

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra antropologie a genetiky člověka**

Studijní obor: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Tereza Hnyková

**Izolace DNA z dotykových stop a její forenzní analýza**  
Isolation of DNA from touch traces and its forensic analysis

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: prof. RNDr. Marie Korabečná, Ph.D.

Praha, 2024

*„Ráda bych poděkovala své školitelce prof. RNDr. Marie Korabečné, Ph.D. za cenné rady, poznámky, pomoc s výběrem vhodných odborných článků a především za ochotu vést tuto bakalářskou práci. Na konec bych také chtěla poděkovat svým přátelům a rodině za podporu, kterou mi poskytli v rámci celého studia.“*

*„Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně a že jsem uvedla veškeré informační zdroje a literaturu. Tato práce ani žádná její část nebyla použita k získání jiného akademického titulu.“*

.....

Tereza Hnyková

V Praze, 26. 4. 2024

## **Abstrakt**

Dotyková DNA je ve forenzní genetice ještě stále celkem novým objevem, ale využívá se velmi často jako důkazní materiál při soudních řízeních. Přesto například její definice není jednotná a zdroj DNA v dotykových stopách není kompletně prozkoumán. Tato práce tedy shrnuje všechny doposud nalezené zdroje DNA v dotykových stopách. Zároveň se zevrubně zaměří i na výzkum prováděný na těchto modelově vytvářených stopách v laboratořích a jak se získané informace mohou uplatnit v reálných případech ve forenzní praxi. Na závěr budou shrnuty metody extrakce DNA a nejlepší doposud objevené metody k izolaci DNA z dotykových stop.

## **Klíčová slova:**

Dotyková DNA, Dotykové stopy, Stopová DNA, Forenzní genetika, Volná DNA, Korneocyty, Extrakce DNA, Případy, Kriminalistika

## **Abstract**

Touch DNA is still a relatively new discovery in forensic genetics, but it is used very often as evidence in court proceedings. Nevertheless, its definition is not uniform and the source of DNA in touch deposits is not completely explored. This work summarizes all sources of DNA in touch traces found so far. At the same time, it will provide a brief look on the research carried out on these experimentally deposited traces in laboratories and how the information obtained can be applied in real cases in forensic practice. Finally, DNA extraction methods and the best methods discovered so far to isolate DNA from touch traces will be summarized.

## **Key words:**

Touch DNA, Touch traces, Trace DNA, Forensic genetics, cell-free DNA, Corneocytes, DNA extraction, Casework, Criminology

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Charakterizace a zdroje dotykové DNA.....	2
2.1. Buňky z nejsvrchnější vrstvy pokožky.....	2
2.1.1. Role DNáz při tvorbě korneocytů .....	3
2.1.2. Korneocyty jako zdroj DNA pro forenzní účely .....	4
2.2. Odlučovací status a další buňky původem z rukou .....	5
2.2.1. Degradované buňky, buňky s jádrem a volná jádra .....	6
2.3. Buňky přenesené na ruce.....	7
2.3.1. Ze slin.....	7
2.3.2. Z mazových žláz.....	8
2.3.3. Další možné zdroje a určení původu přenesených buněk .....	9
2.4. Volná DNA (cfDNA).....	9
3. Studium dotykových stop.....	11
3.1. Modelové vytváření dotykových stop .....	11
3.2. Studium odběru dotykových stop .....	12
3.2.1. Závislost na stěrovém nástroji.....	12
3.2.2. Závislost na různých površích.....	14
3.2.3. Závislost na různých pufrech .....	15
3.2.4. Závislost na osobě dárce.....	16
3.2.5. Závislost na době dotyku osoby s předmětem .....	18
4. Metody izolace DNA z dotykových stop .....	20
4.1. Přehled metod izolace DNA.....	20
4.1.1. Fenol – chloroformová extrakce.....	20
4.1.2. Diferenciální extrakce .....	20
4.1.3. Chelexová metoda .....	21
4.1.4. Metoda navázání DNA na pevný nosič.....	21
4.2. Testování nejlepších metod izolace DNA z dotykových stop.....	22
5. Ukázky využití ve forenzní praxi .....	23
5.1. Případ 1 - Propuštění Davida Camma .....	23
5.2. Případ 2 – Nalezení dotykové DNA vedlo k zatčení nevinného muže .....	23
5.3. Případ 3 – Zmizení a vražda Anny Janatkové.....	24
6. Závěr.....	25
7. Seznam použité literatury .....	26

# 1. Úvod

Sběr DNA zanechané na místě činu a její porovnání s někým, kdo je podezřelý z trestného činu, je nyní všudypřítomným nástrojem ve forenzní praxi. Již před více než dvaceti lety byl získán genetický profil jedince po stěru a analýze DNA z dotýkaného předmětu (van Oorschot & Jones, 1997). Ještě před tím ale forenzní vědec Edmond Locard poukázal na podstatu sběru prachu na místě činu (Locard, 1930). Z jeho poznatků pak vzešel známý Locardův princip výměny, který říká, že každý, kdo vejde na místo činu, zanechá stopy své přítomnosti a zároveň s něčím z místa činu odejde, přičemž obojí se poté dá využít jako forenzní důkaz při vyšetřování. Tento princip se dá vztáhnout i na DNA, která se na místě činu může vyskytovat jak ve stopách, které můžeme vizualizovat (např. ejakulát či krev), tak ve stopách dotykových, tedy “touch DNA“, která je ve vědě ještě stále celkem nové a ne zcela prozkoumané téma.

V literatuře a ve forenzní praxi se pak často operuje se dvěma hlavními pojmy. Prvním je “trace DNA“ (stopová DNA). Tento pojem většinou zahrnuje biologické vzorky obsahující malé množství DNA, která nepochází z tělesné tekutiny (např. ejakulát, sliny, krev). Alternativně pak pojem “touch DNA“ (dotyková DNA), kde se předpokládá, že způsobem uložení na povrch byl dotyk. Definice těchto pojmů se mohou v různých publikacích lišit, což by bylo vhodné do budoucna více upřesnit, jelikož se výzkum ve forenzní genetice posouvá stále vpřed.

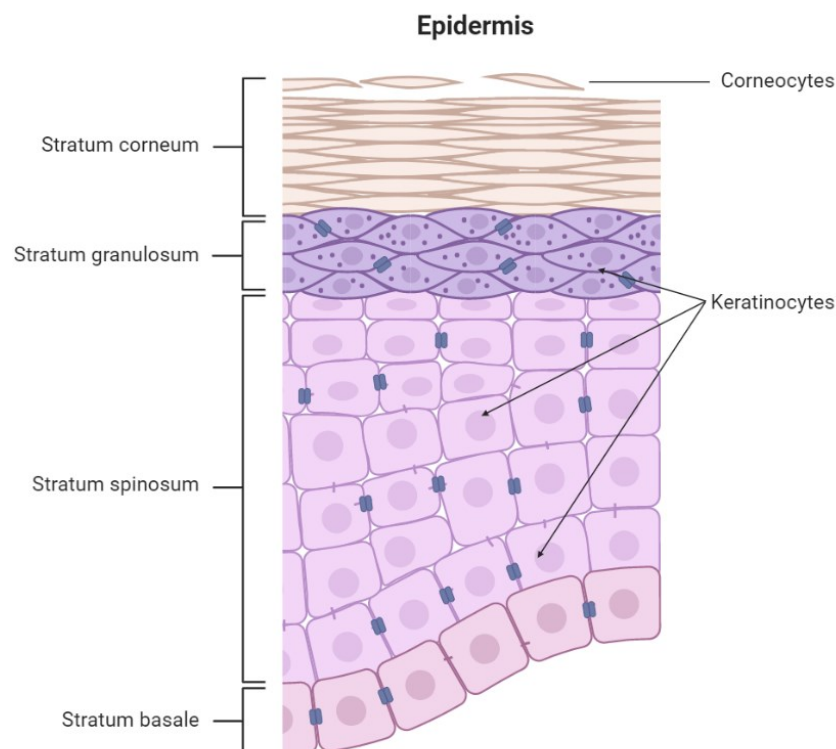
Tato práce si klade za cíl především shrnout původ DNA, kterou je možné izolovat z dotykových stop, na základě dnes dostupných informací z vědeckých publikací. Zároveň se práce částečně zaměří na možnosti modelového vytváření dotykových stop a praktického využití získaných informací ve forenzní praxi. Ráda bych uvedla, že tato práce se nebude zabývat kompletní forenzní analýzou dotykových stop, ale spíše jejich obsahem, původem a izolací.

## 2. Charakterizace a zdroje dotykové DNA

Dotyková DNA, v literatuře známá jako “Touch DNA“, nemá mezi vědeckou komunitou jednotnou definici co se týče konkrétního množství, původu tkáně, či metody analýzy. Historicky se vycházelo z názoru, že se jedná o DNA z buněk odloučených z nejsvrchnější vrstvy kůže (Wiegand & Kleiber, 1997). Tento koncept se povětšinou nadále udržuje, ale nové studie, které se výzkumem dotykových stop zabývají, přináší nové informace o zdrojích DNA v dotykových stopách, které budou probrány v následujících podkapitolách<sup>1</sup> této práce.

### 2.1. Buňky z nejsvrchnější vrstvy pokožky

*Epidermis*, neboli pokožka, je vnějším obalem kůže. Je tvořena několika vrstvami dlaždicového epitelu. Keratinocyty jsou hlavním typem buněk tvořící *epidermis*, ale nachází se zde také melanocyty a další typy buněk. Dle polohy a morfologie buněk lze rozeznávat čtyři vrstvy (Obr. 1), do kterých se keratinocyty organizují: bazální vrstva (*stratum basale*), *s. spinosum*, *s. granulosum*, kde se nachází buňky obsahující keratohyalinová granula v cytoplasmě a nejsvrchnější vrstva *s. corneum* ve které se keratinocyty diferencují na tzv. korneocyty (Watt, 1989).



Obrázek 1: Schématické zobrazení vrstev epidermis (Vlastní tvorba - vytvořeno v BioRender)

<sup>1</sup> Rozdělení těchto podkapitol bylo částečně převzato z review od Burrill et al., 2019

Korneocyty jsou obklopeny nerozpustnou zrohovatělou obálkou a vyplněny keratinovými vlákny. Tyto zrohovatělé buňky mají za cíl chránit spodní vrstvy živých buněk před mechanickým poškozením a vysycháním. (Watt, 1989). Korneocyty jsou vzájemně propojeny korneodesmozomy (Chapman & Walsh, 1990).

Kornifikace, keratinizace, či rohovění, je terminální diferenciací keratinocytů, kdy dochází ke ztrátě jádra a dalších buněčných organel. Živé keratinocyty se mění na bezjaderné korneocyty a jsou tedy v podstatě bez DNA (Chu, 2012). Kromě tvorby korneocytů vede terminální diferenciací keratinocytů k různým konečným produktům, jako jsou např. vlasy či nehty (Fischer et al., 2011).

Při přechodu ze *s. granulosum* do *s. corneum* je jaderná DNA degradována. Dochází ke vzniku dvouřetězcových zlomů DNA, které jsou detekovatelné značením volných 3'-OH konců. Tento proces trvá přibližně 6 hodin, stejně jako rozpad DNA během apoptózy (Gavrieli et al., 1992). Ztráta jádra začíná ve *stratum granulosum* působením endonukláz (McCall & Cohen, 1991).

### **2.1.1. Role DNáz při tvorbě korneocytů**

Enzymy ze skupiny deoxyribonukleáz (dále jen DNázy) hrají roli v degradaci DNA, což je klíčový proces v organismech. Fungují jako endonukleázy, které hydrolyticky štěpí fosfodiesterovou vazbu, dají se tedy označit jako fosfohydrolázy (Mori et al., 2022). DNázy bývají rozlišovány do dvou proteinových rodin na základě struktury a katalytických vlastností (Keyel, 2017). Enzymy ze skupiny DNáza1 vytváří při štěpení 5'-P konce a 3'-OH konce. Vyžadují pro svou aktivitu zpravidla neutrální pH a jako kofaktory využívají dvojmocné kationty (Shiokawa & Tanuma, 2001). Mezitím enzymy z rodiny DNáza2 pracují při kyselém pH, generují 5'-OH a 3'-P konce a nevyžadují kofaktor ke své funkci (Baker et al., 1998).

V publikaci od Fischer et al., 2007 byl enzym DNáza1L2 (DNase1-like-2) identifikován jako esenciální enzym při degradaci DNA během terminální diferenciací epidermálních keratinocytů. DNáza1L2 patří do rodiny DNáza1, je kódována genem *DNASE1L2* na lidském chromozomu 16p13.3 a skládá se ze 7 kódujících exonů (Shiokawa et al., 2004). Tento enzym dosahuje své maximální enzymatické aktivity při kyselějším pH (kolem 5,6), čímž se výrazně liší od ostatních proteinů rodiny DNáza1, které vykazují aktivitu při neutrálním pH 7 (Shiokawa & Tanuma, 2001). Nicméně kyselé prostředí je přítomné i ve *stratum corneum* (Ohman & Vahlquist, 1994), kde je mRNA této DNázy exprimovaná mnohem více, než v jiném analyzovaném orgánu a tudíž se dá předpokládat, že plná enzymatická aktivita DNázy1L2

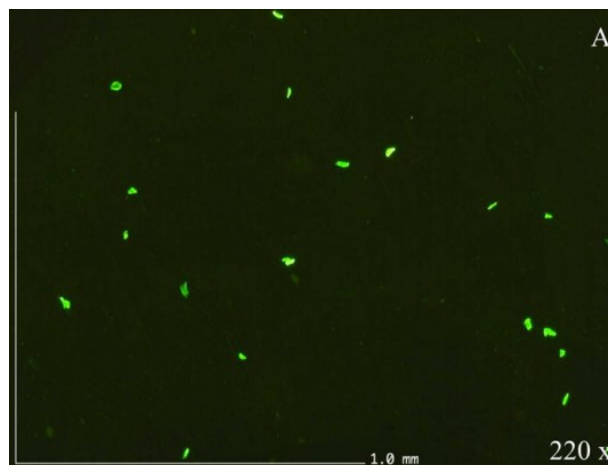


nastává během či krátce po přeměně keratinocytů na korneocyty. Zvýšení exprese této mRNA pak přímo koreluje s nadbytkem proteinu DNÁza1L2. Na základě pozorování bylo navíc zjištěno, že DNÁza1L2 je lokalizována převážně v cytoplazmě a pouze v několika případech v jádře diferencujících keratinocytů. K DNA tedy získá přístup jen po narušení jaderné membrány, což se pravděpodobně děje právě při tomto procesu terminální diferenciaci keratinocytů (Fischer et al., 2007).

### 2.1.2. Korneocyty jako zdroj DNA pro forenzní účely

Jak již bylo zmíněno, korneocyty jsou buňky, kterým chybí jádro a tedy by neměly být samostatným hlavním zdrojem DNA pro sběr z dotykových stop i pokud by byly posbírány ve vysokém množství. Nicméně při experimentální barvení se snaže vizualizovat dotykovou DNA došlo k obarvení i u keratinocytů, u kterých se předpokládalo, že jsou již diferencované a bez jádra. Tyto keratinocyty poté poskytly detekovatelné DNA profily (Kanokwongnuwut, Kirkbride, et al., 2018).

Při mikroskopickém pozorování pak většinou nebyla nalezena korelace mezi množstvím nalezených korneocytů a množstvím získané DNA (Ehrhardt et al., 2015), avšak toto bylo zpochybněno údaji ze studie, která se zaměřila na možné ztráty DNA, které vznikají při sběru dotykových stop. Především šlo o nejistoty ohledně efektivity stěru, množství DNA zbylé na stěrovém nástroji a ztráty DNA při procesu lýze a extrakce. Za použití barviva Diamond™ Nucleic Acid Dye, je možné určit počet buněk zanechaných na povrchu. Vizualizace zároveň umožní využití veškerého buněčného materiálu ze stěrového nástroje při PCR, čím se výrazně minimalizují nejistoty při zpracování dotykové DNA (Kanokwongnuwut, Martin, et al., 2018).



Obrázek 2: Zobrazení buněčného materiálu na podložním sklíčku z otisku prstu, obarveno 20× Diamond™ dye (zvětšení 220×) (Kanokwongnuwut, Kirkbride, et al., 2018)

Další data pak naznačují, že tyto bezjaderné korneocyty z rukou nesou na svém povrchu extracelulární DNA, která se dá extrahovat a analyzovat, což z nich vytváří zdroj pro sběr dotykové DNA k forezním účelům (Wang et al., 2017).

## **2.2. Odlučovací status a další buňky původem z rukou**

Termínem “shedder status“ (dále odlučovací status) se v anglické literatuře označuje sklon zanechat genetický materiál na povrchu či předmětu, kterého se jedinec dotýkal (Jansson et al., 2022). Při experimentu, kdy několik dobrovolníků po umytí rukou drželo plastové zkumavky po určitou dobu, bylo zjištěno, že někteří jedinci měli vyšší sklon k přenosu své DNA, než jiní jedinci. Tak vznikla teorie dobrých a špatných odlučovačů, v anglické literatuře známá jako “Theory of good and bad shedders“, která předpokládá, že existují jedinci, kteří konzistentně po sobě zanechávají více či méně DNA (Lowe et al., 2002).

Na základě této teorie pak vznikly další experimenty, vedoucí k závěru, že někteří jedinci jsou náchylnější k zanechání většího množství DNA, než jiní (Goray et al., 2016). Nicméně to bylo mnohokrát zpochybněno publikacemi, které ukazují, že množství zanechané DNA je často variabilní u stejných jedinců. Např. ve studii, při které došlo ke třem opakovaným sběrům dotykové DNA z plastových zkumavek, 77 % účastníků změnilo odlučovací status a pouze 23 % mělo stejný odlučovací status v průběhu všech tří pokusů (Manoli et al., 2016). To by tedy naznačovalo, že odlučovací status je často ovlivněn i dalšími faktory. Nošení rukavic (Goray et al., 2016) a mytí rukou (Ehrhardt et al., 2015) zpravidla snižuje množství zanechané DNA, zatímco kontakt s jinou částí těla či s mobilním telefonem naopak odlučovací status obvykle zvyšuje (Tan et al., 2019).

V několika publikacích se dále objevil poznatek, že muži většinou zanechávají více DNA v dotykových stopách než ženy (Kanokwongnuwut, Martin, et al., 2018; Tan et al., 2019). Zároveň při jedné z těchto studií bylo zjištěno, že mladí muži zanechávají více DNA, než starší muži. Tento trend pak nebyl zaznamenán u žen (Manoli et al., 2016). Nedávno také bylo zjištěno, že používání hydratačních krémů má vliv na odlučovací status. Konkrétní změny pak závisí na typu použitého krému (Schwender et al., 2021).

Nově se začíná v literatuře objevovat i třetí typ odlučovačů; střední případně inkonzistentní (v anglické literatuře “intermediate“, nebo “inconsistent“). Dělení odlučovačů do těchto tří kategorií nejprve navrhl ve své studii Allen et al., 2008 a následně byla tato teorie podpořena studií od Kanokwongnuwut, Martin, et al., 2018, která navíc dle svých výsledků navrhuje, že tyto tři kategorie nejsou závislé na použití dominantní ruky. Užívání této třetí

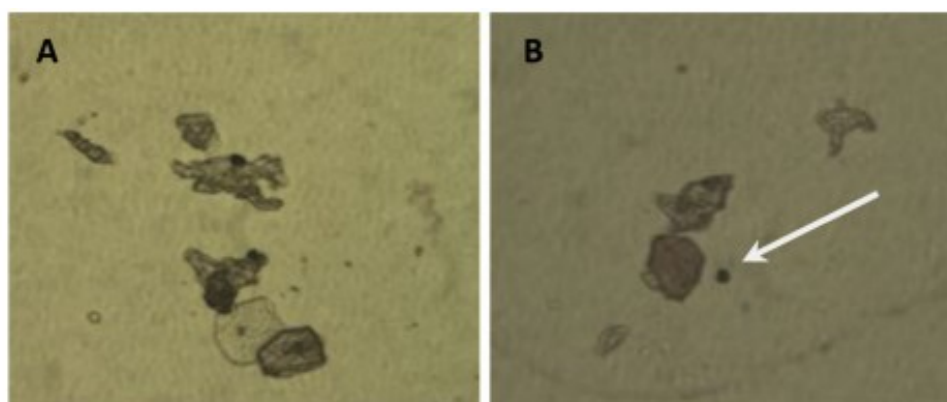
kategorie by vysvětlilo časté rozdíly v množství zanechané DNA při opakovaných odběrech od některých jedinců (Schwender et al., 2021).

Jelikož se původně předpokládalo, že DNA z dotykových stop pochází především z epidermálních buněk, jako dobří odlučovači byli označováni právě jedinci, kteří mají přirozeně vyšší obrát diferencovaných keratinocytů (Alessandrini et al., 2003). Nedávno byl však tento názor zpochybněn a bylo navrženo, že velká část dotykové DNA pochází z tělesných tekutin jako např. kožní maz a pot (Zoppis et al., 2014) a sliny (Warshauer et al., 2012). Další možností jsou poté, kromě bezjaderných korneocytů, další endogenní buňky (tedy buňky, které nebyly přenesené z jiné části těla, ale pocházejí z rukou). Jsou to především degradované buňky, buňky s jádrem, které byly vyloučené póry a volná jádra (Ehrhardt et al., 2015).

### 2.2.1. Degradované buňky, buňky s jádrem a volná jádra

Degradované buňky zpravidla poskytují DNA ve formě obnažených jader, či zbytkových buněčných fragmentů. Jelikož se předpokládá, že vznikají jako vedlejší produkt při keratinizaci, někteří autoři navrhují, že právě tyto buňky jsou hlavním zdrojem DNA v dotykových stopách a tudíž právě jedinci, kteří se dají označit jako dobří odlučovači mají vyšší obrát keratinocytů a tedy i těchto degradovaných buněk (Alessandrini et al., 2003). Toto podporují publikace u pacientů s určitými kožními onemocněními jako např. atopická dermatitida (Kamphausen et al., 2012) a u jedinců s přirozeně suchou kůží na ruku (Bright & Petricevic, 2004) u kterých se vyskytuje zvýšený obrát keratinocytů.

V publikaci, při které se mimo jiné zkoumaly otisky prstů z umytých rukou, pak došlo k obarvení DNA hematoxylinem (Obr. 2), zobrazující i volná jádra, což by také naznačovalo, že dotykové stopy obsahují fragmentované buňky jako zdroj DNA (Oleiwi et al., 2015).



Obrázek 3: Světelný mikroskop ( $\times 400$ ) - (A) Bezjaderné korneocyty a buňky s jádrem; (B) Bezjaderné korneocyty a volné jádro (označeno šipkou) (Oleiwi et al., 2015)

U buněk s jádry se předpokládá, že pravděpodobně pocházejí z potních kanálků a následně byly vyneseny na povrch rukou. Jejich přínos pro zdroj dotykové DNA je však nejednoznačný z několika důvodů. Studie, porovnávající korneocyty, tedy buňky bezjaderné a buňky s jádry jako zdroje pro dotykovou DNA, často nezohledňují při svých výzkumech možné zdroje z tzv. volné DNA a ne vždy dochází k rozlišení, zda byl odběr vzorků proveden po, či před umytím rukou (Burrill et al., 2019). Při studiu literatury k tomuto tématu si lze také povšimnout, že většina experimentů byla prováděna s nízkým počtem dobrovolníků, což by mohlo vést k odchýlkám ve vědeckých pracích.

Buňky s jádrem byly příležitostně nalezeny v malém množství při mikroskopickém pozorování latentních otisků z umytých rukou, konkrétně z prstů a dlaní (Oleiwi et al., 2015). Nicméně v rámci studie, kde nebylo specifikováno, zda vzorky pocházely z umytých, či neumytých rukou, bylo nalezené množství buněk s jádry nesignifikantní v porovnání s vysokým počtem bezjaderných korneocytů a degradovaných buněk. I přes to bylo možné získat alespoň částečné DNA profily všech dárců otisků (Balogh et al., 2003).

Korelace množství získané DNA s množstvím získaných buněk s jádry nebyla nalezena, což zpochybňuje jejich přínos jako zdroj dotykové DNA. Navíc v rámci jedné studie korelovalo množství získané DNA s množstvím nalezených volných jader, což by naznačovalo, že volná jádra jsou přednostněji zdrojem DNA v dotykových stopách, než buňky s jádry (Alessandrini et al., 2003). Autoři této studie zároveň navrhují, že příčinou této korelace může být právě zvýšený obrat keratinocytů u jedinců, kteří jsou označováni jako dobří odlučovači. Jelikož diferenciaci keratinocytů doprovází i vznik volných jader, docházelo by pak k jejich vyššímu výskytu ve *stratum corneum*, odkud se pak přenáší na povrchy dotykem. Dále pak navrhují, že extrakce DNA z volných jader je jednodušší, než z buněk celistvých, což také může způsobit tuto korelaci.

### **2.3. Buňky přenesené na ruce**

Jelikož se lidské ruce běžně dostávají do kontaktu s dalšími částmi těla a mnoha předměty, je logické předpokládat, že dotykové stopy budou také obsahovat buňky exogenní, tedy takové, které nepocházejí přímo z rukou, ale byly na ně přeneseny a následně byly dotykem uloženy na nějaký povrch.

#### **2.3.1. Ze slin**

Sliny jsou velmi dobrým zdrojem těchto buněk. Bukální epitel je průměrně obměňován každých 2,7 hodiny a v mililitru slin lze nalézt kolem  $4,3 \times 10^5$  epiteliálních buněk, čímž existuje

vysoká šance nalezení neporušené DNA (Dawes, 2003). V rámci genetických výzkumů bylo mnohokrát prokázáno, že genetický profil lze získat ze slin (Ng et al., 2006). Díky tomu se bukální stěry běžně využívají ve forenzní genetice jako kontrolní vzorky při vyšetřování různých případů (Carney et al., 2019). Zároveň jsou běžnou praxí při určování obětí hromadného neštěstí. Od příbuzných je odebrán bukální stěr k porovnání s genetickým profilem z ostatků obětí (Kitayama et al., 2020). Tyto stěry jsou výhodné navíc proto, že pouze malé množství buněk je potřeba k získání genetického profilu. Zatímco pro stěry z dotykových stop je nutné nasbírat kolem čtyř až osmi tisíc korneocytů v závislosti na metodě odběru, pouze kolem osmdesáti bukálních buněk stačilo k vytvoření kompletního profilu (Kanokwongnuwut et al., 2021).

K odběru DNA ze slin se standardně využívá bukální stěr pomocí vatových tampónků, kdy pouze dva stěry mohou poskytnout DNA v rozmezí 5-15  $\mu\text{g}$ . Při alternativním odběru slin pak došlo ke značnému zvýšení tohoto množství, kdy ve 2 ml odebraných slin bylo v průměru nalezeno 22,8  $\mu\text{g}$  lidské DNA (Quinque et al., 2006). Nicméně autoři této práce poukazují na to, že ačkoli tato metoda poskytuje vyšší zisk DNA ze slin, v ústech se běžně vyskytuje mnoho bakterií, a tudíž i množství bakteriální DNA (Dawes, 2003) v odebraných vzorcích je následně také zvýšené.

DNA ze slin navíc nemusí být odebírána přímo z úst samotných. Při analýze cigaretových nedopalků bylo také možné nalézt dostatečné množství DNA (Hochmeister et al., 1991) a v dnešní době jsou nedopalky běžně sbírány na místě činu jako důkazní materiál.

Při každodenních činnostech pak není neobvyklé, aby se sliny přenesly na ruce a s nimi i DNA z bukálního epitelu. Z rukou pak dochází k dalšímu přenosu. Někteří jedinci si před otáčením stránek mohou olíznout palec ruky a tím pak na papír sekundárně přenést svou DNA. Příkladem primárního přenosu DNA ze slin je např. jedinec, který při čtení okusuje pero (Warshauer et al., 2012).

### **2.3.2. Z mazových žláz**

Mazové žlázy jsou mikroskopické žlázy v kůži. Jsou rozmístěny po celém těle s výjimkou chodidel a dlaní. Jedná se o holokrinní žlázy, které produkují maz odumíráním epitelových buněk a sekrece je ovlivněna hormony, především androgeny.

DNA v dotykových stopách pocházející z mazu musela být tedy přenesena z jiné části těla na ruce. Při studii těchto mazových žláz pro zdroj dotykové DNA, byl prováděn experiment, při kterém si dobrovolníci nejprve umyli ruce, a poté došlo ke kontaktu s kůží druhého

dobrovolníka. Poprvé s částí kůže, která obsahuje mazové žlázy a jednou bez žláz. Následně první dobrovolník provedl otisk prstu na podložní sklo a z něj byla odebrána dotyková DNA. Skoro u všech přenosů po dotyku kůže s mazovými žlázami bylo možné získat částečný či kompletní DNA profil druhého dobrovolníka. U žádného otisku, kterému předcházela kontakt s částí kůže bez mazových žláz, nebyl detekován DNA profil druhého dobrovolníka. Zároveň autoři této studie opakovaně pomocí imunodetekce pozorovali ssDNA u většiny buněk mazových žláz (Zoppis et al., 2014). Na základě této studie vyvstává otázka, zda odlučovací status není ve skutečnosti závislý právě na vylučování kožního mazu (Burrill et al., 2019).

### **2.3.3. Další možné zdroje a určení původu přenesených buněk**

Jelikož se lidské ruce běžně dostávají do kontaktu s celým tělem, případně s oblečením, je možné, aby se na ně přenesly různé typy epitelů. Pomocí histologického barvení se dají navzájem rozlišit buňky vaginálního, kožního a bukalního epitelu (French et al., 2008).

Nově se také k určení typů buněk začaly zkoumat mRNA a mRNA markery. Pro kůži byly objeveny tzv. kožně-specifické mRNA markery, které v ní mají výrazně zvýšenou expresi v porovnání s tělesnými tekutinami (Visser et al., 2011). Jeden z těchto markerů (LCE1C) se zdá být jako vhodný kandidát k určení typů epitelů z dotykových stop. Oproti dalším vykazuje tento marker vysokou citlivost a byl nejčastěji detekován ve vzorcích z kůže i z dotykových stop. Ačkoli existuje více těchto kožně-specifických markerů, jejich výzkum je stále v počátcích (Hanson et al., 2012). V porovnání s identifikací tělesných tekutin se různé markery využívají běžně a lze díky nim rozlišit krev, ejakulát, pot, moč, sliny, vaginální sekret, menstruační krev a další (Xu et al., 2014).

Určení typů buněk pomocí RNA profilování je výhodnou alternativou k histologickému barvení, jelikož poskytuje citlivější metodu identifikace bez ztráty biologického materiálu. Nicméně pro dotykové stopy k určení původu buněk vyžaduje ještě další výzkum (Burrill et al., 2019)

### **2.4. Volná DNA (cfDNA)**

Volná DNA (dále cfDNA z anglického cell-free nebo circulating-free DNA) je nejnovějším možným zdrojem DNA v dotykových stopách. Jedná se o volné fragmenty DNA, které nejdříve byly objeveny v plazmě (Lo et al., 1997). Nyní se cfDNA využívá nejčastěji při testování rakoviny (Bennett et al., 2016) a při prenatálním vyšetření z krevní plazmy těhotné pacientky (Stokowski et al., 2015). U pacientů s rakovinou se předpokládá, že se tato cfDNA

dostane do krevního oběhu spontánním vypouštěním z nádorových buněk a při procesu apoptózy těchto buněk (Volckmar et al., 2018).

cfDNA je však přítomna i u zdravých jedinců (Devonshire et al., 2014). Bylo prokázáno, že různé typy buněk vylučují DNA alespoň v malé míře (Bronkhorst et al., 2016). Mimo krevní oběh byla cfDNA izolována z dalších tělesných tekutin např. z moči (Verzè et al., 2021), slin (Taki & Kibayashi, 2015) a potu (Quinones & Daniel, 2012). Dále pak z ejakulátu, kde její přítomnost korelovala s normální funkcí spermií a bylo navrženo, že by se cfDNA dala využít jako indikátor kvality spermatu (Chou et al., 2004).

Právě z potu se předpokládá, že se cfDNA může přenést na ruce a následně na dotýkané předměty a povrchy. V jednom mililitru potu bylo nalezeno v průměru 11,5 ng DNA (Quinones & Daniel, 2012). Pokud by tedy pot byl jedním z hlavních zdrojů DNA v dotykových stop, mohla by fyzická aktivita mít vliv na odlučovací status. Některé studie také navrhují, že množství cfDNA v plazmě se může zvyšovat např. s fyzickou zátěží, nicméně stále není známý přesný dopad různých druhů cvičení na hladiny cfDNA a jakým mechanismem se uvolňuje do krevního oběhu (Breitbach et al., 2012).

Další možností jsou sliny, kde se typicky nachází vysoké množství DNA. Po extrakci a rozdělení buněčné a volné DNA ze slin, bylo potřeba více volné DNA (5 ng) pro získání hodnotného genetického profilu. U buněčné DNA k tomu stačil pouze 1 ng. Autoři této práce navrhují, že důvodem tohoto rozdílu je fragmentace, jelikož z celistvých buněk lze většinou získat celá jádra a ne fragmenty jako z cfDNA (Taki & Kibayashi, 2015).

V rámci výzkumu dotykových stop byla cfDNA nalezena i ve vzorcích z dotýkaných předmětů, konkrétně v supernatantu po extrakci, který se při analýze forenzních vzorků občas dále nezpracovává. Proto je výhodné tento supernatant alespoň uskladňovat a využít jej v případě dodatečných analýz, jelikož může poskytnout informace, které se ve vzorcích z buněčného sedimentu nenacházejí (Vandewoestyne et al., 2013).

### 3. Studium dotykových stop

Studium dotykových stop je pro forenzní praxi důležitým nástrojem k úspěšnému získání genetického profilu. Mezi nejdůležitější témata, kterými se výzkumy v současnosti zabývají, patří především; jak nejlépe odebrat konkrétní vzorek a kolik DNA lze získat za různých podmínek. Sekundárně se pak zkoumá zdroj DNA v dotykových stopách, nicméně tento výzkum není zatím tak rozsáhlý, jako první dvě studované problematiky ve forenzní praxi, což by se do budoucna mohlo změnit, jelikož i zdroj DNA může být důležitou informací při vyšetřování (Burrill et al., 2019).

Pro studium dotykových stop slouží jak poznatky z případů, tak i modelově vytvořené dotykové stopy v laboratořích.

#### 3.1. Modelové vytváření dotykových stop

Modelové vytváření dotykových stop většinou lze rozdělit na ty, při kterých se výzkum soustředí na simulaci reálných situací (Goray et al., 2012), a pak takové, kde jsou známé okolnosti a kontrolované akce provázející vytvoření dotykových stop (Breathnach et al., 2016). Obě metody poskytují různé informace, které lze následně využít při vyšetřování reálných případů.

Simulace reálných případů se především zaměřuje na fakt, že v realitě nemají vyšetřovatelé a vědci dostupné veškeré informace, které předcházely vzniku dotykových stop. V rámci těchto studií jsou proto vytvářeny tzv. “mock cases<sup>2</sup>“ s možným důkazním materiálem a jakým způsobem by mohla být věrohodnost konkrétního důkazu snížena protistranou při soudním řízení. Dle možných obhajob pak vytváří experimenty, které by věrohodnost důkazu měly prokázat. Výsledky jsou pak interpretovány v procentech s uvedením pravděpodobností, nikoli s jednoznačným tvrzením, především pokud se jedná o případy, ve kterých hraje roli přenos genetického materiálu (Goray et al., 2012). Tyto studie nepřinášejí informace o původu DNA v dotykových stopách, ani nejlepší postupy pro izolaci těchto stop. Většinou je cílem s největší pravděpodobností prokázat, že důkazní materiál má váhu při soudním řízení proti obžalovanému.

Kontrolovaně připravené dotykové stopy bývají specificky modelované pro konkrétní cíl výzkumu. Nenapodobují nutně reálné situace a jsou zaznamenány relativní okolnosti před umělým vytvořením dotykové stopy. Pokud se jedná např. o výzkum souvislosti mytí rukou

---

<sup>2</sup> Falešné/Napodobené případy



s množstvím zanechané DNA, bývá přesně zaznamenán čas odběru vzorků po umytí (Takić-Miladinov et al., 2022). Při výzkumech nejlepšího stěrového nástroje je využito několik různých druhů na odběr předem připravené uměle deponované stopy o známé koncentraci z jednoho či více různých povrchů, které následně bývají porovnávány mezi sebou (Hedman et al., 2021). Takové studie pak mohou poskytnout informace k metodice odběru dotykových stop, původu DNA v těchto stopách či o možných faktorech ovlivňující odběr dotykové DNA.

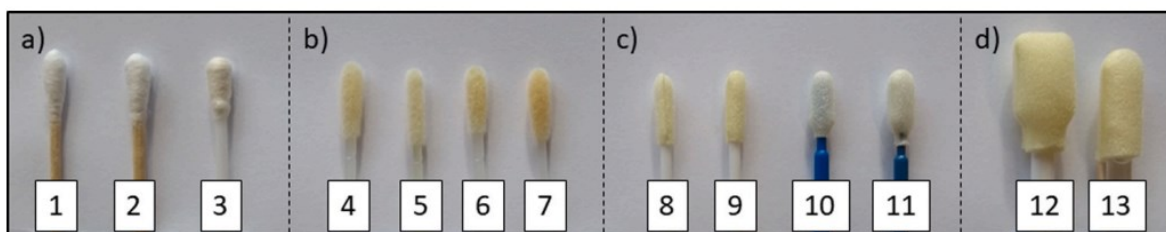
### 3.2. Studium odběru dotykových stop

Odběr vzorků by se dal označit za nejdůležitější krok při získávání DNA profilu z místa činu. Proto se mnoho forenzních laboratoří na tuto problematiku zaměřuje a snaží se najít nejlepší metody, jak správně odebrat konkrétní vzorky. V rámci těchto studií bylo zjištěno mnoho faktorů, které mohou odběr ovlivnit.

#### 3.2.1. Závislost na stěrovém nástroji

Existuje více nástrojů, pomocí kterých lze odebrat dotykové stopy. Většinou je typ nástroje a metoda odběru závislá na druhu materiálu či povrchu, ze kterého jsou stopy izolovány.

Asi nejčastěji používaným typem je odběrový či stěrový tampón. Využívá se více druhů, přičemž ten nezákladnější je klasický vatový tampón, kterým lze sbírat různé biologické stopy z různých povrchů (Verdon et al., 2014b). Dále jsou dostupné tampóny s nylonovými vlákny a pěnové tampóny. Oba typy poskytly vyšší množství izolované DNA v různých typech případů. V porovnání s vatovým tampónem, z nylonových tampónů bylo získáno více DNA původem z vaginálního stěru po pohlavním styku (Benschop et al., 2010) a pěnové tampóny dominovaly oproti vatovým i nylonovým tampónům při stěru z dřevěných povrchů. Vatové tampóny se zdály být nejúčinnější pro stěry ze skla (Verdon et al., 2014b). Zároveň klasický vatový tampón byl vyhodnocen jako univerzálně nejlepší pro různé typy povrchů (Hedman et al., 2021).



Obrázek 3: Ukázky různých typů odběrových tampónů; a) vatové, b) nylonové, c) malé pěnové, d) velké pěnové (Hedman et al., 2021)

Kromě typu povrchu se také ukázalo, že množství získané DNA závisí na metodě stěru. Dvojitý stěr, ať už v pořadí vlhký→vlhký, nebo vlhký→suchý, se ukázal účinnější při odběru vzorků z lidské kůže a elektroniky (např. myš a klávesnice), než pouze jeden vlhký stěr. První

vlhký stěr byl při tomto experimentu proveden tak, že sterilní vatový tampón byl namočen do sterilní vody. Pokud byl druhý stěr suchý, tampón do sebe nasál vlhkost zanechanou z prvního vlhkého stěru (Pang & Cheung, 2007).

Výhoda dvojitého stěru byla však celkem nedávno zpochybněna studií, při které byla porovnávána efektivita prvního a druhého stěru z různých povrchů. Ukázalo se, pro většinu povrchů, které nemají tendenci do sebe nasávat tekutinu, dojde při prvním vlhkém stěru k odebrání většiny buněk a není tedy nutné použít ještě druhý suchý. Zároveň při porovnání druhého suchého a vlhkého stěru bylo získáno více DNA z vlhkého. Pro komplexnější povrchy je stále doporučeno využívat dvojitý stěr, nicméně pro většinou povrchů se zdá být efektivnější jeden vlhký stěr, který je ale kvalitně provedený. V rámci stejné studie vzniklo několik doporučení pro správný odběr vzorků vatovým tampónem. S tampónem by se mělo při odběru otáčet a měl být držen přibližně v 60° úhlu proti povrchu. Zároveň pro drsnější a nerovné povrchy jako je dřevo, je doporučeno stěrový nástroj řádně navlhčit a použít spíše pěnový tampón. Naopak pro plastové povrchy se navlhčení před odběrem nedoporučuje (Hedman et al., 2020).

Pro relativně velké a porózní povrchy, kdy typickým příkladem jsou látky a textilie, se zdá být nejvhodnější a nejčastěji využívaná adhezivní páska (Bhoelai et al., 2013). Na tyto povrchy se také běžně využívala metoda vyříznutí či vystříhnutí části materiálu, ze kterého se laborant pokouší stopu izolovat. Avšak odběr na pásku se zdá výhodnější, jelikož není nutné materiál nijak narušit a sníží se šance na možnou kontaminaci PCR inhibitory (Barash et al., 2010). Navíc usnadňuje odběr z velkých materiálů, jako jsou bundy (Hall & Fairley, 2004) či deky (Bhoelai et al., 2013). Odběr vzorků pomocí pásky je závislý na její přilnavé síle. Zároveň se ukazuje, že ačkoli opakované použití pásky může zvýšit množství izolované DNA, při několikanásobném odběru může páska ztratit přilnavost a dojít až ke ztrátám genetického materiálu. Proto je nutné postupovat při odběru správně a pásku nepoužívat příliš. Odběr na pásku je také doporučován oproti stěru vatovým tampónem z látek (Verdon et al., 2014a).

Existují i další nástroje, kterými se dotykové stopy dají odebírat, nicméně nejsou až tak běžně využívané a rozšířené jako odběrové tampóny a adhezivní pásky. Odběr na FTA karty byl porovnán s dvojitým stěrem a ukázalo se, že FTA karty poskytly výrazně více DNA, než dvojitý stěr při stěru z volantů. Zkratka FTA původně vznikla jako zkratka z anglického “fast technology for analysis of nucleic acids<sup>3</sup>“. Jedná se papírky, které jsou na svém povrchu pokryty

---

<sup>3</sup> Rychlá technologie pro analýzu nukleových kyselin

chemikáliemi. Ty ochraňují genetický materiál před degradací. Nevýhoda u těchto karet se objevila při přejetí přes drsnější povrch, kdy docházelo k jejich poškození. Využití pro odběry další dotykové DNA ještě vyžaduje další výzkum, ale díky úspěšně získaným DNA profilům ze stěrů z volantu se tyto karty nabízí jako další vhodný nástroj pro sběr dotykových stop (Kirgiz & Calloway, 2017).

### **3.2.2. Závislost na různých površích**

Jak již bylo zmíněno, typ povrchu ovlivňuje metodu stěru a typ stěrového nástroje. Obecně ze studií většinou vyplývá, že drsnější a porózní povrchy (dřevo, látky) jsou lepším zdrojem dotykové DNA, než hladké povrchy (Daly et al., 2012). Tato studie navíc potvrzuje již dříve navrženou strategii postupu odběru dotykových stop z místa činu; prvně odebrat vzorky ze dřeva a následně z dalších povrchů jako jsou oděvy či sklo (Wickenheiser, 2002).

Plast je další hladký povrch, který se může vyskytovat na místě činu. V porovnání s vatou bylo získáno dvacetkrát méně kožních buněk z plastového podkladu, nejspíše právě kvůli tvrdosti a chybějící porézности materiálu. Nicméně při sekundárním přenosu se kožní buňky přenášely lépe z hladkých povrchů, než drsnějších porézních povrchů (Goray et al., 2010). Většina studií se shoduje na doporučení, že k odběru z různých povrchů je nejlepší používat konkrétní doporučené protokoly pro odběr a následnou extrakci k získání maximálního množství DNA (Alketbi & Goodwin, 2019).

Sběr dotykové DNA je samozřejmě také nutný nejen z povrchů, ale i věci nalezených na místě činu. Extrakce DNA byla provedena již z mnoha různých předmětů např. z rtěnky (Webb et al., 2001) či plastových sáčků (Hellerud et al., 2008). Jako důležité se uvádí také různé zbraně a nábojnice. V rámci studie odběru DNA ze zbraní a nábojnic bylo zjištěno, že množství získané DNA závisí především na části zbraně, odkud byly vzorky odebrány. Dále se ukázalo, že nábojnice neposkytly dostatečné množství DNA pro získání celkového genetického profilu, nejspíše kvůli jejich hladkému kovovému povrchu (Polley et al., 2006). Improvizovaná výbušná zařízení patří mezi další důležité důkazní materiály při vyšetřování teroristických útoků. Nicméně sběr z nich je zkomplikován tím, že při explozi dochází k degradaci DNA. Jelikož tato zařízení obsahují více různých materiálů, jako jsou baterie, PVC části či měděné kabely, neexistuje univerzální metoda odběru ani nejlepší stěrový nástroj. Je tedy nutné přistupovat k odběru z takových zařízení jednotlivě a dle typu materiálu dané součástky (Phetpeng et al., 2015).

### 3.2.3. Závislost na různých pufrách

Využití vlhkého stěru zlepšilo izolaci DNA z různých povrchů (Hedman et al., 2021). Nicméně kromě běžné sterilní deionizované vody existují další zvlhčující látky, které by mohly pozitivně přispět k množství získané DNA z dotykových stop. Navíc pokud je koncentrace iontů ve vodě nevyrovnaná, dochází kvůli osmóze k praskání buněk a genetický materiál se vylije do supernatantu, který nebývá pokaždé zpracováván při analýze (Martin et al., 2006), proto jiné pufrы by mohly být lepší alternativou k vodě.

Zvlhčovací pufrы na bázi detergentů mohou významně zvýšit výtěžky DNA (Aloraer et al., 2017). Detergenty jsou látky amfifilní povahy, které na rozdíl od vody umožňují rozpustnost organických látek jako např. proteiny a lipidy nacházející se v buňkách. Pufrы s detergenty tedy mají schopnost buňky solubilizovat do roztoku. V porovnání s vodou, zvýšily výtěžky DNA a v rámci vzájemného porovnání pak Triton X-100 a dodecylsulfát sodný (SDS) získaly nejlepší výsledky jako zvlhčovací roztoky při odběru dotykových stop z otisků prstů. Optimální koncentrace SDS pro stěry byla stanovena mezi 1% až 2%, přičemž vyšší koncentrace může zvýšit riziko srážení DNA (Thomasma & Foran, 2013). Triton X-100 (Templeton & Linacre, 2014) či Tween-20 v kombinaci s glycerolem (You et al., 2019) jsou další detergentové pufrы, které zvyšují efektivitu izolace DNA. Vyšší koncentrace Tritonu X-100 zpravidla zlepšuje výtěžnost DNA ze stěru, nicméně horní hranice optimální koncentrace tohoto roztoku (1% až 5%) také zvyšuje riziko srážení DNA jako u SDS. 1% roztok Tritonu X-100 byl tedy doporučen pro odběry vzorků. Alternativou pro Triton X-100 může být Tween-20. 1% roztok připravený z Tween-20 a glycerolu opět poskytuje výhodné amfifilní prostředí pro sběr DNA z dotykových stop, a proto se zdá být lepší variantou pro vlhký stěr než voda a fosfátový pufr (PBS), který není amfifilní povahy. Přidání glycerolu k Tween-20 navíc zlepšilo kvalitu vzorků, které byly skladovány (You et al., 2019). Použití různých detergentových pufrů může být zkomplikováno různými faktory. Např. Triton X-100 je velmi viskózní, a tudíž je složitější jeho ředění. SDS může zanechávat na povrchu po stěru pěnu a většina dalších roztoků na detergentové bázi vyžaduje přípravu, jelikož se obvykle neprodávají již v předem připravených koncentracích, které jsou pro stěry na místě činu používané (Schulte et al., 2023).

Další zvlhčující látky také poskytly vyšší množství DNA ze stěrů v porovnání s vodou. Alkoholy isopropanol a ethanol rychle zasychají a mohou dehydratovat buňky během odběru (Phetpeng et al., 2015). Fosfátový pufr (PBS) dokáže předejít prasknutí buněk v důsledku osmózy (Martin et al., 2006), nicméně není na bázi detergentů, ale lze jej zkombinovat s jinými detergentovými pufrы, např. Tween-20 a tím zvýšit jeho efektivitu (You et al., 2019).

Jak již bylo zmíněno, voda, ačkoli je nejspíše nejčastěji využívaným zvlhčovačem pro vlhký stěr, vykazuje nižší zisk DNA oproti ostatním dostupným látkám. Pufry na bázi detergentů, a mezi nimi hlavně SDS, pak spolehlivě zvyšují efektivitu stěru, a proto by přechod na tyto roztoky mohl být obecně dobrou změnou pro stěry z místa činů. Nicméně nutnost ředění či přípravy těchto látek před jejich použitím znesnadňuje jejich využití (Schulte et al., 2023). Proto by se alternativně mohly pro vlhké stěry používat roztoky s NaCl (Oliveira et al., 2015), které jsou komerčně dostupné již naředěné a zároveň ochraňují buňky před prasknutím díky izotonickému prostředí (Schulte et al., 2023).

#### **3.2.4. Závislost na osobě dárce**

Již dříve zmíněný odlučovací status dle mnoha publikací hraje roli v množství DNA, která je izolována z dotkových stop. Ačkoli existují studie, které zastávají názor, že není možné určit odlučovací status (Phipps & Petricevic, 2007), stále se tento termín využívá a většina studií se snaží určit tzv. dobré a špatné odlučovače a jak může být odlučovací status ovlivněn (Schwender et al., 2021).

Výzkumy zaměřující se na odlučovací status v závislosti na pohlaví, většinou dochází k závěru, že ženy zanechávají méně DNA, než muži (Jansson et al., 2020; Kanokwongnuwut, Martin, et al., 2018; Tan et al., 2019). Nicméně existují i publikace, které tento trend ve svých výzkumech nepozorovaly (Farmen et al., 2008; Lowe et al., 2002). Dále pak v rámci výzkumu odlučovacího statusu v závislosti na věku se ukázalo, že malé děti ve věku kolem čtyř let, by většinou patřily mezi tzv. dobré odlučovače v porovnání s jedinci nad sedmdesát let (Poetsch et al., 2013).

Ve forenzních studiích se prakticky vždy uvádí pohlaví a/nebo věk dárce vzorků. Nicméně etnicita dárce nebyla uvedena v žádné ze zde využitých publikací i přes to, že existují články, které poukazují na přítomnost rozdílů v kůži jedinců různých etnik (Wiznia & Elbuluk, 2017). Např. u osob původem z východní Asie bylo pozorováno, že jejich kožní bariéra je slabší, než u ostatních zkoumaných etnik (Muizzuddin et al., 2010). U Afroameričanů se pak často vyskytuje suchá pokožka (Uhoda et al., 2003). Zda se tyto rozdíly odráží i v odlučovacím statusu by mohlo být zajímavou otázkou pro další výzkumy.

Studie od Tobias et al., 2017 navrhuje, že se zvýšeným tlakem působícím na povrch kůže se zvětšuje množství zanechané DNA bez ohledu na odlučovací status jedince. Nicméně jiná studie, zkoumající přenos genetického materiálu v případech napadení, došla k závěru, že pravděpodobnost přenosu DNA na oblečení oběti je ovlivněna odlučovacím statutem pachatele.

Pokud útočník byl označen jako tzv. špatný odlučovač, nepřenesl dostatečné množství DNA pro získání genetického profilu (Fonneløp et al., 2017).

Aktivita vykonávána před dotykem také může mít dopad na množství zanechaného genetického materiálu. Mytí rukou je jeden z faktorů, který se v publikacích často uvádí (Ehrhardt et al., 2015). Zpravidla odběr v tomto případě obsahoval méně DNA a s delší časovou prodlevou od umytí se množství DNA zvyšovalo (Takić-Miladinov et al., 2022). V rámci jiné studie se ukázalo, že se DNA na rukou akumuluje už 15 minut po jejich umytí, nicméně ne přímo z nich, ale v důsledku běžné aktivity. Jednalo se tedy o DNA přenesenou na ruce (Burrill, Hotta, et al., 2021).

Sekundární přenos z jednoho jedince na jiného je také důležitým faktorem, který je potřeba zvažovat při analýze DNA z místa činu. Jako první tento termín popsal (van Oorschot & Jones, 1997), kdy při stěru z rukavic objevil alely, které nepatřily ke genetickému profilu jejich nositele. Zároveň provedl v rámci stejného výzkumu stěr po potřesení rukou a opět došlo k přenosu DNA. Na základě těchto svých poznatků varoval před možnou komplikací při vyšetřování a vyhodnocování vzorků z místa činu.

O dva roky později se ve své publikaci Ladd et al., 1999 pokusil vyvrátit tvrzení, že by sekundární přenos mohl ohrozit profilaci DNA. Vytvořil dva experimenty k simulaci možného sekundárního přenosu. Při prvním byli jedinci požádáni, aby si potřásli rukou a následně se dotkly předmětu na pět sekund. V rámci druhého experimentu pak dobrovolníci měli používat hrnek na kávu po dobu dvou hodin a ten byl následně předán jinému člověku na deset sekund. Z rukou i hrnků byly provedeny stěry, ze kterých byl učiněn závěr, že sekundární přenos nemůže kontaminovat DNA vzorky z místa činu. Nicméně v rámci experimentu se objevily alely z jiného jedince, které nebylo možné analyzovat, což naznačovalo, že sekundární přenos může probíhat. Nyní díky rozvíjející se technice ve forenzní genetice, se více výzkumů zabývá sekundárním přenosem a také otázkou, jak dlouhý kontakt musí proběhnout, aby došlo k přenosu genetického materiálu (viz následující podkapitola).

Nabízí se důležitá otázka, zda je možné, aby sekundární přenos někoho falešně propojil s místem činu a zločinem. Příkladovou studií je práce od Cale et al., 2016, kde bylo po stěru z 24 nožů objeveno 16 případů sekundárního přenosu z jedince, který neměl žádný fyzický kontakt s nožem. Ve třech z těchto případů bylo možné získat dostatečný profil k ovlivnění interpretace výsledků a pět profilů bylo možné využít ke statistické analýze a falešně propojit jedince s předmětem, kterého se nikdy fyzicky nedotýkal. Tato studie tedy stejně jako ta od van

Oorschot & Jones, 1997 poukazuje na nebezpečí předpokladu, že DNA získaná z důkazního předmětu pochází z přímého kontaktu s předmětem.

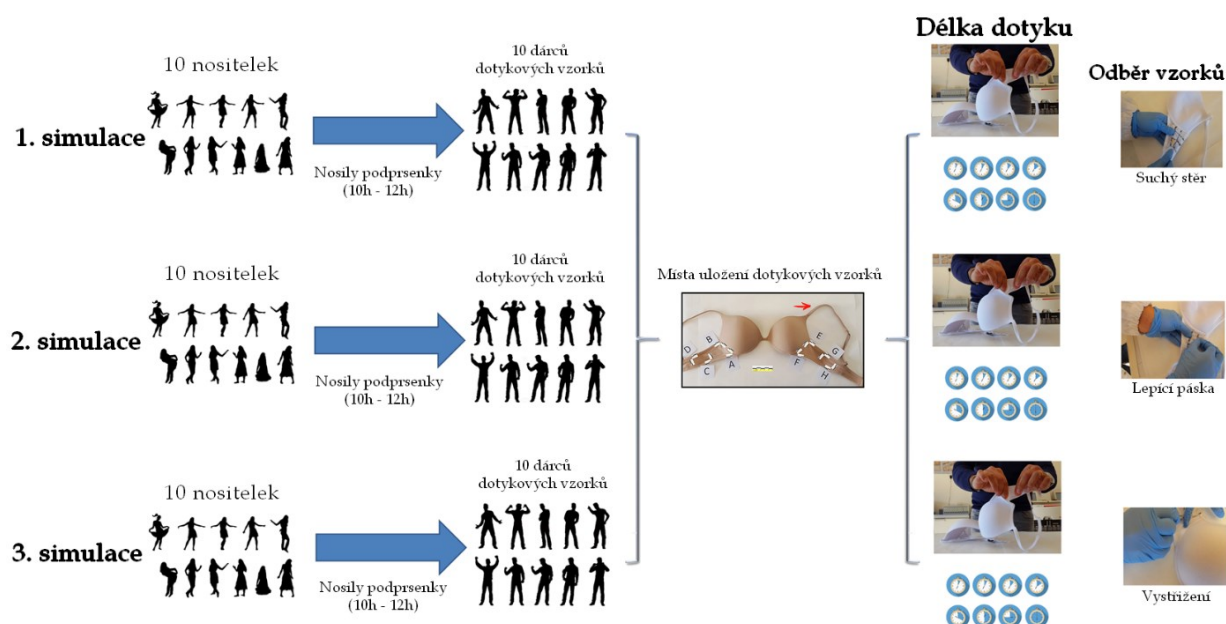
### 3.2.5. Závislost na době dotyku osoby s předmětem

V reálném prostředí samozřejmě většinou není možné určit, jak dlouhou dobu se jedinec dotýkal daného předmětu. Výzkumy ukázaly, že osoba, která měla s předmětem nejdelší kontakt nemusí vždy zanechat nejvíce DNA. V rámci studie bylo 63 mužů osloveno, aby na sobě měli spodní prádlo po dobu dvanácti hodin. Následně 15 sekund jedna z 11 dobrovolnic držela přiřazený oděv. Po analýze bylo zjištěno, že jeden z těchto nositelů nezanechal žádnou detekovatelnou DNA a hlavním zdrojem genetického materiálu byla dobrovolnice, která se prádla pouze dotýkala. Celkem pak na šesti kusech spodního prádla byla nalezena DNA od dotýkající se dobrovolnice bez detekovatelného profilu nositele. Zároveň na jednom kusu prádla nebyl hlavním přispívatelem genetického materiálu ani jeho nositel, ani dobrovolnice, která se prádla dotýkala, ale tzv. “background DNA<sup>4</sup>“. Tato studie tak ukazuje, že i patnácti sekundový kontakt může zanechat dostatečně množství DNA k vytvoření genetického profilu. Autoři studie varují, že takto může docházet ke zkreslení hodnoty důkazního materiálu, protože se tím neúmyslně ztíží možnost prokázání, že nositel či majitel měl daný oděv opravdu na sobě a nedošlo k pouhému dotyku (Breathnach et al., 2016).

Podobný výzkum provedl o tři roky později Sessa et al., 2019. Při tomto experimentu se tentokrát muži dotýkaly podprsenek, které na sobě měly ženské dobrovolnice opět po dobu dvanácti hodin. Experiment (viz obr. 4) se lišil tím, že na podprsence bylo označeno osm míst pro různou dobu držení a na konci byly provedeny různé metody sběru genetického materiálu.

---

<sup>4</sup> Background DNA byla v této studii definovaná jako přítomnost alespoň 6 alel, které nebyly přiřazeny jak k nositeli spodního prádla, tak k dobrovolnici (Breathnach et al., 2016)



Obrázek 4: Schéma experimentu - Místa na podprsence označena pro různou dobu držení - A (60 s), B (45 s), C (30 s), D (20 s), E (10 s), F (8 s), G (5 s), H (2 s); Metody odběru vzorků – suchý štěr, lepicí páska, vystřížení Převzato a přeloženo od Sessa et al., 2019

Skoro u všech kromě pěti testů převládá ve smíšených DNA profilech genetický materiál od dobrovolníka, který se podprsenky dotýkal, nad nositelkou podprsenky. Zároveň v tomto experimentu byl vždy největší přispívatel genetického materiálu jedinec, který se oděvu dotýkal jako poslední a to i bez ohledu na čas. Tato studie tedy opět poukazuje na nejistoty využití dotykové DNA jako důkazního materiálu při soudních řízeních, jelikož je možné, aby jedinec zanechal genetický materiál i při obyčejném dotyku oděvu (Sessa et al., 2019).

Logickým předpokladem by mohlo být, že poslední osoba, která se dotýkala předmětu, zanechá nejvíce DNA. Výzkumy však ukázaly, že se tak neděje vždy a studie opět navrhuji vysvětlení, že někteří jedinci jsou právě tzv. špatní odlučovači a zanechávají méně DNA, případně je množství ovlivněno typem kontaktu s předmětem (Goray & van Oorschot, 2015). Pokud jsou předměty každodenně a opakovaně využívány, dá se předpokládat, že ponесou DNA svého uživatele ve zvýšeném množství. V rámci výzkumu přenosu DNA z běžně používané klávesnice bylo zjištěno, že je možné přenést genetický materiál původního uživatele klávesnice na ruce jejího nového uživatele dokonce až osm dní po výměně klávesnic (Fonneløp et al., 2015). Při jiné studii zase bylo prokázáno, že je možné získat genetický profil jedince z lůžkovin pouze jedné strávené noci. Pokud v posteli dříve spala jiná osoba, byl nalezen smíšený DNA profil obou osob, což opět může zkomplikovat vyhodnocení důkazů např. při vyšetřování sexuálních napadení (Petricevic et al., 2006).



## **4. Metody izolace DNA z dotykových stop**

Po odběru vzorků je důležitým krokem samotná izolace či extrakce DNA. Jelikož se jedná o biologický materiál, nachází se ve vzorcích také další organické látky, jako lipidy, sacharidy a proteiny. Zároveň před amplifikací a analýzou DNA je nutné zbavit se přítomných inhibitorů, které mohou negativně ovlivnit PCR a další kroky analýzy. Mezi inhibitory patří např. hemoglobin, močovina, fenol, proteázy a další. Jelikož se inhibitory vyskytují vlastně všude, je prakticky nemožné se jim vyhnout. Lze je nalézt ve vzorcích biologického původu (tělesné tekutiny, orgány), v půdě, vodě i potravinách (Schrader et al., 2012).

Před izolací se provádí lyze buněk k uvolnění jejich obsahu do roztoku. Tento proces většinou probíhá díky osmóze, při které buňky popraskají. Lyzi je možné podpořit zvýšením teploty či využitím různých typů lyzačních pufrů s přídavkem proteináz či jiných látek podporujících lyzi buněk. Příkladem může být proteinkináza K, která rozrušuje proteiny a dodecylsulfát sodný (Lever et al., 2015). Tyto pufrы dnes bývají dostupné v komerčních kitech pro extrakci DNA (Burrill, Rammenou, et al., 2021).

### **4.1. Přehled metod izolace DNA**

#### **4.1.1. Fenol – chloroformová extrakce**

Tato extrakce je dnes již méně využívaná, jelikož je časově náročná, využívané chemikálie jsou toxické a pokud fenol kontaminuje vzorek, působí jako PCR inhibitor. Principem je, že se směs fenolu a chloroformu přidá k buněčnému lyzátu ve vodném roztoku. Lyze je v tomto případě prováděna pufrém na bázi detergentu (SDS) s proteinkinázou K. Po centrifugaci dojde k rozdělení na dvě fáze; vodná fáze s rozpuštěnou DNA a organická fáze. Vodná fáze je následně přenesena do čisté zkumavky a DNA se vysráží přidáním ethanolu a solí. Posledním krokem je promytí v 70% ethanolu, čímž je získán pelet s čistou DNA (Köchler et al., 2005).

#### **4.1.2. Diferenciální extrakce**

Principem této metody je oddělit spermie od epiteliálních buněk. Využívá se především při extrakci DNA v rámci vyšetřování sexuálních napadení. Pomocí slabšího lyzačního pufru a centrifugace se rozruší epitelové buňky a supernatant s nimi je odebrán, čímž zůstanou intaktní spermie, které je možné následně lyzovat silnějším pufrém s dithiotreitem (DTT), který narušuje disulfidické vazby v membráně spermií a tím dojde k uvolnění DNA (Yoshida et al., 1995).

### 4.1.3. Chelexová metoda

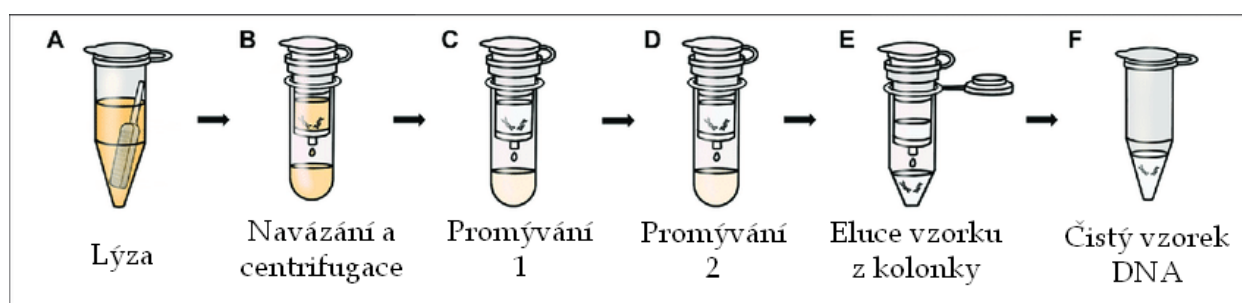
U této metody se využívají malé iontoměniče z pryskyřice, fungující jako chelatační činidlo. To je schopné vázat na sebe ionty kovů. Jak již bylo dříve zmíněno, endonukleázy jsou enzymy, které potřebují ke své aktivitě kovové ionty. Přidáním Chelexu-100 jsou hořčnaté ionty vychytávány z lyzátu a tím se zabrání štěpení DNA, která zůstane v roztoku (Walsh et al., 2013). Chelexová metoda je relativně cenově dostupná, nicméně se v extraktu mohou nacházet PCR inhibitory, proto bývá nahrazována jinými spolehlivějšími metodami (Ip et al., 2015).

### 4.1.4. Metoda navázání DNA na pevný nosič

Silikagel je záporně nabitý polymer, který se obvykle využívá ke tvorbě kolonek či kuliček pro tuto metodu extrakce. DNA také nese ve vodě záporný náboj díky fosfátovým skupinám v její struktuře a za přítomnosti chaotropních solí může mezi DNA a silikagelem vzniknout vazba. Zrušení této vazby se provádí výměnou roztoku a tím dojde k uvolnění DNA z pevné části (Ip et al., 2015).

Speciální magnetické kuličky potažené povrchem nesoucí záporně nabitou skupinu (např. silikát či karboxylový potah), jsou schopny navázat DNA z roztoku a následně s nimi lze manipulovat pomocí magnetu a tím je z roztoku vyjmout. Promytím se DNA z nich uvolní do elučního pufru (Ip et al., 2015; Mayjonade et al., 2016).

Kolonky s membránou ze silikagelu jsou používány ve spojení s centrifugací. DNA se během ní naváže na kolonku, provede se pročištění a poté pomocí elučního pufru dojde k uvolnění DNA (viz obr. 5) (Ip et al., 2015).



Obrázek 5: Schéma extrakce DNA pomocí silikátové kolonky QIAamp DNA mini kitu: (A) Lýza (B) Navázání DNA na kolonku a centrifugace roztoku skrz kolonku (C, D) Odstranění nečistot pomocí promývacích roztoků (E) Eluce DNA z kolonky (F) Extrahovaný roztok s DNA Převzato a přeloženo od Kim et al., 2022

#### **4.2. Testování nejlepších metod izolace DNA z dotykových stop**

Výběr vhodné metody izolace je pro získání maximálního množství DNA z dotykových stop důležitým krokem, jelikož tyto stopy často obsahují samy o sobě málo genetického materiálu, který je potřeba co nejvíce zachovat při procesu izolace.

Několik lyzačních metod pro korneocyty bylo testováno ve studii Burrill, Rammenou, et al., 2021. Bylo zjištěno, že 100 µl pufr pro lýzu vlasů složený z Tris-HCl, NaCl, 2% SDS, proteinkinázy K, DTT a EDTA spolu s prodlouženou dobou inkubace, výrazně dokáže zvýšit množství získané DNA. Jelikož právě korneocyty bývají ve velkém množství přítomné v dotykových stopách, je žádoucí použít lepší lyzační pufr. Autoři studie navrhují, že kvůli kornifikované obálce nemusí při lýze uvolnit dostačené množství DNA. V jejich výzkumu bylo prokázáno, že za vhodných lyzačních a purifikačních podmínek mohou působit jako bohatý zdroj DNA. Přidání DTT do lyzačních roztoků bylo doporučeno v další studii, ke zlepšení extrakce DNA z korneocytů (Burrill et al., 2022).

Metody izolace byly již dříve porovnávány. Krevní vzorky a dotykové stopy byly testovány ve studii od Ip et al., 2015 a autoři došli k několika doporučením. Krevní stopy, které často nesou více PCR inhibitorů (hemoglobin) by měly být izolovány pomocí silikátových membrán. Pro extrakci DNA z dotykových stop byly doporučeny silikátové membrány nebo magnetické kuličky a pro kontrolní vzorky z bukálních stěrů byla doporučena Chelexová metoda, kvůli své cenové dostupnosti (Ip et al., 2015).

## **5. Ukázky využití ve forenzní praxi**

Mnoho případů bylo vyřešeno díky DNA. Spousta nevinných lidí, kteří byli falešně odsouzeni, mohla být propuštěna na svobodu díky analýze dotykové DNA i několik let po uzavření případu. Zde nejsou ukázky případů, ve kterých nalezení a následná analýza zanechané DNA hrála roli buď při zatčení, nebo naopak osvobození nevinného člověka.

### **5.1. Případ 1 - Propuštění Davida Camma**

David Camm (Indiana, Spojené státy americké) byl v roce 2000 obžalován za vraždu své ženy a jejich dvou dětí. Všechny tři oběti byly zastřeleny. Když David našel svou rodinu, pokusil se, dle svých slov, poskytnout první pomoc svému synovi Bradovi a následně zavolal záchranou službu. Na základě analýzy trička, které měl David na sobě v den vražd, forenzní analytik uznal, že krevní stopy, nacházející se na oděvu, pochází z krevního rozstříku po střelbě. Krev navíc patřila Davidově dceři Jill. David tvrdil, že se přes Jill naklonil pro svého syna, když se mu snažil poskytnout první pomoc, jelikož si myslel, že je jeho syn stále na živu. V roce 2002 byl David Camm odsouzen k odnětí svobody na 195 let.

V roce 2004 odvolávací soud v Indianě nařídil nový soud. Před druhým soudem byl na žádost obhajoby nahrán profil do databáze FBI z mikiny nalezené na místě činu nahrán. Tato mikina byla nalezena a vzorky z ní zpracovány již při prvotním vyšetřování, ale neznámý profil, který se na ní nacházel, nebyl tehdy porovnán s FBI DNA databází. Profil byl přiřazen k muži jménem Charles Boney, který tvrdil, že mikina patřila jemu, ale daroval jí armádě spásy. Poté, co byl na autě oběti nalezen otisk Boneyho dlaně, poskytl svědectví, že v den vraždy prodal Cammovi zbraň a slyšel, když Camm svou rodinu zastřelil. O rok později byl Boney odsouzen za spiknutí za účelem spáchání vraždy a Camm byl odsouzen na doživotí.

David Camm byl propuštěn v roce 2013 poté, co holandský forenzní expert poskytl při třetím soudním jednání výpověď o nalezení DNA Cammovy manželky na nalezené mikině, což naznačuje, že oběť zápasila s Charlesem. To následně potvrdil i nález Charlesovy DNA za nehty manželky (Possley, 2013).

### **5.2. Případ 2 – Nalezení dotykové DNA vedlo k zatčení nevinného muže**

V roce 2012 byl v Americe za vraždu multimilionáře zadržen bezdomovec Lukis Anderson. Ten byl ale v době vraždy hospitalizovaný v nemocnici kvůli otravě alkoholem. Později bylo zjištěno, že jeho DNA byla přenesena na místo činu záchranáři, kteří přijeli poskytnout první pomoc zavražděnému. Andersona ten samý den ošetřovali a jeho kožní buňky tak ulpěly na jejich uniformách, odkud byly přeneseny do domu zavražděného (Smith, 2016).

### **5.3. Případ 3 – Zmizení a vražda Anny Janatkové**

Asi jeden z nejznámějších případů zmizení a vraždy dítěte v České republice. Dne 13. října 2010 byla devítiletá Anna Janatková ohlášená jako pohřešovaná svými rodiči, když se po škole nevrátila domů. O den později byl v lese v pražské Troji nalezen její batoh a další osobní věci přikryté černým igelitem. Na batohu byl nalezen smíšený profil, který obsahoval DNA Anny a muže, který byl později identifikován jako Otakar Tomek. Jeho kompletní profil byl poté izolován i z otisku prstu na černém igelitu. Po nález těla v roce 2011 byl obviněn z vraždy a znásilnění (Sendreiová, 2022).

## 6. Závěr

Tato práce měla za cíl především charakterizovat možné zdroje DNA v dotykových stopách a zevrubně shrnout možné faktory, které mohou ovlivnit její izolaci. Při studii těchto témat bylo nalezeno několik otázek, které si žádají další výzkum. Především by bylo dobré sjednotit terminologii pro dotykové stopy a lépe definovat, co pod jejich označení spadá, jelikož odborná literatura se často v těchto informacích neshoduje.

Problematika odběru dotykových stop je celkem kvalitně prozkoumaná a jak bylo zmíněno v této práci, existuje mnoho protokolů a doporučení. Také je známo velké množství faktorů, které ovlivňují množství zanechané DNA a jak může dojít k jejímu přenosu.

Pro izolaci DNA z dotykových stop existuje spousta kitů a protokolů, které především pro korneocyty potřebují ještě další výzkum. Nicméně s lepšími lyzačními metodami se korneocyty zdají být lepším zdrojem DNA z dotykových stop, než se původně myslelo (Burrill et al., 2022).

V poslední kapitole této práce byly představeny tři reálné případy, ve kterých dotyková DNA hrála roli ať už při zatčení, či zproštění viny. S tím bych také ráda odkázala na citát ze studie od Sessa et al., 2019, který připomíná, že dotyková DNA má možnost poskytnout důležité informace při vyšetřování, ale není správné spoléhat pouze na ni;

Na závěr tato studie zdůrazňuje důležitý aspekt – všichni v lékařsko-právní komunitě – forenzní vědci, a technici, analytici DNA, potenciální porotci, soudci a právníci na stranách žalobce i obhajoby – musí znát moc dotykové DNA a rozumět jejím potenciálním limitacím (Sessa et al., 2019).

## 7. Seznam použité literatury

- Alessandrini, F., Cecati, M., Pesaresi, M., Turchi, C., Carle, F., & Tagliabracci, A. (2003). Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing. *Journal of Forensic Sciences*, 48(3), 2002260. <https://doi.org/10.1520/JFS2002260>
- Alketbi, S. K., & Goodwin, W. (2019). The effect of surface type, collection and extraction methods on touch DNA. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 7(1), 704–706. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2019.10.145>
- Allen, R., Pogemiller, J., Joslin, J., Gulick, M., & Pritchard, J. (2008). Identification through typing of DNA recovered from touch transfer evidence: Parameters affecting yield of recovered human DNA. *Journal of Forensic Identification*, 58, 33–41.
- Aloraer, D., Hassan, N. H., Albarzinji, B., & Goodwin, W. (2017). Improving recovery and stability of touch DNA. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6, e390–e392. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.166>
- Baker, K. P., Baron, W. F., Henzel, W. J., & Spencer, S. A. (1998). Molecular cloning and characterization of human and murine DNase II. In *Gene* (Roč. 215).
- Balogh, M. K., Burger, J., Bender, K., Schneider, P. M., & Alt, K. W. (2003). Fingerprints from fingerprints. *International Congress Series*, 1239, 953–957. [https://doi.org/10.1016/S0531-5131\(02\)00230-3](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(02)00230-3)
- Barash, M., Reshef, A., & Brauner, P. (2010). The Use of Adhesive Tape for Recovery of DNA from Crime Scene Items. *Journal of Forensic Sciences*, 55(4), 1058–1064. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01416.x>
- Bennett, C. W., Berchem, G., Kim, Y. J., & El-Khoury, V. (2016). Cell-free DNA and next-generation sequencing in the service of personalized medicine for lung cancer. *Oncotarget*, 7(43), 71013–71035. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11717>
- Benschop, C. C. G., Wiebosch, D. C., Kloosterman, A. D., & Sijen, T. (2010). Post-coital vaginal sampling with nylon flocked swabs improves DNA typing. *Forensic Science International: Genetics*, 4(2), 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.07.003>
- Bhoelai, B., Beemster, F., & Sijen, T. (2013). Revision of the tape used in a tape-lift protocol for DNA recovery. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 4(1), e270–e271. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2013.10.138>
- Breathnach, M., Williams, L., McKenna, L., & Moore, E. (2016). Probability of detection of DNA deposited by habitual wearer and/or the second individual who touched the garment. *Forensic science international. Genetics*, 20, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.10.001>
- Breitbach, S., Tug, S., & Simon, P. (2012). Circulating Cell-Free DNA. *Sports Medicine*, 42(7), 565–586. <https://doi.org/10.2165/11631380-000000000-00000>

- Bright, J.-A., & Petricevic, S. F. (2004). Recovery of trace DNA and its application to DNA profiling of shoe insoles. *Forensic Science International*, 145(1), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.03.016>
- Bronkhorst, A. J., Wentzel, J. F., Aucamp, J., van Dyk, E., du Plessis, L., & Pretorius, P. J. (2016). Characterization of the cell-free DNA released by cultured cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(1), 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.10.022>
- Burrill, J., Daniel, B., & Frascione, N. (2019). A review of trace “Touch DNA” deposits: Variability factors and an exploration of cellular composition. In *Forensic Science International: Genetics* (Roč. 39, s. 8–18). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.11.019>
- Burrill, J., Daniel, B., & Frascione, N. (2022). Technical Note: Lysis and purification methods for increased recovery of degraded DNA from touch deposit swabs. *Forensic Science International*, 330. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111102>
- Burrill, J., Hotta, R., Daniel, B., & Frascione, N. (2021). Accumulation of endogenous and exogenous nucleic acids in “Touch DNA” components on hands. *Electrophoresis*, 42(16), 1594–1604. <https://doi.org/10.1002/elps.202000371>
- Burrill, J., Rammenou, E., Alawar, F., Daniel, B., & Frascione, N. (2021). Corneocyte lysis and fragmented DNA considerations for the cellular component of forensic touch DNA. *Forensic Science International: Genetics*, 51, 102428. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102428>
- Cale, C. M., Earll, M. E., Latham, K. E., & Bush, G. L. (2016). Could Secondary DNA Transfer Falsely Place Someone at the Scene of a Crime? *Journal of Forensic Sciences*, 61(1), 196–203. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12894>
- Carney, C., Whitney, S., Vaidyanathan, J., Persick, R., Noel, F., Vallone, P. M., Romsos, E. L., Tan, E., Grover, R., Turingan, R. S., French, J. L., & Selden, R. F. (2019). Developmental validation of the ANDE™ rapid DNA system with FlexPlex™ assay for arrestee and reference buccal swab processing and database searching. *Forensic Science International: Genetics*, 40, 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.02.016>
- Daly, D. J., Murphy, C., & McDermott, S. D. (2012). The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. *Forensic Science International: Genetics*, 6(1), 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.12.016>
- Dawes, C. (2003). Estimates, from salivary analyses, of the turnover time of the oral mucosal epithelium in humans and the number of bacteria in an edentulous mouth. *Archives of Oral Biology*, 48(5), 329–336. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(03\)00014-1](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(03)00014-1)
- Devonshire, A. S., Whale, A. S., Gutteridge, A., Jones, G., Cowen, S., Foy, C. A., & Huggett, J. F. (2014). Towards standardisation of cell-free DNA measurement in plasma: controls for extraction efficiency, fragment size bias and quantification. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(26), 6499–6512. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7835-3>



- Ehrhardt, C. J., Stanciu, C. E., Philpott, M. K., Kwon, Y. J., & Bustamante, E. E. (2015). Optical characterization of epidermal cells and their relationship to DNA recovery from touch samples. *F1000Research*, 4. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7385.1>
- Farmen, R. K., Jaghø, R., Cortez, P., & Frøyland, E. S. (2008). Assessment of individual shedder status and implication for secondary DNA transfer. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 1(1), 415–417. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2007.08.015>
- Fischer, H., Eckhart, L., Mildner, M., Jaeger, K., Buchberger, M., Ghannadan, M., & Tschachler, E. (2007). DNase1L2 degrades nuclear DNA during corneocyte formation. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(1), 24–30. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700503>
- Fischer, H., Szabo, S., Scherz, J., Jaeger, K., Rossiter, H., Buchberger, M., Ghannadan, M., Hermann, M., Theussl, H. C., Tobin, D. J., Wagner, E. F., Tschachler, E., & Eckhart, L. (2011). Essential role of the keratinocyte-specific endonuclease DNase1L2 in the removal of nuclear DNA from hair and nails. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(6), 1208–1215. <https://doi.org/10.1038/jid.2011.13>
- Fonneløp, A. E., Johannessen, H., & Gill, P. (2015). Persistence and secondary transfer of DNA from previous users of equipment. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 5, e191–e192. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2015.09.077>
- Fonneløp, A. E., Ramse, M., Egeland, T., & Gill, P. (2017). The implications of shedder status and background DNA on direct and secondary transfer in an attack scenario. *Forensic Science International: Genetics*, 29, 48–60. <https://doi.org/10.1016/j.fsign.2017.03.019>
- French, C. E. V., Jensen, C. G., Vintiner, S. K., Elliot, D. A., & McGlashan, S. R. (2008). A novel histological technique for distinguishing between epithelial cells in forensic casework. *Forensic Science International*, 178(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.01.010>
- Gavrieli, Y., Sherman, Y., & Ben-Sasson, S. A. (1992). Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *Journal of Cell Biology*, 119(3), 493–501. <https://doi.org/10.1083/jcb.119.3.493>
- Goray, M., Fowler, S., Szkuta, B., & van Oorschot, R. A. H. (2016). Shedder status—An analysis of self and non-self DNA in multiple handprints deposited by the same individuals over time. *Forensic Science International: Genetics*, 23, 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.fsign.2016.05.005>
- Goray, M., Mitchell, J. R., & van Oorschot, R. A. H. (2012). Evaluation of multiple transfer of DNA using mock case scenarios. *Legal Medicine*, 14(1), 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.09.006>
- Goray, M., Mitchell, R. J., & Oorschot, R. A. H. van. (2010). Investigation of secondary DNA transfer of skin cells under controlled test conditions. *Legal Medicine*, 12(3), 117–120. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2010.01.003>

- Goray, M., & van Oorschot, R. A. H. (2015). The complexities of DNA transfer during a social setting. *Legal Medicine*, *17*(2), 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2014.10.003>
- Hall, D., & Fairley, M. (2004). A single approach to the recovery of DNA and firearm discharge residue evidence. *Science & Justice*, *44*(1), 15–19. [https://doi.org/10.1016/S1355-0306\(04\)71680-9](https://doi.org/10.1016/S1355-0306(04)71680-9)
- Hanson, E., Haas, C., Jucker, R., & Ballantyne, J. (2012). Specific and sensitive mRNA biomarkers for the identification of skin in ‘touch DNA’ evidence. *Forensic Science International: Genetics*, *6*(5), 548–558. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.01.004>
- Hedman, J., Akel, Y., Jansson, L., Hedell, R., Wallmark, N., Forsberg, C., & Ansell, R. (2021). Enhanced forensic DNA recovery with appropriate swabs and optimized swabbing technique. *Forensic Science International: Genetics*, *53*, 102491. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102491>
- Hedman, J., Jansson, L., Akel, Y., Wallmark, N., Gutierrez Liljestrand, R., Forsberg, C., & Ansell, R. (2020). The double-swab technique versus single swabs for human DNA recovery from various surfaces. *Forensic Science International: Genetics*, *46*, 102253. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102253>
- Hellerud, B., Johannessen, H., Haltbakk, H., & Hoff-Olsen, P. (2008). Zip lock poly bags in drug cases—A valuable source for obtaining identifiable DNA results? *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, *1*(1), 433–434. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2007.10.013>
- Hochmeister, M. N., Dirnhofer, R., Borer, U. V., Budowle, B., Jung, J., & Comey, C. T. (1991). PCR-based typing of DNA extracted from cigarette butts. *International Journal of Legal Medicine*, *104*(4), 229–233. <https://doi.org/10.1007/BF01369812>
- Chapman, S. J., & Walsh, A. (1990). Desmosomes, corneosomes and desquamation. An ultrastructural study of adult pig epidermis. In *Arch Dermatol Res* (Roč. 282). Springer-Verlag.
- Chou, J. S., Jacobson, J. D., Patton, W. C., King, A., & Chan, P. J. (2004). Modified Isocratic Capillary Electrophoresis Detection of Cell-free DNA in Semen. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *21*(11), 397–400. <https://doi.org/10.1007/s10815-004-7527-6>
- Chu, D. H. (2012). Chapter 7. Development and Structure of Skin. In L. A. Goldsmith, S. I. Katz, B. A. Gilchrist, A. S. Paller, D. J. Leffell, & K. Wolff (Ed.), *Fitzpatrick’s Dermatology in General Medicine*, 8e. The McGraw-Hill Companies. [accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=56021404](https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=56021404)
- Ip, S. C. Y., Lin, S., & Lai, K. (2015). An evaluation of the performance of five extraction methods: Chelex® 100, QIAamp® DNA Blood Mini Kit, QIAamp® DNA Investigator Kit, QIASymphony® DNA Investigator® Kit and DNA IQ™. *Science & Justice*, *55*(3), 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.01.005>

- Jansson, L., Forsberg, C., Akel, Y., Dufva, C., Ansell, C., Ansell, R., & Hedman, J. (2020). Factors affecting DNA recovery from cartridge cases. *Forensic Science International: Genetics*, *48*, 102343. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102343>
- Jansson, L., Swensson, M., Gifvars, E., Hedell, R., Forsberg, C., Ansell, R., & Hedman, J. (2022). Individual shedder status and the origin of touch DNA. *Forensic Science International: Genetics*, *56*, 102626. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102626>
- Kamphausen, T., Schadendorf, D., von Wurmb-Schwark, N., Bajanowski, T., & Poetsch, M. (2012). Good shedder or bad shedder—the influence of skin diseases on forensic DNA analysis from epithelial abrasions. *International Journal of Legal Medicine*, *126*(1), 179–183. <https://doi.org/10.1007/s00414-011-0579-0>
- Kanokwongnuwut, P., Kirkbride, K. P., & Linacre, A. (2018). Detection of latent DNA. *Forensic Science International: Genetics*, *37*, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.08.004>
- Kanokwongnuwut, P., Martin, B., Kirkbride, K. P., & Linacre, A. (2018). Shedding light on shedders. *Forensic Science International: Genetics*, *36*, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.06.004>
- Kanokwongnuwut, P., Martin, B., Taylor, D., Kirkbride, K. P., & Linacre, A. (2021). How many cells are required for successful DNA profiling? *Forensic Science International: Genetics*, *51*. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102453>
- Keyel, P. A. (2017). Dnases in health and disease. In *Developmental Biology* (Roč. 429, Číslo 1, s. 1–11). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.06.028>
- Kim, Y.-S., Kim, J., Na, W., Sung, G.-H., Baek, S.-K., Kim, Y., Kim, G., Hu, H.-J., & Park, J.-H. (2022). Development of a Microneedle Swab for Acquisition of Genomic DNA From Buccal Cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.829648>
- Kirgiz, I. A., & Calloway, C. (2017). Increased recovery of touch DNA evidence using FTA paper compared to conventional collection methods. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, *47*, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.01.007>
- Kitayama, T., Fukagawa, T., Watahiki, H., Mita, Y., Fujii, K., Unuma, K., Sakurada, K., Uemura, K., Sekiguchi, K., & Mizuno, N. (2020). Evaluation of Rapid DNA system for buccal swab and disaster victim identification samples. *Legal Medicine*, *46*, 101713. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2020.101713>
- Köchl, S., Niederstätter, H., & Parson, W. (2005). DNA Extraction and Quantitation of Forensic Samples Using the Phenol–Chloroform Method and Real-Time PCR. In *Forensic DNA Typing Protocols* (s. 013–030). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/1-59259-867-6:013>
- Ladd, C., Adamowicz, M. S., Bourke, M. T., Scherzinger, C. A., & Lee, H. C. (1999). A systematic analysis of secondary DNA transfer. *Journal of forensic sciences*, *44*(6), 1270–1272.

- Lever, M. A., Torti, A., Eickenbusch, P., Michaud, A. B., Å antl-Temkiv, T., & JÄ ,rgensen, B. B. (2015). A modular method for the extraction of DNA and RNA, and the separation of DNA pools from diverse environmental sample types. *Frontiers in Microbiology*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00476>
- Lo, Y. M. D., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., Rai, V., Sargent, I. L., Redman, C. W., & Wainscoat, J. S. (1997). Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *The Lancet*, *350*(9076), 485–487. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)02174-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)02174-0)
- Locard, E. (1930). The Analysis of Dust Traces. Part I. *The American Journal of Police Science*, *1*(3), 276. <https://doi.org/10.2307/1147154>
- Lowe, A., Murray, C., Whitaker, J., Tully, G., & Gill, P. (2002). The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. *Forensic Science International*, *129*(1), 25–34. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(02\)00207-4](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00207-4)
- Manoli, P., Antoniou, A., Bashiardes, E., Xenophontos, S., Photiades, M., Stribley, V., Mylona, M., Demetriou, C., & Cariolou, M. A. (2016). Sex-specific age association with primary DNA transfer. *International Journal of Legal Medicine*, *130*(1), 103–112. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1291-2>
- Martin, N. C., Pirie, A. A., Ford, L. V., Callaghan, C. L., McTurk, K., Lucy, D., & Scrimger, D. G. (2006). The use of phosphate buffered saline for the recovery of cells and spermatozoa from swabs. *Science & Justice*, *46*(3), 179–184. [https://doi.org/10.1016/S1355-0306\(06\)71591-X](https://doi.org/10.1016/S1355-0306(06)71591-X)
- Mayjonade, B., Gouzy, J., Donnadiou, C., Pouilly, N., Marande, W., Callot, C., Langlade, N., & Muñoz, S. (2016). Extraction of high-molecular-weight genomic DNA for long-read sequencing of single molecules. *BioTechniques*, *61*(4), 203–205. <https://doi.org/10.2144/000114460>
- McCall, C. A., & Cohen, J. J. (1991). Programmed Cell Death in Terminally Differentiating Keratinocytes: Role of Endogenous Endonuclease. *Journal of Investigative Dermatology*, *97*(1), 111–114. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12478519>
- Mori, G., Delfino, D., Pibiri, P., Rivetti, C., & Percudani, R. (2022). Origin and significance of the human DNase repertoire. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14133-w>
- Muizzuddin, N., Hellemans, L., Van Overloop, L., Corstjens, H., Declercq, L., & Maes, D. (2010). Structural and functional differences in barrier properties of African American, Caucasian and East Asian skin. *Journal of Dermatological Science*, *59*(2), 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2010.06.003>
- Ng, D. P. K., Koh, D., Choo, S., & Chia, K.-S. (2006). Saliva as a viable alternative source of human genomic DNA in genetic epidemiology. *Clinica Chimica Acta*, *367*(1–2), 81–85. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.11.024>
- Ohman, H., & Vahlquist, A. (1994). In vivo studies concerning a pH gradient in human stratum corneum and upper epidermis. *Acta Dermato-Venereologica*, *74*(5), 375–379. <https://doi.org/10.2340/0001555574375379>

- Olewi, A. A., Morris, M. R., Schmerer, W. M., & Sutton, R. (2015). The relative DNA-shedding propensity of the palm and finger surfaces. *Science & Justice*, *55*(5), 329–334. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.04.003>
- Oliveira, T. P., Nogueira, T. L. S., Valentin, E. S. B., Santos, O. C. L., Carvalho, E. F., & Silva, D. A. (2015). Evaluation of collection and extraction methodologies of latent fingerprints for military application. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, *5*, e474–e475. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2015.09.188>
- Pang, B. C. M., & Cheung, B. K. K. (2007). Double swab technique for collecting touched evidence. *Legal Medicine*, *9*(4), 181–184. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2006.12.003>
- Petricevic, S. F., Bright, J.-A., & Cockerton, S. L. (2006). DNA profiling of trace DNA recovered from bedding. *Forensic Science International*, *159*(1), 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.06.004>
- Phetpeng, S., Kitpipit, T., & Thanakiatkrai, P. (2015). Systematic study for DNA recovery and profiling from common IED substrates: From laboratory to casework. *Forensic Science International: Genetics*, *17*, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.007>
- Phipps, M., & Petricevic, S. (2007). The tendency of individuals to transfer DNA to handled items. *Forensic Science International*, *168*(2–3), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.07.010>
- Poetsch, M., Bajanowski, T., & Kamphausen, T. (2013). Influence of an individual's age on the amount and interpretability of DNA left on touched items. *International Journal of Legal Medicine*, *127*(6), 1093–1096. <https://doi.org/10.1007/s00414-013-0916-6>
- Polley, D., Mickiewicz, P., Vaughn, M., Miller, T., Warburton, R., Komonski, D., Kantautas, C., Reid, B., Frappier, R., & Newman, J. (2006). An Investigation of DNA Recovery from Firearms and Cartridge Cases. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, *39*(4), 217–228. <https://doi.org/10.1080/00085030.2006.10757145>
- Possley, M. (2013). *David Camm*. <https://www.law.umich.edu/special/exoneration/Pages/casedetail.aspx?caseid=4291>
- Quinones, I., & Daniel, B. (2012). Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces. *Forensic Science International: Genetics*, *6*(1), 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.01.004>
- Quinque, D., Kittler, R., Kayser, M., Stoneking, M., & Nasidze, I. (2006). Evaluation of saliva as a source of human DNA for population and association studies. *Analytical Biochemistry*, *353*(2), 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.03.021>
- Sendreiová, S. (2022). *Genetika v kriminalistice [AMBIS VŠ]*. [https://is.ambis.cz/th/b1u4z/27474\\_Sendreiova\\_DP.pdf](https://is.ambis.cz/th/b1u4z/27474_Sendreiova_DP.pdf)
- Sessa, F., Salerno, M., Bertozzi, G., Messina, G., Ricci, P., Ledda, C., Rapisarda, V., Cantatore, S., Turillazzi, E., & Pomara, C. (2019). Touch DNA: Impact of handling time on touch deposit and evaluation of different recovery techniques: An experimental study. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46051-9>

- Shiokawa, D., Matsushita, T., Kobayashi, T., Matsumoto, Y., & Tanuma, S. (2004). Characterization of the human DNAS1L2 gene and the molecular mechanism for its transcriptional activation induced by inflammatory cytokines. *Genomics*, *84*(1), 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2004.02.003>
- Shiokawa, D., & Tanuma, S. (2001). Characterization of human DNase I family endonucleases and activation of DNase  $\gamma$  during apoptosis. *Biochemistry*, *40*(1), 143–152. <https://doi.org/10.1021/bi001041a>
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, *113*(5), 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
- Schulte, J., Rittiner, N., Seiberle, I., Kron, S., & Schulz, I. (2023). Collecting touch DNA from glass surfaces using different sampling solutions and volumes: Immediate and storage effects on genetic STR analysis. *Journal of Forensic Sciences*, *68*(4), 1133–1147. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.15305>
- Schwender, M., Bamberg, M., Dierig, L., Kunz, S. N., & Wiegand, P. (2021). The diversity of shedder tests and a novel factor that affects DNA transfer. *International Journal of Legal Medicine*, *135*(4), 1267–1280. <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02533-y>
- Smith, P. A. (2016). When DNA Implicates the Innocent. *Scientific American*, *314*(6), 11–12. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0616-11>
- Stokowski, R., Wang, E., White, K., Batey, A., Jacobsson, Bo., Brar, H., Balanarasimha, M., Hollemon, D., Sparks, A., Nicolaidis, K., & Musci, T. J. (2015). Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies. *Prenatal Diagnosis*, *35*(12), 1243–1246. <https://doi.org/10.1002/pd.4686>
- Taki, T., & Kibayashi, K. (2015). Characterization of cellular and extracellular DNA in saliva. *Legal Medicine*, *17*(6), 471–474. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2015.10.003>
- Takić-Miladinov, D., Šorgić, D., Čipev, A., Cvetković, N., & Stefanović, A. (2022). The influence of hand dominance, hand washing and sampling technique on quantity of DNA recovered from handled plastic tubes. *Glasnik Antropoloskog društva Srbije*, *55*, 11–18. <https://doi.org/10.5937/gads55-24069>
- Tan, J., Lee, J. Y., Lee, L. Y. C., Aw, Z. Q., Chew, M. H., Ishak, N. I. B., Lee, Y. S., Mugni, M. A., & Syn, C. K. C. (2019). Shedder status: Does it really exist? *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, *7*(1), 360–362. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2019.10.012>
- Templeton, J. E. L., & Linacre, A. (2014). DNA profiles from fingermarks. *BioTechniques*, *57*(5), 259–266. <https://doi.org/10.2144/000114227>
- Thomasma, S. M., & Foran, D. R. (2013). The Influence of Swabbing Solutions on DNA Recovery from Touch Samples. *Journal of Forensic Sciences*, *58*(2), 465–469. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12036>

- Tobias, S. H. A., Jacques, G. S., Morgan, R. M., & Meakin, G. E. (2017). The effect of pressure on DNA deposition by touch. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6, e12–e14. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2017.09.020>
- Uhoda, E., Piérard-Franchimont, C., Petit, L., & Piérard, G. (2003). Skin weathering and ashiness in black Africans. *European journal of dermatology : EJD*, 13(6), 574–578.
- van Oorschot, R. A. H., & Jones, M. K. (1997). DNA fingerprints from fingerprints. *Nature*, 387(6635), 767–767. <https://doi.org/10.1038/42838>
- Vandewoestyne, M., Van Hoofstat, D., Franssen, A., Van Nieuwerburgh, F., & Deforce, D. (2013). Presence and potential of cell free DNA in different types of forensic samples. *Forensic Science International: Genetics*, 7(2), 316–320. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.12.005>
- Verdon, T. J., Mitchell, R. J., & van Oorschot, R. A. H. (2014a). Evaluation of tapelifting as a collection method for touch DNA. *Forensic Science International: Genetics*, 8(1), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.09.005>
- Verdon, T. J., Mitchell, R. J., & van Oorschot, R. A. H. (2014b). Swabs as DNA Collection Devices for Sampling Different Biological Materials from Different Substrates. *Journal of Forensic Sciences*, 59(4), 1080–1089. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12427>
- Verzè, M., Minari, R., Gnetti, L., Bordi, P., Leonetti, A., Cosenza, A., Ferri, L., Majori, M., De Filippo, M., Buti, S., Gasparro, D., Nizzoli, R., Azzoni, C., Bottarelli, L., Squadrilli, A., Mozzoni, P., & Tiseo, M. (2021). Monitoring cfDNA in Plasma and in Other Liquid Biopsies of Advanced EGFR Mutated NSCLC Patients: A Pilot Study and a Review of the Literature. *Cancers*, 13(21), 5403. <https://doi.org/10.3390/cancers13215403>
- Visser, M., Zubakov, D., Ballantyne, K. N., & Kayser, M. (2011). mRNA-based skin identification for forensic applications. *International Journal of Legal Medicine*, 125(2), 253–263. <https://doi.org/10.1007/s00414-010-0545-2>
- Volckmar, A., Sülmann, H., Riediger, A., Fioretos, T., Schirmacher, P., Endris, V., Stenzinger, A., & Dietz, S. (2018). A field guide for cancer diagnostics using cell-free DNA: From principles to practice and clinical applications. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 57(3), 123–139. <https://doi.org/10.1002/gcc.22517>
- Walsh, P. S., Metzger, D. A., & Higuchi, R. (2013). Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. *BioTechniques*, 54(3), 134–139. <https://doi.org/10.2144/000114018>
- Wang, C., Stanciu, C. E., Ehrhardt, C. J., & Yadavalli, V. K. (2017). Nanoscale characterization of forensically relevant epithelial cells and surface associated extracellular DNA. *Forensic Science International*, 277, 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.06.019>
- Warshauer, D. H., Marshall, P., Kelley, S., King, J., & Budowle, B. (2012). An evaluation of the transfer of saliva-derived DNA. *International Journal of Legal Medicine*, 126(6), 851–861. <https://doi.org/10.1007/s00414-012-0743-1>

- Watt, F. M. (1989). Terminal differentiation of epidermal keratinocytes. *Current Opinion in Cell Biology*, 1(6), 1107–1115. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(89\)80058-4](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(89)80058-4)
- Webb, L., Egan, S., & Turbett, G. (2001). Recovery of DNA for Forensic Analysis from Lip Cosmetics. *Journal of Forensic Sciences*, 46(6), 1474–1479. <https://doi.org/10.1520/JFS15174J>
- Wickenheiser, R. (2002). Trace DNA: A Review, Discussion of Theory, and Application of the Transfer of Trace Quantities of DNA Through Skin Contact. *Journal of Forensic Sciences*, 47(3), 442–450. <https://doi.org/10.1520/JFS15284J>
- Wiegand, P., & Kleiber, M. (1997). DNA typing of epithelial cells after strangulation. *International journal of legal medicine*, 110, 181–183. <https://doi.org/10.1007/s004140050063>
- Wiznia, L. E., & Elbuluk, N. (2017). Differences in Skin Structure and Function in Ethnic Populations. In *Dermatoanthropology of Ethnic Skin and Hair* (s. 35–48). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-53961-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-53961-4_4)
- Xu, Y., Xie, J., Cao, Y., Zhou, H., Ping, Y., Chen, L., Gu, L., Hu, W., Bi, G., Ge, J., Chen, X., & Zhao, Z. (2014). Development of Highly Sensitive and Specific mRNA Multiplex System (XCYR1) for Forensic Human Body Fluids and Tissues Identification. *PLoS ONE*, 9(7), e100123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100123>
- Yoshida, K., Sekiguchi, K., Mizuno, N., Kasai, K., Sakai, I., Sato, H., & Seta, S. (1995). The modified method of two-step differential extraction of sperm and vaginal epithelial cell DNA from vaginal fluid mixed with semen. *Forensic Science International*, 72(1), 25–33. [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(94\)01668-U](https://doi.org/10.1016/0379-0738(94)01668-U)
- You, H. S., Lee, S. H., Ok, Y. J., Kang, H.-G., Sung, H. J., Lee, J. Y., Kang, S. S., & Hyun, S. H. (2019). Influence of swabbing solution and swab type on DNA recovery from rigid environmental surfaces. *Journal of Microbiological Methods*, 161, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.04.011>
- Zoppis, S., Muciaccia, B., D'Alessio, A., Ziparo, E., Vecchiotti, C., & Filippini, A. (2014). DNA fingerprinting secondary transfer from different skin areas: Morphological and genetic studies. *Forensic Science International: Genetics*, 11, 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.03.005>