbiviimiseks kasutatavate praimeritega. Seeläbi muutuvad kõik algselt matriitsilt kopeeritud DNA-lõigud visualiseeritavaks värviliste piikidena elektroferogrammidel (Broemeling, 2008).

Autosoomsed kromosoomid on need, mis ei osale inimese soo määramisel, ja nendes kromosoomides asuvaid STR lookusi nimetatakse autosoomseteks STR markeriteks. Samuti kasutatakse DNA ekspertiisi eesmärkidel sugukromosoomides olevaid järjestusi, mida nimetatakse vastavalt X- ja Y-STR markeriteks. Autosoomsetel STR-idel põhinevatel DNA-profiilidel on palju tugevam statistiline väärtus võrreldes X- ja Y-STR markeritel põhinevate DNA-profiilidega. Y-STR-idel põhinevad profiilidel on statistiliselt nõrgem väärtus, kuna ainult meestel on Y-kromosoom, seega on sama meesliini indiviididel Y-kromosoomide DNA järjestused kuni mutatsioonide tekkimiseni identsed. Y-STR-profiil võib olla oluline infoallikas ja tõend inimeste eristamisel, kuid seda tüüpi profiil tõendab selgelt tõendamise protsessis muu DNA väliste tõendite kaasneva info olulisust (Taylor, 2011).

2.3. SNPide määramise meetod

Põhiliselt kasutatakse tänapäeval ulatuslikult DNA ekspertiisides lühikeste tandeemsete kordusjärjestuste (STR) lookusi ja tõenäoliselt kasutatakse neid tulevikus veel aastaid, sest nende põhiselt on loodud kogu maailmas üha laienevad DNA andmebaasid. Siiski kasutatakse DNA ekspertiisides sageli lisamarkereid, kui tekib vajadus konkreetse proovi kohta lisateavet saada (Butler, 2011).

Erinevalt STR ehk lühikestest kordusjärjestustest, mida tänapäeval põhiliselt isikute tuvastamiseks rakendatakse, uuritakse ka ühe nukleotiidi polümorfismide ehk SNP-de (ingl single nucleotide polymorphism) kasutatavust. Ühe nukleotiidi polümorfisme on inimgenoomis rohkesti, üks SNP esineb ligikaudu iga 500-1000 nukleotiidi kohta. Senini on neid kasutatud põhiliselt seoses geneetiliste haiguste uurimisega. DNA ekspertidele pakuvad nad eelkõige huvi väga lagunenud DNA analüüsivuse seisukohalt, teisalt ka etnilise päritolu ja füüsiliste tunnuste uurimisel. Tüüpiliselt on ühel SNP lookusel 2 alleeli. Nende esinemissagedus on üsnagi erinev ja pigem populatsioonispetsiifiline, mistõttu on 10-16 STR lookusega samaväärse tulemuse saamiseks vaja analüüsida hinnanguliselt 50-100 SNP lookust (Madsen, 2010).

2.4. mtDNA määramine

Tuumas paiknevad kahe koopiana 46 kromosoomi, seega põhimõtteliselt iga konkreetse STR lookuse 2 koopiat (välja arvatud Y-kromosomaalse STR lookuse korral), ent rakkudes on DNA ka mitokondrites. Kui tuumas on DNA molekulid lineaarsed, on mitokondrites 16 569 aluspaarised rõngasmolekulid (mtDNA). Erinevalt rakutuumas olevatest kromosoomipaaridest on mitokondreid ühes rakus sadu ja igas mitokondris omakorda 4-5 mtDNA molekuli koopiat. Matemaatiliselt tuleb seega tuhandeid mtDNA molekule raku kohta, keskmiselt 500 rakus. Tegemist on suurema koopiarvuga raku kohta ja kompaktsete järjestustega, mis muudab mitokondriaalse DNA vähem degradatsioonitundlikuks. Kui tuuma DNA on lagunenu, võib siiski olla säilinud piisaval arvul mtDNA molekule, mis teeb võimalikuks nende analüüsimise. Need on juhtumid, kus näiteks säilmed on väga vanad või väga lagunenu ja luud või hambad on ainsad, mis veel järele on jäänud. Kuid mtDNA päritakse ainult emaliinis, seega on samas naisliinis vanaemadel, emadel, nende lastel jne sama mtDNA, kaasa arvatud ühe ema tütaridel ja poegadel. Nimelt läheb viljastamise käigus seemnerakust munarakku üle ainult tuum (koos kromosoomidega) ja ühineb munaraku tuumaga. Tsütoplasmas olevad mitokondrid on seega siis munarakust. Kui mõni seemneraku mitokondrid juhtubki sattuma viljastatud munarakku, siis üldjuhul käivitub protsess tema hävitamiseks. Nagu Y-kromosoomi testide korral, on mtDNA analüüsist abi säilmete tuvastamisel, kus võrdlusena saab kasutada naisliinis sugulaste proove, kuid ka sündmuskohaproovide seostamisel konkreetse isikuga (Amorim, 2019).

2.5. MPS meetod

Massiivselt paralleelne järjestamine on vähendanud kulusid ja suurendanud genoomse järjestuse määramiste läbilaskvust enam kui kolme suurusjärgu võrra ning näib tõenäoline, et kulud lähiaastatel langevad ja jõudlus paraneb veelgi. Massiivselt paralleelse järjestamise kliiniline kasutamine annab võimaluse tuvastada paljude tundmatu päritoluga haiguste põhjuseid, uurides samaaegselt tuhandeid lookusi patogeensete mutatsioonide suhtes ja sekveneerides bioloogilised proovid uute nakkusetekitajate genoomsete mustrite jaoks. Lisaks nende täiesti uute analüüsivõimaluste pakkumisele, võib massiliselt paralleelne järjestamine asendada klassikalise Sanger sekveneerimise lähenemised nii kliinilistes kui ka forensilistes rakendustes, kus neid praegu kasutatakse (Ballard, 2020). Massiivselt paralleelset järjestamist kasutab ka Eesti Kohtuekspertiisi Instituut (EKEI).

Massiivselt paralleelse sekveneerimisega on saavutatud läbilaskevõime suurenemine ja kulude vähendamine, kuna mitu tuhat või miljonit järjestamisreaktsiooni viiakse läbi paralleelselt (Ballard, 2020),

Massiivselt paralleelne sekveneerimine võimaldab samaaegselt jälgida geneetiliselt heterogeensete häirete korral sadu lookusi, kogu genoomi uudsete mutatsioonide jälgimist ja inimeste haigusi põhjustavate uute patogeenide järjestuspõhist tuvastamist. Lisaks võimaldab MPS kliiniliselt rakendada meie teadmisi farmakogeneetika, vähi geneetika, epigeneetika ja füüsiliste tunnuste kohta (Ballard, 2020).

Kohtuekspertiisi seisukohalt on oluline, et lisaks standardsete STR-profiilide genereerimisele võib polümorfismide otsimiseks saada täiendavat infot ka STR-lookuste kordustesisest DNA järjestuste kohta. Praegused MPS-lähenemised on väga kasulikud ka kuriteopaigalt talletatud piiratud koguses bioloogilise proovi või väga halvenenud bioloogilise materjali tulemuslikuks analüüsimiseks. Kui autosomaalset DNA-d ei ole piisavalt, võib olla tulemuslik mitokondriaalse DNA täisgenoomi sekveneerimine (Bruijns, 2018).

Hollandi kohtuekspertiisi instituudi (NFI) 2015. aasta aruandes tõsteti esile vajadust MPS-i kohtuekspertiisi teadlikkuse järele. Leideni ülikooli DNA-analüüsi kohtuekspertiisilabor on esimene instituut maailmas, kes on akrediteeritud kasutama NGS-tehnoloogiat kohtuekspertiisi DNA-analüüsis. Selle tulemusel vähenes valepositiivsete vastete tõenäosus DNA profileerimisel ja keerulises segus on olnud lihtsam eristada erinevaid bioloogiliste proovide allikaid. NGS-tehnoloogia kasutamisel suureneb profiilide eristusvõime ja seega ka tõendite väärtus ja seega on juhusliku vaste tõenäosus väiksem (Bruijns, 2018).

MPS-i kasutamine kohtuekspertiiside tegemisel inimese DNA analüüsimiseks näib olevat väga paljutootav. Saada ei saa mitte ainult STR-markeritega DNA-profiili, vaid SNP-de abil saab ka määrata etnilise päritolu ja fenotüübilisi tunnuseid. Eriti on madala koguse ja kvaliteediga proovide puhul MPS-iga võimalik saada oluliselt rohkem teavet kui tavapäraste meetoditega. (Bruijns, 2018).

MPS rakenduste peamine piirang on tänasel päeval seadmete, reagentide kulud ja andmeaanalüüsi võimekus, mis on seotud ka andmebaaside haldamise ja selge nomenklatuuri puudumisega. (Bruijns, 2018).

2.5.1. MPS rakendus - Verogen

Verogen (11111 Flintkote Avenue, San Diego, USA; <https://verogen.com/>) on arendanud MPS tehnoloogia, mille abil on võimalik saada DNA-profiilid kuni 96 DNA-proovi jaoks vähem kui kahe tunniga. Nende ForenSeq DNA Signature Prep Kit hõlmab STR lookuste analüüsi (lookuste arv), mis on rahvusvaheliselt heaks kiidetud. Kombineerib enam kui 200 markerit, sealhulgas autosomaalsed, X- ja Y-STR-id, fenotüübi-informatiivsed ja biogeograafilised esivanemate informatiivsed SNP-d üheks töövooks, mis välistab komplekti kasutamise puhul vajaduse viia läbi eraldi mitu multiplex-STR testi. Testis on 27 globaalset autosomaalset STR-i, 24 Y-STR-i, 7 X-STR-i, 94 identiteedi SNP-d, 22 fenotüübilist SNP-d, 56 biogeograafilist päritolu SNP-d (Verogen, 2021).

ForenSeq DNA Signature Prep Kit on osa integreeritud töövoost, kasutades MiSeq FGx sekveneerimissüsteemi ja analüüsides andmeid Universaalse Analüüsitarkvara (UAS) kaudu. Lisaks tagab kvaliteedikontrolliga tootmine tulemuste reprodutseeritavuse (Verogen, 2021).

3. ANDMEBAASID

Laborites määratakse DNA profiilid ning kui profiil on koostatud saadetakse see info uurijatele. Selleks, et eksperdid ja uurijad saaksid viia kokku sündmuskohalt leitud DNA süüdlase DNAGA on vaja lisaks andmebaase, kus oleksid inimeste DNA profiilid ning selliste andmebaaside arendamine on võtmetähtsusega kuritegude lahendamisel. USAs on FBI loonud andmebaasi pidamiseks CODIS tarkvara, mida kasutavad mitmed riigid üle maailma, näiteks USA, Suurbritannia, Soome ja Eesti ning seda on võimalik rakendada kurjategijate DNA profiilide kokku viimiseks kuriteopaigalt saadud DNAGA (Stanley, 2020).

Kuigi paljud riigid kasutavad andmebaaside pidamiseks CODIS tarkvara, on osadel riikidel ka andmebaaside pidamiseks kasutusel enda tarkvara või siis kasutatakse mõlemat tarkvaralist lähenemist. Osad tarkvaralahendused nagu CODIS on riikidele riiklikul tasemel tasuta kättesaadavad ning osad tarkvaralahendused on tasulised ning osadele riikidele ei anta ligipääsu oma andmetele ka riikidevaheliste suhete tõttu. Ka INTERPOLil on olemas oma DNA andmebaas (ENFSI, 2017),

3.1. CODIS

CODIS on FBI loodud DNA andmebaasi pidamise programm, millele on ligipääs kõigil USA osariikide uurimisasutustel ning see on kasutusel ka paljudes Euroopa riikides. Sinna programmi sisestatakse DNA proovidest määratud DNA profiilid ning siis programm otsib sellele täisvaste või ka võimalikud sugulaskandidaadid. Samuti võimaldab tarkvara hinnata vaste statistilist olulisust. DNA analüüsimine on aja jooksul läinud odavamaks ja kiiremaks, seega sellise andmebaasi osatähtsus kuritegude lahendamisel aina suureneb (Stanley, 2020).

3.2. AncestryDNA

Üks suurematest DNA andmebaasidest on AncestryDNA, mis integreerib analüüsitud DNA andmed inimese sugupuuga. AncestryDNA tulemused on suurepärase lähtepunkt perekonnaajaloo uurimiseks ja need võivad aidata inimestel juba tehtud uuringuid põhjalikumalt uurida (Ancestry, 2021).

Ettevõtte pakub ka DNA-testi nimega AncestryHealth, mis kontrollib geneetilisi riske ja kandja staatust. (Ancestry, 2021)

3.3. Geenivaramu andmebaas

Tartu Ülikooli Eesti geenivaramu on loonud riikliku biopanga, millega on liitunud umbes 200 000 inimest. Geenivaramu on andmeid kogunud aastast 2002. Geenivaramu kasutab saadud DNA andmeid teaduslikel eesmärkidel ja liitunute personaalseteks teavitusteks. Uuritakse haiguste ja geenide vahelisi seoseid ning seda, kas ja kuidas põhjustavad DNA erisused inimeste haiguste või seisundite tekkimist. Geenivaramu DNA andmebaasi andmeid on Inimgeeniuuringute seaduse kohaselt keelatud kasutada kuritegude uurimisse (Geenidonor, 2021) (Riigiteataja, 2021).

4. DNA PROFILEERIMISE TULEVIK

Iga politseiuurija unistus on panna sündmuskohalt võetud bioproov masinasse ning see annab vastuseks kahtlustatava pildi. Parabon (11260 Roger Bacon Dr, Reston, VA 20190, USA; <https://parabon-nanolabs.com/>) töötas koos USA kaitseministeeriumiga välja Snapshot Kohtuekspertiisi DNA fenotüpiseerimise süsteemi, mis ennustab täpselt geneetilisi esivanemaid, silmade värvi, juuksevärvi, nahavärvi, tedretähne ja näokuju ükskõik millist etnilist päritolu inimestel (Parabon, 2020).

Kuna mõningaid tunnuseid määravad osaliselt keskkonnategurid, mitte ainult DNA, esitatakse kuvand vastava usaldusnivooga, mis peegeldab seda, mil määral sellised tegurid mõjutavad iga konkreetset tunnust. Selliseid tunnuseid nagu silmavärv, mis on keskkonna teguritest vähem mõjutatud, ennustatakse suurema täpsuse ja usaldusväärsusega (Parabon, 2020).

Kui tavapärane DNA profileerimine põhineb STR vaste leidmisel ja statistilisel interpreteerimisel, siis DNA fenotüpiseerimise abil võib leida isiku kohta uusi märke, mis andmebaasis ei kajastu ning seda kasutatakse alternatiivina siis, kui uurimine ei ole ühegi kahtlustatavani viinud. DNA fenotüpiseerimisel kasutatakse tänapäevast SNP-tehnoloogiat, mis omakorda on aluseks inimestevaheliste geneetiliste erinevuste kindlakstegemiseks (Greenwood, 2016).

Paraboni laboris kasutatakse puuteproovidest DNA analüüsimiseks umbes 100000 SNP kiipi. Puuteproovide korral võivad tuvastatud SNP-de arvud kogu uuritavate SNP-de arvust olla madalamad, kui tavaliselt kliiniliselt võetud DNA materjali puhul. Paraboni laboris arvutatakse ennustused ümber konkreetse valimi kohta. Kui saadakse 85%-lise kattuvus, kliiniliste proovide kattuvus on tavaliselt ~ 99%, eemaldatakse andmebaasist arvutuslikult 15% puuduvatest SNP-de kõigist subjektidest ning arvutatakse ümber nende ennustusväärtused ja seejärel võrreldakse uut ennustust usaldusvahemike arvutamiseks võrdlusproгноosidega (Greenwood, 2016).

Oma lähenemist kasutades on Parabon korduvalt juhtinud korrakaitstjad kahtlustatavani. Texas esitas tunnistuse üles mõrva kahtlustatava pärast SNP-põhist kuvandit, mis oli loodud mõrvapaigalt talletatud proovist. Ettevõtte ei avalda oma töömeetodeid ega esita üksikasju nende töökindluse kohta, välja arvatud need, mis on väljastatud korrakaitseorganite poolt ajakirjandusele (Greenwood, 2016).

Tänapäevase forensilise DNA paradigma muutus kasutab nüüd ka epigeneetilisi markerite hindamist. Siiani on füüsilistest tunnustest kõige rohkem uuritud silmade, juuste ja naha värvust, samuti etnilist päritolu. Teave sündmuskohalt talletatud bioloogilise proovi doonori vanuse kohta on samuti oluline. Siiani testitud erinevate meetodiliste lähenemisviiside seas on hoolikalt valitud DNA markerite CpG saitide metülatsioonitundlik analüüs andnud kõige lootustandvamad tulemused, pakkudes prognoosimistäpsust $\pm 3-4$ aastat, mis on väga heaks lisatõendiks tunnistajate ütlustele (Parson, 2018).

Vanuse hindamise molekulaargeneetiliste meetodite rakendamise peamine eelis on see, et neid saab peamiselt rakendada mis tahes bioloogilise proovi korral. Mitokondriaalne DNA oli üks esimesi geneetilisi markereid, mida selles osas uuriti, kuna teadaolevalt muutub selle nukleotiidjärjestus vananevatel inimestel, sealhulgas tõuseb heteroplasmiate esinemissagedus ja deletsioonide esinemine. Nende muutuste tekkemehhanismid ei ole veel hästi arusaadavad ja nende modifikatsioonide seos vanusega on ainult nõrk. Tuuma-DNA-s lühenevad teatavasti telomeerjärjestused iga rakujagunemisega; kuid selle rakendamine vanuse hindamisel ei tundu olevat lihtne. Varasemad uuringud leidsid suuri prognoosivigu, samas kui kategoorilised lähenemisviisid, milles kasutati 20 aastase ajaraamiga vanuserühmi, leidsid kõrge prognoosimise täpsuse kvantifitseerides teatud T-rakuspetsiifilisi DNA ümberkorraldusi veres, keskmine absoluutne hälve [MAD] $\pm 9,7$ aastat). Sellegipoolest on kohtuekspertiisi rakendustes soovitatavad täpsemad meetodid, mis võimaldavad täpset vanuse hindamist, ja oleks ainuüksi nende meetoditega rangelt piiratud (Parson, 2018).

Paljulubav meetod vanuse täpsemaks ennustamiseks tekkis epigeneetika valdkonnast, kus uuringute käigus täheldati vanuse suurenemisega seotud globaalse DNA metüülimise taseme olulist muutust. Inimese epigeneetiline kood läbib elu jooksul dünaamilisi muutusi, reageerides keskkonnateguritele, et moduleerida geeniekspressiooni. Samuti on teada, et geeniekspressioon korreleerub inimese vanusega, kuid nii DNA metüülimise kui ka kogu genoomi hõlmava mRNA meetodid selle teabe hõivamiseks ja kvantifitseerimiseks nõuavad suures koguses nukleiinhappeid, mida tüüpilistes kohtuekspertiisides tavaliselt ei kasutata. Vanuse hindamiseks nende markeritega kohtuekspertiisiproovides, mis sisaldasid ainult väikeseid koguseid DNA-d (<100 ng), töötati välja sihitud mRNA ja CpG saidianalüüsid (Parson, 2018).

Tuginedes kogu genoomi hõlmava ekspressiooni mikrokiibi andmetele 222 geenist, mida ekspresseeritakse vanusega erinevalt, uuriti 9 mRNA markerite komplekti, millest 8 (*NRCAM*, *ABLIM1*, *LRRN3*, *NELL2*, *NOG*, *CCR7*, *AK5* ja *SLC16A10*) olid vanuseliselt allareguleeritud ja 1 (*CFH*) valiti vanuseliselt kõige korreleeritumaks kõigi reguleeritud geenide seas. Teadlased tegid qPCR testi verest ekstraheeritud DNA-l, mis oli normaliseeritud 2 majapidamisgeeni (*ACTB* ja *GAPDH*) abil, ning täheldati üldist väiksemat korrelatsiooni vanusega (R^2 : 0,041–0,46) võrreldes esialgse mikrokiibi sõelumisega (R^2 : 0,36 –0,84). Kõige lootustandvam kandidaat oli *NRCAM* - geen, mis näitas sõeluuringu andmekogumis kõige suuremat vanusekorrelatsiooni ($R^2 = 0,84$) ja mõistlik vanusekorrelatsioon valideerimise andmekogumis ($R^2 = 0,46$). Kõigil 9 mRNA markeril põhineva vanuse prognoosimise mudeli tulemuseks oli üldine R^2 väärtus 0,523 ($MAD \pm 9,2$ aastat) (Parson, 2018).

Praegu on CpG-saitide analüüsimiseks kõige sagedamini kasutatav lähenemisviis bisulfiidiga muundatud DNA järjestusanalüüs, mis deamineerib metüleerimata tsütosiini uratsiiliks, samal ajal kui metüleeritud tsütosiin ei muutu. Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip abil on loodud suur hulk inimese metüülimismustri andmeid, mis on sageli otse juurdepääsetavad avalikest andmebaasidest, mis pakuvad rikkalikku ressursi epigeneetilisteks uuringuteks vanust ennustavate testide väljatöötamiseks. Välja on töötatud kvantitatiivne ennustusmudel, mis põhineb 71 markeril, mis on andnud korrelatsiooni tegeliku kronoloogilise vanusega 0,96 keskmise veaga 3,9 aastat. Bocklandt jt. (Bocklandt S, 2011) uuris *EDARADD*, *TOM1L1* ja *NPTX2* promootoreid ja leidis, et ainult 2 CpG markerit seletasid 73% vanuse varieeruvusest ja ennustasid kronoloogilist vanust süljes täpsusega $\pm 5,2$ aastat. Kokku 13 erinevas rakutüübis töötasid Koch ja Wagner (Koch CM, 2011) välja 5 CpG saidil põhineva mudeli, mille keskmine viga oli 9,3 aastat, samas kui Garagnani jt. (Garagnani P, 2012) kirjeldas üht kõige lootustandvamat vanuse määramise markerit *ELOVL2*, Spearmani korrelatsioonikordajaga veres 0,92 (Parson, 2018).

KOKKUVÕTE

Töö eesmärgiks oli uurida erinevate DNA profileerimise meetodite ning tuleviku meetodite kohta. Uurimusest võib järeldada, et DNA profileerimine on saanud asendamatuks osaks teadlaste, kohtuekspertide, uurijate, kaitsjate ja kohtunike elus ning raske on ette kujutada elu ilma selleta. DNA profileerimise meetodid ja tehnoloogiad on aja jooksul väga hüppeliselt arenenud ning tulevikus on lootust, et DNA analüüsid annavad veel rohkem infot isiku kohta ning ei ole ka välistatud, et on võimalik luua DNA abil isiku pilt. DNA profileerimise puhul on kõige suuremaks kitsaskohaks DNA materjali talletamine sündmuskohalt, kuna iga inimene jätab endast maha küll DNA jälje, kuid kuriteoga seostatava bioloogilise materjali kogumine ja talletamine sündmuskohalt võib tihtipeale osutuda keeruliseks. Oluliseks arengukohaks on veel DNA registrite ühildamine, seal saab taksituseks riikide vahelised suhted, kuna ei soovita oma andmeid jagada ning seetõttu võivad jääda mõned kuriteod lahenduseta. Kindlasti on oluline ka jälgida DNA profileerimise tulemuste rakendamisel ka muid tõendeid, et välistada vale inimese süüdi mõistmist.

RESÜMEE

DNA profiling to identify individuals

Cristopher-Kevin Kunila

Summary

DNA profiling is an indispensable working method for investigating and solving crimes. It makes it possible to differentiate individuals using biological samples gathered from the scene, such as blood, semen, hair, contact samples, etc. DNA profiling has helped detectives already over 30 years by now and DNA profiling methods and technologies have evolved by leaps and bounds over time, and in the future there is hope that DNA analysis will provide even more information about a person, and it cannot be ruled out that we will be able to create a picture of a person using DNA.

The main purpose of this work was to focus on the analysis of DNA profiling. DNA profiling methodologies in the context of crime resolution and the benefits and limitations of both. It also provides a brief overview of the background to creating a DNA profile and some examples where the criminal has been caught by the DNA profile, as well as counterpart examples. Also to give examples of what are the possibilities of DNA profiling for the future.

The biggest problem in DNA profiling is the finding of the DNA material at the crime scene, as each person leaves a DNA footprint, but the collection and finding of biological material associated with a crime at the scene can often be difficult. Another important development is the harmonization of DNA databases, where relations between countries become a hindrance, as they do not want to share their data, and therefore some crimes may remain unresolved. It is certainly important to monitor other evidence when applying DNA profiling results to rule out any misconducts.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Matthias Wienroth, N. M. R. W., 2014. Technological Innovations in Forensic Genetics: Social, Legal and Ethical Aspects. *Recent Advances in DNA & Gene Sequences (Discontinued)*, pp. 98 - 103.
- Rennison, A., 2012. *Report into the circumstances of a complaint received from the Greater Manchester Police on 7 March 2012 regarding DNA evidence provided by LGC Forensics.*, s.l.: Forensic Science Regulator.
- Roth, A., 2010. SAFETY IN NUMBERS? DECIDING WHEN DNA ALONE IS ENOUGH TO CONVICT. *Berkeley Law Journal*, pp. 1135-1140.
- Gill, P., 2014. *Misleading DNA Evidence 1st Edition*. s.l.:Academic Press.
- Silverman, M., 2015. *Written in Blood*. s.l.:Transworld Publishers.
- Arnaud, C. H., 2017. Thirty years of DNA forensics: How DNA has revolutionized criminal investigations. *Chemical and Engineering News*.
- Lanno, Ü. et al., 2013. *Kriminalistika ekspertiisid*. Tallinn: Paar OÜ.
- Greenwood, V., 2016. How Science Is Putting a New Face on Crime Solving. *National Geographic*.
- Vahter, T., 2018. Püstolilt leitud bioloogiline materjal päästis tapmises süüdistatud ekspolitseiniku. *Eesti Ekspress*.
- Wille, C., 2018. *BLOEDVLEKKENTEST MET TETRABASE VOOR FORENSISCHE DOELEINDEN*, Gent: University of Gent.
- Nicholas J Port 1, V. L. B. E. A. M. G. M. S. B. G. N. R., 2008. How long does it take a static speaking individual to contaminate the immediate environment?. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 1(1), pp. 421-422.
- Pöld, T., 2008. *Eesti kohtueksperdid ja nende lahendatud lood*. s.l.:Tammerraamat.
- Pöld, T., 2008. *Eesti kohtueksperdid ja nende lahendatud lood*. s.l.:Tammerraamat.
- Lindmäe, H., 2011. *Kriminalistika ekspertiis Eestis*. Tallinn: KNT meediad.
- ENFSI, 2017. *DNA DATABASE MANAGEMENT REVIEW AND RECOMMENDATIONS*, s.l.: s.n.
- Cole, S. A., 2009. *Forensics without uniqueness, conclusions without individualization: the new epistemology of forensic identification*, s.l.: Advance Access.
- B.Mittal, 2013. Restriction Fragment Length Polymorphism. rmt.: *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*. s.l.:s.n., pp. 190-193.

- Ballard, D., 2020. Massive parallel sequencing in forensics: advantages, issues, technicalities, and prospects. *International Journal of Legal Medicine*.
- Amorim, A., 2019. *Mitochondrial DNA in human identification: a review*, s.l.: NCBI.
- Madsen, B. E., 2010. *Short Tandem Repeats and Genetic Variation*, s.l.: SpringerLink.
- Broemeling, D. J., 2008. *An instrument for automated purification of nucleic acids from contaminated forensic samples*, s.l.: NCBI.
- Butler, J. M., 2011. *Forensic DNA typing methodology*. Maryland: Elsevier.
- Bruijns, B., 2018. *Massively parallel sequencing techniques for forensics: A review*, s.l.: NIH.
- Parson, W., 2018. *Age Estimation with DNA: From Forensic DNA Fingerprinting to Forensic (Epi)Genomics: A Mini-Review*, s.l.: Karger.
- Bocklandt S, L. W. S. M. S. F. S. J. H. S., 2011. Epigenetic predictor of age..
- Koch CM, W. W., 2011. Epigenetic-aging-signature to determine age in different tissues.. Köide 3, p. 1018–1027.
- Garagnani P, B. M. P. C. G. D. G. C. M. D., 2012. Methylation of ELOVL2 gene as a new epigenetic marker of age. Issue 11, p. 1132–1134.

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

Riigiteataja, 2021. *Riigiteataja*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.riigiteataja.ee/akt/116022016013>

[Kasutatud 20 05 2021].

Geenidoonor, 2021. *Geenidoonor*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://geenidoonor.ee/geenivaramu>

[Kasutatud 15 05 2021].

Devyser, 2017. *Devyser - Results for life*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://devyser.com/articles/str-markers/>

[Kasutatud 27 01 2021].

DNAresource, 2021. *DNA resource*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.dnaresource.com/resources>

[Kasutatud 15 05 2021].

YourGenome, 2014. *YG topics*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.yourgenome.org/facts/what-is-the-uk-national-dna-database>

[Kasutatud 10 05 2021].

DNAresource, 2021. *DNA resource*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.dnaresource.com/resources>

[Kasutatud 12 04 2021].

Verogen, 2021. *Verogen*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://verogen.com/products/forenseq-dna-signature-prep-kit/>

[Kasutatud 04 2021].

Parabon, 2020. *Parabon Snapshot Advanced DNA Analysis*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://snapshot.parabon-nanolabs.com/phenotyping>

[Kasutatud 05 07 2020].

Woollard, A., 2016. *An evening with Sir Alec Jeffreys*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www2.le.ac.uk/departments/genetics/jeffreys/history-gf>

[Kasutatud 07 01 2021].

Ancestry, 2021. *Ancestry*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.ancestry.com/dna/>

[Kasutatud 01 2021].

Stanley, U. N., 2020. *NCBI*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7444828/>

[Kasutatud 10 01 2021].

Panneerchelvam, S. & Norazmi, M., 2003. *NCBI*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3561883/>

[Kasutatud 10 01 2020].

Anon., 2011. *FBI*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.fbi.gov/news/stories/the-fbi-and-dna-part-1>

[Kasutatud 10 01 2021].

Anon., kuupäev puudub *FBI*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis>

[Kasutatud 06 2020].

Taylor, T., 2011. *National Institute of Justice*. [Võrgumaterjal]

Available at: <https://nij.ojp.gov/topics/articles/extending-time-collect-dna-sexual-assault-cases>

[Kasutatud 06 2020].

LIHTLITSENTS

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Cristopher-Kevin Kunila

1. Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose DNA profileerimine isikute tuvastamiseks, mille juhendajad on Anu Aaspõllu ja Ants Kurg, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Cristopher-Kevin Kunila

31.05.2021