

Určení tělních tekutin založené na analýze nukleových kyselin

Marie Korabečná^{1,2}

¹ Ústav biologie a lékařské genetiky 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha

² Lékařská fakulta UK v Plzni, Plzeň

SOUHRN

Přístupy molekulární genetiky dovolují izolovat nukleové kyseliny ze vzorků (DNA i RNA současně) a analýzu těchto molekul využít nejen pro individuální identifikaci původců stop, ale také pro stanovení původu tělní tekutiny, která sama či ve směsi tvoří příslušnou biologickou stopu. Takto získané údaje mohou výrazně přispět ke zvýšení procesní hodnoty stopy. Molekulárně genetické metody zde diskutované nabízejí v porovnání s široce využívaným spektrem chemických a imunologických testů nové možnosti – je možné jimi analyzovat všechny typy biologických tekutin a jejich směsí, mají konfirmační charakter.

Klíčová slova: tělní tekutiny – mRNA – mikroRNA – qPCR – metylace promotorů – mikrobiální DNA

Determination of body fluid based on analysis of nucleic acids

SUMMARY

Recent methodological approaches of molecular genetics allow isolation of nucleic acids (DNA and RNA) from negligible forensic samples. Analysis of these molecules may be used not only for individual identification based on DNA profiling but also for the detection of origin of the body fluid which (alone or in mixture with other body fluids) forms the examined biological trace. Such an examination can contribute to the evaluation of procedural, technical and tactical value of the trace. Molecular genetic approaches discussed in the review offer new possibilities in comparison with traditional spectrum of chemical, immunological and spectroscopic tests especially with regard to the interpretation of mixtures of biological fluids and to the confirmatory character of the tests. Approaches based on reverse transcription of tissue specific mRNA and their subsequent polymerase chain reaction (PCR) and fragmentation analysis are applicable on samples containing minimal amounts of biological material. Methods for body fluid discrimination based on examination of microRNA in samples provided so far confusing results therefore further development in this field is needed. The examination of tissue specific methylation of nucleotides in selected gene sequences seems to represent a promising enrichment of the methodological spectrum. The detection of DNA sequences of tissue related bacteria has been established and it provides satisfactory results mainly in combination with above mentioned methodological approaches.

Keywords: body fluids – mRNA – microRNA – qPCR – promoter methylation – microbial DNA

Soud Lek 2015; 60(3): 33-36

Aplikace molekulárně genetických metod při vyšetřování trestných činů je dnes samozřejmostí, zejména co se týče individuální identifikace původců jednotlivých biologických stop. Nezanedbatelnou hodnotu pro proces vyšetřování má však i správné stanovení typu biologické tekutiny obsažené ve stopě. Nejčastěji se jedná o krev periferní či menstruační, sperma, sliny, vaginální sekret, moč a pot. Vývoj různorodých technik založených na testech chemických, imunologických či mikroskopických nebo na spektroskopických metodách trvá již více než jedno století. Celé obrovské spektrum známých testů (sahajících od využití alternativních světelných zdrojů, čistě chemických i enzymy katalyzovaných reakcí přes užití protilátek, spektroskopické detekce metabolitů pomocí nukleární metabolické resonance až k Ramanově spektroskopii) lze zhruba rozdělit na testy orientační a konfirmační. S výjimkou Ramanovy spektroskopie (1) a metod využívajících nukleární magnetické resonance k detekci metabolitů (2) však testy nejsou univerzálně využitelné

pro určení všech v úvahu připadajících tělních tekutin, detekce každé z tekutin vyžaduje vlastní metodické řešení. Ramanova spektroskopie (1) i metody založené na nukleární magnetické rezonanci (2) pracují při interpretaci spekter získaných ze vzorků tělních tekutin s vysoce specifickým matematickým aparátem vyžadujícím zkušeného analytika, zatím chybí studie dokumentující rozsáhlejší nasazení těchto metod v kriminalistické praxi. Metodiky založené na imunofluorescenčních biosenzorech – nanopartikulích konjugovaných s protilátkami (3,4) – stejně jako spektroskopické metody sice nepoškozuji DNA obsaženou ve vzorku, ale zatím umožňují identifikovat jen jednu (3) nebo dvě (4) tělní tekutiny. Problematika různých metodických přístupů k určování tělních tekutin je souhrnně zpracována například v článcích Virklera a Ledneva (5) nebo An a spoluautorů (6). Nezanedbatelnou výhodou každého potencionálně využitelného testu pak představuje možnost jeho použití přímo v terénu při vyšetřování místa činu, přičemž je třeba pečlivě volit metodu tak, aby ve stopě vzhledem k typu použitých reagentů či světelného zdroje nedošlo k poškození DNA nutné pro individuální identifikaci (5). V poslední dekádě byly vyvinuty testy založené na analýze mRNA, mikroRNA, metylaci DNA a vyšetření přítomnosti DNA tkáňově specifických mikroorganismů, které představují významné obohacení možností forenzní práce. Vzhledem ke svému charakteru spadají tyto testy do kategorie testů konfirmačních, zatím nevhodných pro terénní využití. Jejich hlavní výhoda spočívá v obecné využitelnosti napříč spektrem tělních

✉ Adresa pro korespondenci:

Doc. RNDr. Marie Korabečná, Ph.D.

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN

Albertov 4, 128 00 Praha 2

e-mail: marie.korabecna@lf1.cuni.cz

tel.: +420 603 177 178

tekutin, v možnosti detekovat jejich směsi a ve využití stávajícího metodologického potenciálu forenzních molekulárně genetických laboratoří směrem ke konfirmaci dat získaných jinými technikami. Principy a aplikační možnosti těchto nově vyvíjených testů jsou diskutovány v následujícím textu.

PŘEHLED METOD A JEJICH MOŽNOSTÍ

Profilování mRNA

Hlavním problémem analytického využití RNA je její obecně známá nestabilita způsobená aktivitou všudypřítomných ribonukleáz. Průlom ve forenzním využívání tkáňově specifických transkriptů, jejichž translaci vznikají proteiny typické pro danou tělní tekutinu či tkáň, byl umožněn prací Zubakova et al. (7). Tato skupina prokázala, že i v dlouhodobě skladovaných (180 dnů) vzorcích krve a slin je možné prokázat tkáňově specifické mRNA. Další studie (8) stejné skupiny ukázala, že specifické transkripty lze detekovat i v materiálu mnohem starším, například v 16 let staré krevní skvrně. Možnost úspěšně detekovat vybrané transkripty tzv. housekeeping genů (tj. genů provozních - potřebných pro fungování každé buňky organismu) a genů tkáňově specifických po delší době skladování za působení širokého spektra faktorů vnějšího prostředí byla studována Setzerem et al. (9) - RNA byly detekovatelné i po 547 dnů trvajícím uchovávání vzorků při pokojové teplotě, zvýšená teplota a vlhkost se ukázaly jako krucální faktory negativně ovlivňující získání výsledků.

Hlavní výhodou identifikace tělní tekutiny pomocí mRNA profilování je možnost současné extrakce mRNA i DNA z téhož vzorku, což nabývá na významu u materiálu o limitovaném množství, kdy tento přístup vede zároveň k individuální identifikaci původce stopy. Příslušné izolační metody byly úspěšně etablovány a mezinárodně testovány (10,11,12,13).

Další výhodou mRNA profilování je možnost zaměřit se v jedné reakci RT PCR (Reverse Transcription Endpoint Polymerase Chain Reaction) nebo qRT-PCR (Quantitative Real-Time Reverse

Transcription – PCR) na amplifikaci více tkáňově specifických transkriptů najednou – provádět tzv. multiplexování, které nejen šetří limitovaný výchozí materiál, ale může vést i k odhalení směsi tělních tekutin (14,15).

Pro determinaci jednotlivých tělních tekutin byly selektovány transkripty tkáňově vysoce specifických genů (15,16,17) uvedené v tabulce 1. Přesvědčivě byla prokázána možnost determinovat složení směsí biologických tekutin profilováním mRNA ve stopě obsažených (16). Tato problematika byla dále rozvíjena a v roce 2014 vyústila ve vývoj PCR multiplex esejí pro detekci 12 tkáňově specifických mRNA zahrnujícího transkripty genů pro hemoglobin beta (*HBB*) a glykoferin A (*GLY*) pro detekci periferní krve, transkripty genů pro protamin 2 (*PRM2*) a transglutaminázu 4 (*TGM4*) pro sperma, transkripty genů pro mucin 4 (*MUC4*) pro vaginální sekret, transkripty genů pro matrix metaloproteinázy 7 a 11 (*MMP7* a *MMP11*) pro menstruační krev, keratinu 4 (*KRT4*) pro orální sliznici, histatinu 3 (*HTN3*) pro sliny, statherinu (*STATH*) pro nosní sekrety, dermcidinu (*DCD*) pro pot a uromodulinu (*UMOD*) pro moč (18).

Profilování mikroRNA

MikroRNA (miRNA) jsou malé nekódující RNA molekuly o délce 18 až 22 nukleotidů, které regulují genovou expresi na post-transkripční úrovni. Byly provedeny studie směřující k nalezení miRNA s tkáňově specifickou expresí a tudíž vhodných pro forenzní aplikace. Dosavadní výsledky (19,20,21) jsou bohužel zatím nekonzistentní, jak vyplývá i z údajů v tabulce 1 demonstrujících zásadní odlišnost výsledků získaných jednotlivými výzkumnými skupinami. V kontrastu k profilování mRNA při studiu tkáňově specifických mikroRNA zatím nebylo dosaženo shody v otázce výběru nejvhodnějšího panelu markerů vykazujícího parametry srovnatelné s profilováním mRNA, jednotlivé studie (19,20,21) nedosahují průniku v selekci markerů tak, jak je tomu u mRNA profilování. Ukazuje se, že výsledky získané miRNA profilováním jsou závislé na použité metodě izolace, reverzní transkripci i detekční technologii (22). Pro praktické využití ve fo-

Tabulka 1. Využití vybraných tkáňově specifických charakteristik pro určení typu tělní tekutiny molekulárně genetickými metodami dle v textu citovaných literárních zdrojů. U mikroRNA různé výzkumné skupiny dosáhly různých vzájemně se nekonfirmujících výsledků.

Tělní tekutina	mRNA	mikroRNA	Detekce bakteriální DNA
Venózní krev	beta-spektrín (<i>SPTB</i>) porfobilinogen deamináza (<i>PBGD</i>) beta-aminolevulinátsyntáza 2 (<i>ALAS2</i>) hemoglobin alfa (<i>HBA</i>) hemoglobin beta (<i>HBA</i>) glykoferin (<i>GLY</i>)	miR-16, miR-451 (19) miR-20a, miR-106a, miR-185, miR-144 (20) miR-484, miR-182 (21)	
Sliny	statherin (<i>STATH</i>) - dle Xu et al. (14) vhodný marker pro nosní sekrety histatin 3 (<i>HTN3</i>)	miR-205, miR-658 (19) miR-223, miR-145 (21)	<i>Veillonella atypica</i> , <i>Streptococcus salivarius</i>
Menstruační krev	matrix metaloproteináza 7 (<i>MMP7</i>) matrix metaloproteináza 10 (<i>MMP10</i>) matrix metaloproteináza 11 (<i>MMP11</i>)	miR-451, miR-412 (19)	
Vaginální sekret	beta-defensin 1 (<i>HBD1</i>) mucin 4 (<i>MUC4</i>)	miR-124a, miR-372, and miR-195 (19) miR-1260b, miR-654-5p (21)	<i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i>
Sperma	protamin 1 (<i>PRM1</i>) protamin 2 (<i>PRM2</i>) kalikrein (<i>KLK</i>) transglutamináza (<i>TGM4</i>)	miR-135b, miR-10b (19) miR-943, miR-135a, miR-10a, miR-507, miR-891a (20) miR-2392, miR-3197 (21)	
Orální sliznice	keratin 4 (<i>KRT4</i>)		
Pot	dermcidin (<i>DCD</i>)		
Moč	uromodulin (<i>UMOD</i>)		

renzní genetiky je tedy nutná další optimalizace, standardizace a validace dosavadních přístupů.

Stanovení tkáňově specifických epigenetických změn

Diferenciace tkání je spojena s epigenetickým změnami, dlouhodobě je z tohoto hlediska studována zejména metylace DNA, která ovlivňuje aktivitu genových promotorů. Vyšší stupeň metylace může vést k transkripčnímu umlčení dotyčného genu. Různé buněčné typy a tkáně jsou charakterizovány specifickými metylačními vzory a chromosomálními segmenty známými jako tkáňově specifické diferenciatně metylované regiony (tissue-specific Differentially Methylated Regions (tDMRs) (23). Na tomto teoretickém základě byl vyvinut test umožňující spolehlivé a rychlé určení vzorků spermatu bez nutnosti mikroskopického vyšetření či aplikace biochemických testů. Test je založen na štěpení DNA metylačně senzitivním enzymem HhaI, následné amplifikaci zbylých, enzymem nerozštěpených sekvencí za pomoci fluorescenčně značených primerů a analýze takto získaných ampliconů pomocí kapilární elektroforézy (24). Řada dalších studií zaměřených na vytipování tDMR vhodných ke spolehlivému odlišení tělních tekutin využívá jako prvního kroku bisulfitové konverze, přičemž je nemetylovaný cytosin konvertován na uracil, jehož přítomnost vede k zařazení thyminu do sekvence DNA amplifikované z takového výchozího materiálu za pomoci PCR. Bisulfitová konverze však vede k částečné degradaci výchozího vzorku DNA, což je hlavní nevýhodou tohoto metodického přístupu. V genech *DACT1* a *USP49* byly nalezeny tDMR vhodné k odlišení vzorků spermatu, v nichž jsou jejich sekvence specificky hypometylovány, a gen *PFN3* poskytl kandidátní tDMR pro determinaci vaginálního sekretu (25). Vyšetření tDMR v genech *DACT1*, *USP49*, *PFN3* a *PRMT2* po bisulfitové konverzi bylo navrženo k úspěšnému odlišení vzorků spermatu, menstruační krve a vaginálního sekretu od jiných tělních tekutin (23). Jiná studie (26) rovněž rozvíjející metodiku založenou na bisulfitové konverzi navrhuje využití tDMR v jiných genech - pro determinaci vzorků spermatu jsou zde navrženy geny *ZC3H12D* a *FGF7*, zatímco vyšetření *C20orf117* a *BCAS4* má sloužit k odlišení vzorků krve a slin od ostatních biologických tekutin.

Jak vyplývá z výše uvedeného, metody založené na vyšetřování tkáňově specifických diferenciatně metylovaných regionů (tDMR) představují nadějný analytický nástroj v oblasti molekulárně genetické determinace tělních tekutin také tím, že pracují s DNA izolovanou ze stopy, vyžadují však provedení dalších validačních studií zahrnujících širokou paletu markerů a relevantní množství biologických stop rozmanitého charakteru. Studie Parkera a spolupracovníků (27) je v tomto směru nejnovějším krokem - na pozadí celého lidského metylomu bylo vybráno 8 DNA metylačních markerů, které vykazují vysokou sensitivitu a specifitu pro determinaci stop krve, slin, spermatu a vaginálního sekretu.

Nalezení DNA sekvencí tkáňově specifických mikroorganismů

Metody identifikace tělních tekutin založené na amplifikaci DNA tkáňově specifických bakterií využívají nejčastěji k určení bakteriálních druhů amplifikace druhově specifické sekvence

genu pro 16S rRNA nebo intragenové transkribované oblasti lokalizované mezi geny pro 16S a 23S rRNA (28,29). Pozornost byla zaměřena především na identifikaci slin a vaginálního sekretu. Detekci slin dovoluje zjištění přítomnosti DNA pocházející ze *Streptococcus salivarius* a *Streptococcus mutans* (28), k určení vaginálního sekretu slouží nejčastěji DNA z *Lactobacillus crispatus* a *Lactobacillus gasseri* (30, 31). Zjištění přítomnosti sekvencí z těchto dvou mikroorganismů dovoluje také odlišení menstruační krve (32). Detekce druhově specifických sekvencí z *Gardnerella vaginalis* a *Atopobium vaginae*, původců častých vaginálních zánětlivých onemocnění žen fertillního věku, je rovněž využívána pro identifikaci vaginálního sekretu (32). Jeden z recentních metodických přístupů (32) úspěšně využívá kombinace vyšetření tDMRs v genech *USP49*, *DACT1*, *PFN3* a *L81528* s detekcí DNA výše popsaných tkáňově specifických mikroorganismů, přičemž například pro spolehlivé určení vaginálního sekretu touto metodou postačuje celkové množství DNA izolované ze vzorku 250pg.

ZÁVĚR

V oblasti molekulárně genetické determinace tělních tekutin byla dosud provedena celá řada velmi zajímavých, výše zmínovaných studií. Praktického využití zatím dosáhlo jen mRNA profilování v důsledku své vysoké tkáňové specifity a sensitivity dostatečující pro práci se stopami spolu s detekcí DNA tkáňově specifických mikroorganismů. Přístupy založené na vyšetřování mikroRNA zatím nedosáhly potřebného konsensu v náhledu na spektrum mikroRNA dostatečujících ke spolehlivé identifikaci jednotlivých typů forenzně zajímavých tkání. Vyšetřování tkáňově specifických diferenciatně metylovaných regionů (tDMR) DNA vedlo k úspěchu při jednoznačné determinaci vzorků krve, spermatu, slin a vaginálních sekretů (26,27). Velmi úspěšné jsou přístupy založené na kombinaci metodických možností - například na současné detekci tDMRnebo mRNA spolu s detekcí DNA tkáňově specifických mikroorganismů (32,23).

Vývoj spektra metod založených na analýze nukleových kyselin ve stopách tělních tekutin s cílem určit jejich biologickou podstatu představuje zcela určitě obohacení možností forenzní práce ve smyslu potenciální aplikace jedné univerzální konfirmační metody na stopy nejrůznějších tělních tekutin a jejich směsí za využití stávajícího vybavení a etablovaných metod laboratorní forenzní genetiky.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena projektem PRVOUK P25/LF1/2 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR, projektem RVO VFN 64165 Ministerstva zdravotnictví ČR a projektem TIP I/328 Ministerstva průmyslu a obchodu ČR.

PROHLÁŠENÍ

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou. Toto prohlášení se týká i všech spoluautorů.

LITERATURA

1. Sikirzhyski V, Sikirzhyskaya A, Lednev IK. Multidimensional Raman spectroscopic signatures as a tol for forensic identification of body fluids traces: a review. *Appl Spectrosc* 2011; 65: 1223-1232.
2. Scano O, Locci E, Noto A et al. 1H NMR metabolite fingerprinting as a new tool for body fluid identification in forensic science. *Magn Reson Chem* 2013; 51: 454-462.
3. Frascione N, Pinto V, Daniel B. Development of biosensor for human blood: new routes to body fluid identification. *Anal Bioanal Chem* 2012; 404: 23-28.
4. Frascione N, Thorogate R, Daniel B, Jickells S. Detection and identification of body fluids stains using antibody-nanoparticle conjugates. *Analyst* 2012; 137: 508-512.
5. Virkler K, Lednev IK. Analysis of body fluids

- for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Sci Int* 2009; 188: 1-17.
6. **AnJH, ShinkJ, YangWI, LeeHY.** Body fluid identification in forensics. *BMB Rep* 2012; 45: 545-553.
 7. **Zubakov D, Hanekamp E, Kokshoorn M, van IJcken W, Kayser M.** Stable RNA markers for identification of blood and saliva stains revealed from whole genome expression analysis of time-wise degraded samples. *Int J Legal Med* 2008; 122: 135-142.
 8. **Zubakov D, Kokshoorn M, Kloosterman A, Kayser M.** New markers for old stains: stable mRNA markers for blood and saliva identification from up to 16-year-old stains. *Int J Legal Med* 2009; 123: 71-74.
 9. **Setzer M, Juusola J, Ballantyne J.** Recovery and stability of RNA in vaginal swabs and blood, semen, and saliva stains. *J Forensic Sci* 2008; 53: 296-305.
 10. **Bauer M, Patzelt D.** Simultaneous RNA and DNA isolation from blood and semen stains. *Forensic Sci Int* 2003; 136: 76-78.
 11. **Alvarez M, Juusola J, Ballantyne J.** An mRNA and DNA co-isolation method for forensic casework samples. *Anal Biochem* 2004; 335: 289-298.
 12. **Haas C, Hanson E, Bär W, et al.** mRNA profilig for the identification of blood—results of a collaborative EDNAP exercise. *Forensic Sci Int Genet* 2011; 5: 21-26.
 13. **Haas C, Hanson E, Anjos MJ, et al.** RNA/DNA co-analysis from blood stains—results of a second collaborative EDNAP exercise. *Forensic Sci Int Genet* 2012; 6: 70-80.
 14. **Juusola J, Ballantyne J.** Multiplex mRNA profilig for the identification of body fluids. *Forensic Sci Int* 2005; 152: 1-12.
 15. **Juusola J, Ballantyne J.** mRNA profilig for body fluid identification by multiplex quantitative RT-PCR. *J Forensic Sci* 2007; 52: 1252-1262.
 16. **Haas C, Klesser B, Maake C, Bär W, Kratzer A.** mRNA profilig for body fluid identification by reverse transcription end point PCR and real-time PCR. *Forensic Sci Int Genet* 2009; 3: 80-88.
 17. **Nussbaumer C, Gharehbaghi-Schnell E, Korschineck I.** Messenger RNA profiling: a novel method for body fluid identification by real-time PCR. *Forensic Sci Int* 2006; 157: 181-186.
 18. **Xu Y, Xie J, Cao Y et al.** Development of highly sensitive and specific mRNA multiplex system (XCYR1) for forensic human body fluids and tissues identification. *PLoS One* 2014; 9(7): e100123.
 19. **Hanson EK, Lubenow H, Ballantyne J.** Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Anal Biochem* 2009; 387: 303-314.
 20. **Zubakov D, Boersma AW, Choi Y, van Kuijk PF, Wiemer EA, Kayser M.** MicroRNA markers for forensic body fluid identification obtained from microarray screening and quantitative RT-PCR confirmation. *Int J Legal Med* 2010; 124: 217-226.
 21. **Park JL, Park SM, Kwon OH, et al.** Microarray screening and qRT-PCR evaluation of microRNA markers for forensic body fluid identification. *Electrophoresis* 2014; 35: 21-22.
 22. **Wang Z, LuoHB, Pan XF, Liao M, Hou YP.** A model for data analysis of microRNA expression in forensic body fluid identification. *Forensic Sci Int Genet* 2012; 6: 419-423.
 23. **AnJH, Chi A, Shin KJ, Zang WI, Lee HY.** DNA methylation-specific multiplex assays for body fluid identification. *Int J Legal Med* 2013; 127: 35-43.
 24. **Wasserstrom A, Frumkin D, Davidson A, Shpitzen M, Herman Y, Gafny R.** Demonstration of DSI-semen-A novel DNA methylation-based forensic semen identification assay. *Forensic Sci Int Genet* 2013; 7: 136-142.
 25. **Lee HY, Park MJ, Choi A, An JH, Yang WI, Shin KJ.** Potential forensic application of DNA methylation profiling to body fluid identification. *Int J Legal Med* 2012; 126: 55-62.
 26. **Madi T, Balamurugan K, Bombardi R, Duncan G, McCord B.** The determination of tissue-specific DNA methylation patterns in forensic biofluids using bisulfite modification and pyrosequencing. *Electrophoresis* 2012; 33: 1736-1745.
 27. **Park JL, Kwon OH, Kim JH, et al.** Identification of body fluid-specific DNA methylation markers for use in forensic science. *Forensic Sci Int Genet* 2014; 13C: 147-153.
 28. **Hsu L, Power D, Upritchard J, et al.** Amplification of oral streptococcal DNA from human incisors and bite marks. *Curr Microbiol* 2012; 65: 207-211.
 29. **Akutsu T, Motani H, Watanabe K, Iwase H, Sakurada K.** Detection of bacterial 16S ribosomal RNA genes for forensic identification of vaginal fluid. *Legal Med (Tokyo)* 2012; 14: 160-162.
 30. **Giampaoli S, Berti A, Valeriani F, et al.** Molecular identification of vaginal fluid by microbial signature. *Forensic Sci Int Genet* 2012; 6: 559-564.
 31. **Giampaoli S, Alessandrini F, Berti A, et al.** Forensic interlaboratory evaluation of the ForFLUID kit for vaginal fluids identification. *J Forensic Leg Med* 2014; (21): 60-63.
 32. **Choi A, Shin KJ, Yang WI, Lee HY.** Body fluid identification by integrated analysis of DNA methylation and body fluid-specific microbial DNA. *Int J Legal Med* 2014; 128: 33-41.
 33. **Fleming RI, Harbison S.** The use of bacteria for identification of vaginal secretions. *Forensic Sci Int Genet* 2010; 4: 311-315.

INFORMACE

Nejvyšší ocenění ministra ŠMT ČR pro člena naší odborné společnosti

Dne 27. 3. 2015 ministr školství mládeže a tělovýchovy předal **doc. MUDr. Františku Vorlovi, CSc.** nejvyšší resortní vyznamenání pro pedagogy v ČR, a sice Medaili MŠMT ČR. Toto ocenění obdržel u příležitosti svého životního i profesního jubilea za celoživotní přínos v oblasti vzdělávání.

Pro doc. MUDr. Františka Vorlu, CSc. je totiž rok 2015 rokem dvou významných jubileí. Jednak se dožívá 60 let věku a jednak dosáhne 30 let soustavné pedagogické činnosti v oblasti zdravotnictví, a to středoškolského, vysokoškolského i postgraduálního. Za tu dobu již vychoval několik generací soudních lékařů i jiných zdravotnických pracovníků a je mezi odbornou veřejností zcela právem považován za jednoho z nejrenomovanějších odborníků v celé ČR.

K udělení tohoto velice výjimečného ocenění jubilantovi gratulujeme.

Miroslav Hirt

