

RNDr. Daniel Vaněk, Ph.D.

IČ: 60219611

znalec z oboru zdravotnictví, odvětví genetika

se zvl. spec. molekulární biologie a DNA diagnostika, správná laboratorní praxe

znalec z oboru kriminalistika

se zvl. spec. forenzní biologie a genetika

Forenzní DNA servis, s.r.o., Budínova 2, 180 81 Praha 8, DIČ: CZ27227529

Tel/fax: 233 931 123, Mobil: 603 979 915, e-mail: daniel.vanek@FDNAS.cz

Naše č.j.: ZP-023-2021

V Praze dne 24.5.2021

Přílohy:

Výtisk č.: 1

Zadavatel:

Jan PIPEK

Červená Voda 200

561 61 Červená Voda

IČ: 05487960

ZNALCKÝ POSUDEK

z oboru KRIMINALISTIKA, se zvl. spec. forenzní biologie a genetika

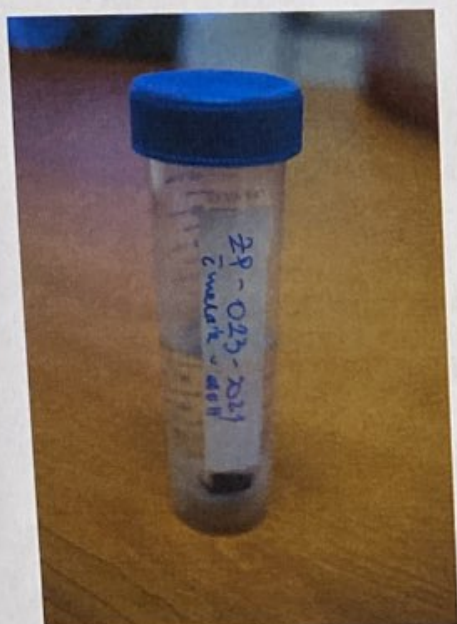
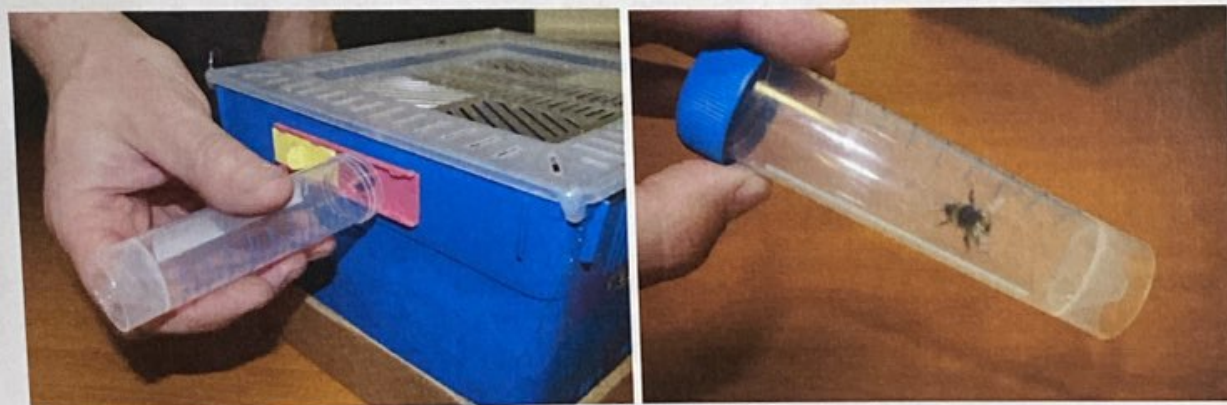
Popis případu a požadavek na analýzu:

Požadavkem ze dne 10.5.2021 byl níže uvedený znalec přibrán, aby na základě analýzy DNA určil druhovou a poddruhovou příslušnost předloženého vzorku biologického materiálu a provedl porovnání s interním databázovým záznamem vytvořeným pro vzorek označený "Bombus terrestris terrestris – VUP Troubsko, 16.6.2020" (interní značení 2020-A-005-A).

Zpracovávaný biologický materiál:

Dne 11.5.2021 byl znalcem odebrán 1 ks čmeláka (*Bombus terrestris*) z přepravního boxu (viz fotodokumentace). Exemplář byl flegmatizován chladem a následně usmrcen 96% etanolem. Interní značení odebraného vzorku je ZP-023-2021.

Fotodokumentace předloženého materiálu:



Metoda:

Z předloženého biologického materiálu (viz fotodokumentace) byla odebrána jeho část, ze které byla následně izolována DNA pomocí komerčně dostupné soupravy ZR Quick DNA Microprep Plus kit dle pokynů výrobce (Zymo Research, USA).

Za účelem druhové a poddruhové identifikace byly provedeny dvě nezávislé analýzy.

1. PCR amplifikace části genu pro Cytochrom c oxidázu (*coi*) mitochondriální DNA. Následná sekvenční analýza byla provedena dle metodiky popsané v Thitika Kitpipit *et al.*, 2014. Výsledná sekvence byla porovnána s referenční databází NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).
2. PCR amplifikace části mitochondriálního genu pro 16S ribozomální RNA, kde v sekvenci nalezená záměna nukleotidů (transice A → G) vede ke vzniku dvou haplotypů (A-haplotyp, G-haplotyp), a tím k rozlišení poddruhů *B. t. terrestris* vs *B. t. lusitanicus* (upraveno dle Cejas *et al.*, 2018).

Výsledky zkoumání:

1. Druhová identifikace

Získaná sekvence části genu *coi* (PCR produkt o délce 503 pb) pro vzorek ZP-023-2021 se na 100% shoduje s referenčním záznamem pro organismus *Bombus terrestris* vedeným v databázi NCBI pod číslem záznamu MT871830.1.

coi gen 503 pb, BLAST *Bombus terrestris*

>ZP-023-2021

```
TCAAATTATAATCTTTAGTAACAAGACATGCAATTTTAAATAATTTTATAGTTATACCTTTTATAATTGGTGGATTGGAAATTA
TCTAATTCATTAATATTAGGATCCCCAGATATAGCTTTCTCGAATAAATAATATTAGATTTTGACTTCTACCTCCATCATTATTCAT
ATTATTATTAAGAAATATATTACACCTAATGTAGGTACAGGATGAAGTGTATATCCTCTTATCTTCTTATTATTTCATTCATCACC
TTCAATTGATATTGCAATTTTCTTTACATATATCAGGAATCTCTCAATTATTGGATCATTAAATTTTATCGTTACTATTTTATTAATA
AAAAATTTTTCATTAAATTATGATCAAATTAATTTATTTTCATGATCAGTATGTATTACAGTAATTTATTAATTCTATCTTTACCAGTAT
TAGCCGGTGCAATTACTATATTATTATTGATCGAAATTTTAATACTTCAT
```

2. Poddruhová identifikace

Výsledná sekvence části genu pro 16S rRNA o délce 337 pb byla porovnána s referenční sekvencí organismu *Bombus terrestris terrestris* (VUP Troubsko, interní značení 2020-A-005-A) a byl stanoven haplotyp zkoumaného vzorku.

Lze konstatovat, že testovaný vzorek odpovídá A-haplotypu a tudíž se jedná o čmeláka poddruhu *Bombus terrestris terrestris* (Cejas *et al.*, 2018).

16S rRNA – 337 pb

>ZP-023-2021

```
CTGCGGGTATAATTGACTGTACAAAGGTAGCATAATCAATTGTTTTTAATTAAAAACTGGAATGAAAGAGTTAATGAGATATACAC
TGTCTCATATATATAAATTAATTTAAATTTTAGTTAAATGCTAAATTAATTTATGGGACGATAAGACCCATAGAAATTTATATTA
ATATTTTAATTATAATTTTATTATTGAATATTAATTTTGTGGGAGGATAGGTAAATTTATTAACCTTTATTTTAAATATTAACCTTAA
TTAAAGAATATATTTTGATCTTTTAGTAAAAATGAAAAGAGTAAATTACCTTAGGGATAACAGCGTAAT
```

3. Porovnání s interní databází

Získaná sekvence části genu *coi* (PCR produkt o délce 503 pb) pro vzorek ZP-023-2021 se na 100% shoduje s interním databázovým záznamem vytvořeným pro vzorek označený "Bombus terrestris terrestris – VUP Troubsko, 16.6.2020" (interní značení 2020-A-005-A)

>2020-A-005A

```
ATTGACTGTACAAAGGTAGCATAATCAATTGTTTTTAATTAAAAACTGGAATGAAAGAGTTAATGAGATATACACTGTCTCATATAT
ATTAATTAATTTAAATTTTAGTTAAATGCTAAATTAATTTATGGGACGATAAGACCCATAGAAATTTATATTAATATTTAAATTA
TAATTTTATTATTGAATATTAATTTTGTGGGAGGATAGGTAAATTTATTAACCTTTATTTTAAATATTAACCTTAAATTAAGAATAT
ATTTTGATCTTTTAGTAAAAATGAAAAGAGTAAATTACCTTAGGGATAA
```

>ZP-023-2021

```
CTGCGGGTATAATTGACTGTACAAAGGTAGCATAATCAATTGTTTTTAATTAAAAACTGGAATGAAAGAGTTAATGAGATATACAC
TGTCTCATATATATAAATTAATTTAAATTTTAGTTAAATGCTAAATTAATTTATGGGACGATAAGACCCATAGAAATTTATATTA
ATATTTTAATTATAATTTTATTATTGAATATTAATTTTGTGGGAGGATAGGTAAATTTATTAACCTTTATTTTAAATATTAACCTTAA
TTAAAGAATATATTTTGATCTTTTAGTAAAAATGAAAAGAGTAAATTACCTTAGGGATAACAGCGTAAT
```

Závěr:

Na základě analýzy DNA z předloženého vzorku - *Bombus terrestris* (č. j. ZP-023-2021) - lze konstatovat, že se jedná o čmeláka poddruhu *Bombus terrestris terrestris*.

Znalecký posudek vyhotovil:

RNDr. Daniel Vaněk, Ph.D.

znalec z oboru Kriminalistika



Znalecká doložka:

Znalecký posudek jsem podal jako znalec jmenovaný rozhodnutím Městského soudu v Praze pro základní obor Kriminalistika, specializace Forenzní biologie a genetika.

Znalecký úkon je zapsán pod pořadovým číslem 023/2021.

Znalec si je vědom následků podání vědomě nepravdivého posudku.

Zadavateli znaleckého posudku byla fakturována náhrada nákladů spojených s analýzou DNA ve výše uvedeném případě a to podle likvidace na základě dokladu č. 20210025.

Podpis znalce:

