### Metody biologii molekularnej w kryminalistyce – od wykrywania śladów krwi po zastosowania spektrometrii mas <sub>Część 1.</sub>

Takao Ishikawa



平成13年4月9日、世田谷区 上祖師谷4丁目仙川沿いで発見 されたお地蔵様です。



<u>全体の大きさ</u>	
高さ~約59cm	
重さ~約19.5kg	
<u>地蔵</u>	
高さ~約50cm	
重さ~約12.5kg	
<u>台座</u>	
高さ~約11cm	
直径~約22cm	
重さ~約7kg	



	<u>敬</u> 言	<b>視庁</b> 」 上祖師	<b>戎城</b> 裕三丁	警 <b>察</b> 「目一	<b>署</b> ·家4.
連絡先 電 直	03 03	(34 (34	82) 82)	01 38	1 0 2 9

#### 製造・輸入・販売情報を求めています!















### mtDNA







# **Nentimeter**



### Związki chemiczne

### Nieorganiczne

 $H_2O$  $CO_2$  $NH_3$  $SO_2$ 

i wiele innych...

### Organiczne $CH_4$ Cukry Tłuszcze Aminokwasy Luminol Białka Kwasy nukleinowe

i wiele innych...

### Związki chemiczne



### Typy wiązań i oddziaływań chemicznych

- Wiazania kowalencyjne Oddziaływania jonowe
- Wiazania wodorowe
- Oddziaływania van der Waalsa Oddziaływania hydrofobowe

# (a)

#### Nonpolar covalent bond

Bonding electrons shared equally between two atoms. No charges on atoms.



#### Polar covalent bond

Bonding electrons shared unequally between two atoms. Partial charges on atoms.





#### lonic bond

Complete transfer of one or more valence electrons. Full charges on resulting ions.

### Wiązania wodorowe



### Oddziaływania van der Waalsa







### Reakcje chemiczne **Rozkład aspiryny**



### Reakcje chemiczne Rozkład aspiryny



### Wiele reakcji wymaga katalizatora



Reaction coordinate

### Reakcje chemiczne Reakcja luminolu



## Reakcja luminolu



### **Chemiluminescencja** Reakcja luminolu

Energia



Poziom podstawowy

### **CRIME SCENE CHEMISTRY – LUMINOL**

![](_page_21_Figure_1.jpeg)

![](_page_21_Picture_2.jpeg)

### Ustalanie grupy krwi

**Dr. Pletsching** Type A

![](_page_22_Picture_2.jpeg)

No Reaction

![](_page_22_Picture_4.jpeg)

Blood Type

![](_page_22_Picture_6.jpeg)

**Dr. Landsteiner** Type O Reaction

No Reaction

**Dr. Pletsching** Antibodies against B

![](_page_22_Picture_11.jpeg)

![](_page_22_Picture_12.jpeg)

## No Reaction

No Reaction

**Dr. Sturli** Antibodies against A

### Serum

Reaction

![](_page_22_Picture_18.jpeg)

![](_page_22_Picture_19.jpeg)

**Dr. Landsteiner** Antibodies against A and B

### Budowa antygenu H

![](_page_23_Figure_1.jpeg)

### **Red Blood Cell**

### Przeciwciała a aglutynacja czerwonych krwinek

![](_page_24_Picture_1.jpeg)

### Budowa przeciwciał

![](_page_25_Figure_1.jpeg)

© Encyclopædia Britannica, Inc.

### Mikroskop Antona Leeuwenhoeka

![](_page_26_Picture_1.jpeg)

wikimedia.org; uni-mainz.de

![](_page_26_Picture_3.jpeg)

![](_page_27_Picture_0.jpeg)

### Lab on a Chip

### PAPER

![](_page_28_Picture_2.jpeg)

Check for updates

Cite this: DOI: 10.1039/c9lc00690g

Received 17th July 2019, Accepted 20th August 2019

### A passive portable microfluidic blood-plasma separator for simultaneous determination of direct and indirect ABO/Rh blood typing

Shadi Karimi, 🕩 Pouya Mehrdel, 🕩 Josep Farré-Lladós and Jasmina Casals-Terré 吵 \*

The blood typing test is mandatory in any transfusion, organ transplant, and pregnancy situation. There is a lack of point-of-care (POC) blood typing that could perform both direct and indirect methods using a single droplet of whole blood. This study presents a new methodology combining a passive microfluidic blood-plasma separator (BPS) and a blood typing detector for the very first time, leading to a stand-alone microchip which is capable of determining the blood group from both direct and indirect methods simultaneously. The proposed design separates blood cells from plasma by applying hydrodynamic forces imposed on them, which overcomes the clogging issue and consequently maximizes the volume of the extracted plasma. An axial migration effect across the main channel is responsible for collecting the plasma in plasma collector channels. The BPS novel design approached 12% yield of plasma with 100% purity in approximately 10 minutes. The portable BPS was designed and fabricated to perform ABO/Rh blood tests based on the detection of agglutination in both antigens of RBCs (direct) and antibodies of plasma (indi-

![](_page_28_Picture_9.jpeg)

View Article Online View Journal

![](_page_29_Figure_0.jpeg)

### wciałami Zeciv 0 Ν Komory

![](_page_30_Figure_1.jpeg)

![](_page_31_Picture_0.jpeg)

Official publication of Indian Association of Oral and Maxillofacial Pathologists

J Oral Maxillofac Pathol. 2016 Sep-Dec; 20(3): 540–544. doi: 10.4103/0973-029X.190962

### Determination of ABO blood grouping and Rhesus factor from tooth material

Pooja Vijay Kumar, M Vanishree,<sup>1</sup> K Anila,<sup>1</sup> Santosh Hunasgi,<sup>1</sup> Sri Sujan Suryadevra,<sup>1</sup> and Swetha Kardalkar<sup>2</sup>

Author information Article notes 
Copyright and License information

### ABSTRACT

### **Objective:**

The aim of the study was to determine blood groups and Rhesus factor from dentin and pulp using absorption-elution (AE) technique in different time periods at 0, 3, 6, 9

Home	I and Maxillofacial Pathology
Current issue	

Submit article PMCID: PMC5051308 PMID: 27721625

Instructions

![](_page_32_Picture_0.jpeg)

Period (number of samples)	Dentin sensitivity (%)	Pulp sensitivity (%
0 month (30)	100	100
3 months (30)	93	93
6 months (30)	90	90
9 months (30)	83	86
12 months (30) Total (150)	73 88	80 90

![](_page_32_Picture_4.jpeg)

### ELISA **Enzyme-Linked Immunosorbent Assay**

![](_page_33_Figure_1.jpeg)

![](_page_33_Figure_2.jpeg)

### ELISA w oznaczaniu poziomu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2

![](_page_34_Figure_1.jpeg)

Indirect ELISA

**Barwny rozpuszczalny** w roztworze wodnym produkt reakcji

Przeciwciała z próbki pacjenta

![](_page_35_Figure_1.jpeg)

![](_page_35_Picture_2.jpeg)

![](_page_35_Picture_3.jpeg)

![](_page_35_Picture_4.jpeg)

![](_page_35_Picture_5.jpeg)

![](_page_35_Picture_6.jpeg)

![](_page_35_Picture_7.jpeg)
zlecenia:	2001211400103	zlecający:		zlecająca:	pracodawcy
Data pobrania:	2020-07-21	Data otrzymania materiału:	2020-07-21 11:46	Data wydania wyniku:	2020-07-22

Wskazanie do wykonania badania: ocena obecności przeciwciał IgG i IgM skierowanych przeciwko wirusowi SARS-CoV-2.

Metoda badania: Test immunoenzymatyczny (ELISA); półilościowa ocena obecności przeciwciał IgG i IgM anty-SARS-CoV-2.

#### Wynik badania przeciwciał IgG: <u>NEGATYWNY</u>

#### Wynik badania przeciwciał IgM: <u>NEGATYWNY</u>

Badanie wykazało brak przeciwciał IgM i IgG skierowanych przeciwko SARS-CoV-2. Wynik badania sugeruje brak przebytego zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Wynik badania nie wyklucza jednak, że osoba jest w trakcie zakażenia, ale nie wytworzyła jeszcze przeciwciał.

**Informacje na temat metody badania:** Detekcja przeciwciał IgG i IgM skierowanych przeciwko SARS-CoV-2 prowadzona zestawami: Anti-SARS-CoV-2 Elecysys Cobas e200, Access SARS-CoV-2 IgG, Platelia SARS-CoV-2 total Ab, EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA IgG.





		Imn
Nazwa badania		Wynik badania
	Materiał: Krew żylna, surowica,	data i godz. pobrania: 2

#### P/c przeciw wirusowi SARS CoV-2 w klasie IgG met. ilościową

P/c przeciw wirusowi SARS CoV-2 w klasie IgG P/c przeciw wirusowi SARS CoV-2 w klasie IgG

173,90 AU/ml dodatnie

Uwaga! Zmiana systemu analitycznego od dnia 08.02.2021

Czułość testu (PPV): 92,92% po 15 dniach od wystąpienia objawów Swoistość testu (NPV): 99,97% metoda chemiluminescencji pośredniej, analizator ALINITY I, firma Abbott



ujemne: <50,00 dodatnie: >=50,00

### Metody biologii molekularnej w kryminalistyce – od wykrywania śladów krwi po zastosowania spektrometrii mas <sub>Część 2.</sub>

Takao Ishikawa

















**Nentimeter** 





## Mikroskopia sił atomowych







# Komárka







## Centralny dogmat

# nukleinowe kwasy







# Rybosom: maszyna do translacji



Entry of mRNA into cytoplasm



Small ribosomal subunit

> Binding of mRNA strand to a small first tRNA





ubunits around the d and arrival of RNAs

#### Zapis w DNA

ATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCACTGGAGTTGTCCCAATTCTTGTTGAATTAGATGGCGATGTTAATGGGCAAAAATTCTCTGTCAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAAC ATACGGAAAACTTACCCTTAAATTTATTTGCACTACTGGGAAGCTACCTGTTCCATGGCCAACACTTGTCACTACTTCTCTTATGGTGTTCAATGCTTTTCAAGATACCCAG 2 TTTGAAGGTGATACCCTTGTTAAT **LAAATGGAATACAACTATAACTCACATAATGTATA** С CATCATGGCAGACAAACCAAAGAA **ITTAGCAGACCATTATCAACAAAATACTCCAATTG** TTT Phe TCT Ser GCGATGGCCCTGTCCTTTTACCAG AGATCACATGATCCTTCTTGAGTTTGTAACAGCT TCC Ser TTC Phe GCTGGGATTACACATGGCATGGAT т Ser TCA TTA Leu TCG TTG Ser Leu CCT CTT Pro Leu CCC Pro CTC Leu С CCA Pro CTA Leu CTG CCG Pro Leu ATT ACT Thr lle ACC Thr ATC lle А lle ACA Thr ATA Met Thr ATG ACG GCT Val Ala GTT GCC GTC Ala Val G GTA Val GCA Ala Zapis w białku GTG Val GCG Ala

#### MSNGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTLKFICTTGKLPVPWPTLVTTFSYGVQCFSRYPDHMKQHDFF KSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHNVYIMADKQKNGIKVNFKIR HNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGITHGMDELYK

				3
A	A G			
ГАТ	Tyr	TGT	Cys	Т
ГАС	Tyr	TGC	Cys	С
ГАА	stop	TGA	stop	Α
ΓAG	stop	TGG	Trp	G
CAT	His	CGT	Arg	Т
CAC	His	CGC	Arg	С
CAA	Gln	CGA	Arg	Α
CAG	Gln	CGG	Arg	G
AAT	Asn	AGT	Ser	Т
AAC	Asn	AGC	Ser	С
AAA	Asn	AGA	Arg	Α
٩AG	Lys	AGG	Arg	G
GAT	Lys	GGT	Gly	Т
GAC	Asp	GGC	Gly	С
GAA	Glu	GGA	Gly	A
GAG	Glu	GGG	Gly	G

#### Zapis w DNA

ATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCACTGGAGTTGTCCCAATTCTTGTTGAATTAGATGGCGATGTTAATGGGCAAAAATTCTCTGTCAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAAC ATACGGAAAACTTACCCTTAAATTTATTTGCACTACTGGGAAGCTACCTGTTCCATGGCCAACACTTGTCACTACTTCTCTTATGGTGTTCAATGCTTTTCAAGATACCCAG 2 TTTGAAGGTGATACCCTTGTTAAT **LAAATGGAATACAACTATAACTCACATAATGTATA** С CATCATGGCAGACAAACCAAAGAA **ITTAGCAGACCATTATCAACAAAATACTCCAATTG** TTT Phe TCT Ser GCGATGGCCCTGTCCTTTTACCAG AGATCACATGATCCTTCTTGAGTTTGTAACAGCT TCC Ser TTC Phe GCTGGGATTACACATGGCATGGAT т Ser TCA TTA Leu TCG TTG Ser Leu CCT CTT Pro Leu CCC Pro CTC Leu С CCA Pro CTA Leu CTG CCG Pro Leu ATT ACT Thr lle ACC Thr ATC lle А lle ACA Thr ATA Met Thr ATG ACG GCT Val Ala GTT GCC GTC Ala Val G GTA Val GCA Ala GTG Val GCG Ala Zapis w białku

**MSNGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTLKFICTTGKLPVPWPTLVTTFSYGVQCFSRYPDHMKQHDFF** KSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHNVYIMADKQKNGIKVNFKIR HNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGITHGMDELYK

				3
A	A G			
ГАТ	Tyr	TGT	Cys	Т
ГАС	Tyr	TGC	Cys	С
ГАА	stop	TGA	stop	Α
ΓAG	stop	TGG	Trp	G
CAT	His	CGT	Arg	Т
CAC	His	CGC	Arg	С
CAA	Gln	CGA	Arg	A
CAG	Gln	CGG	Arg	G
AAT	Asn	AGT	Ser	Т
AAC	Asn	AGC	Ser	С
AAA	Asn	AGA	Arg	Α
٩AG	Lys	AGG	Arg	G
GAT	Lys	GGT	Gly	Т
GAC	Asp	GGC	Gly	С
GAA	Glu	GGA	Gly	A
GAG	Glu	GGG	Gly	G

#### Zapis w DNA

ATGAGIAAAGGAGAAGAACTTTTCACTGGAGTTGTCCCAATTCTTGTTGAATTAGATGGCGATGTTAATGGGCAAAAATTCTCTGTCAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAAC ATACGGAAAACTTACCCTTAAATTTATTTGCACTACTGGGAAGCTACCTGTTCCATGGCCAACACTTGTCACTACTTTCTCTTATGGTGTTCAATGCTTTTCAAGATACCCAG TTTGAAGGTGATACCCTTGTTAATA AAATGGAATACAACTATAACTCACATAATGTATA С CATCATGGCAGACAAACCAAAGAA TTAGCAGACCATTATCAACAAAATACTCCAATTG TTT Phe TCT Ser GCGATGGCCCTGTCCTTTTACCAG AGATCACATGATCCTTCTTGAGTTTGTAACAGCT TCC Ser TTC Phe GCTGGGATTACACATGGCATGGAT Ser TCA TTA Leu TTG TCG Ser Leu CTT ССТ Pro Leu CCC Pro CTC Leu С CCA Pro CTA Leu Pro CTG CCG Leu ATT ACT Thr lle Thr ATC lle ACC Α lle ACA Thr ATA Thr Met ACG ATG GCT Val Ala GTT GCC GTC Ala Val G Val GCA Ala GTA Zapis w białku GTG Val GCG Ala

M\$NGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTLKFICTTGKLPVPWPTLVTTFSYGVQCFSRYPDHMKQHDFF KSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHNVYIMADKQKNGIKVNFKIR HNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGITHGMDELYK

				3
A		G		
ГАТ	Tyr	TGT	Cys	Т
ГАС	Tyr	TGC	Cys	С
ГАА	stop	TGA	stop	Α
ΓAG	stop	TGG	Trp	G
CAT	His	CGT	Arg	Т
CAC	His	CGC	Arg	С
CAA	Gln	CGA	Arg	Α
CAG	Gln	CGG	Arg	G
٩AT	Asn	AGT	Ser	Т
AAC	Asn	AGC	Ser	С
AAA	Asn	AGA	Arg	Α
AAG	Lys	AGG	Arg	G
GAT	Lys	GGT	Gly	Т
GAC	Asp	GGC	Gly	С
GAA	Glu	GGA	Gly	Α
GAG	Glu	GGG	Gly	G

## Różnorodność białek

1	MSAPKKIVVL	PGDHVGQEIT	AEAIKVL
61	EALEASKKAD	AVLLGAVGGP	KWGTGSV
121	PIKPQFAKGT	DFVVVRELVG	GIYFGKR
181	HEPPLPIWSL	DKANVLASSR	LWRKTVE
241	IIITSNMFGD	IISDEASVIP	GSLGLLP
301	PIATILSAAM	MLKLSLNLPE	EGKAIED
0 6 1			

361 KILA\*

#### Liczba potencjalnych białek o takiej wielkości to: $20^{364} = \infty$

#### KAI SDVRSNVKFD FENHLIGGAA IDATGVPLPD **RPE QGLLKIRKEL QLYANLRPCN FASDSLLDLS KED DGDGVAWDSE QYTVPEVQRI TRMAAFMALQ** ETI KNEFPTLKVQ HQLIDSAAMI LVKNPTHLNG SAS LASLPDKNTA FGLYEPCHGS APDLPKNKVN AVK KVLDAGIRTG DLGGSNSTTE VGDAVAEEVK

#### 20 rodzajów aminokwasów

#### 364 pozycje (dość małe białko)

### Aminokwasy



#### Endogenne

Ala (alanina)

Arg (arginina)

Asp (kwas asparaginowy)

Asn (asparagina)

Cys (cysteina)

Glu (kwas glutaminowy)

GIn (glutamina)

Gly (glicyna)

**Pro** (prolina)

Ser (seryna)

**Tyr** (tyrozyna)

#### Egzogenne

His (histydyna)

**lle** (izoleucyna)

Leu (leucyna)

Lys (lizyna)

Met (metionina)

Phe (fenyloalanina)

Thr (treonina)

Trp (tryptofan)

Val (walina)

## Wiązanie peptydowe



## Wiązanie peptydowe



## **Paradoks Levinthala**

- Przy założeniu, że zbadanie każdej konformacji zajmuje 1 ns
  - $2^{363}$  ns =  $1.8 \times 10^{108}$  ns =  $1.8 \times 10^{99}$  s
  - $1 \operatorname{rok} = 60 \times 60 \times 24 \times 365 \text{ s} = 31536000 \text{ s}$
  - To "zaledwie"  $3,2 \times 10^7$  s

### Krajobraz fałdowania

#### Niestabilne

Stabilne







# **Nentimeter**







# **Nentimeter**



## Modyfikacje posttranslacyjne



## Modyfikacje posttranslacyjne













## Enzymy:

- reakcji, same nie ulegając zmianie
- są wysoce specyficzne
- przez modyfikacje posttranslacyjne

## są katalizatorami, które zmieniają szybkość

ich aktywność może być regulowana m.in.

## Kompleks enzym-substrat



## Kofaktory

- mogą być niezbędne do poprawnego działania enzymów
  - jony nieorganiczne: Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Co<sup>3+</sup>, Mo<sup>2+</sup> itd.
  - niebiałkowe cząsteczki organiczne: tzw. koenzymy (np. witaminy, ATP, NAD+)
# Co to za płyn ustrojowy? Analytical Methods

PAPER



Check for updates

Cite this: DOI: 10.1039/c8ay02080a

Received 21st September 2018 Accepted 18th December 2018

DOI: 10.1039/c8ay02080a

rsc.li/methods

#### Development of a microfluidic device (µPADs) for forensic serological analysis

Rosa L. Cromartie,<sup>a</sup> Ashley Wardlow,<sup>a</sup> George Duncan<sup>b</sup> and Bruce R. McCord <sup>b</sup>\*<sup>a</sup>

In this paper, we describe a paper microfluidic device capable of performing a variety of presumptive tests for the presence of biological fluids at crime scenes. The device is multiplexed and permits the simultaneous detection of blood, saliva, semen, and urine. This portable device utilizes a set of hydrophilic channels created with wax on chromatographic paper. On the terminal end of each channel, there are embedded colorimetric reagents that can be read by eye or detected using a cell phone camera. This portable device permits fast, simple and simultaneous screening of 4 different body fluids. It should prove useful in forensic analysis for individuals interested in sample collection for subsequent downstream laboratory analysis.





View Article Online **View Journal** 

#### microfluidic paper-based analytical devices (µPADs)



**Fig. 1** Multi-analyte paper microfluidic testing device developed for detecting body fluids. The device consists of 4 channels with 5 locations for reagents. Area labelled A is the location where sodium perborate tetrahydrate is placed within a thin layer of water-based liquid glue. Area B is the location where phenolphthalein is placed.

#### µPAD Design

#### Colored µPAD



# Wykorzystanie ureazy do rozkładu mocznika

#### $NH_{2}(CO)NH_{2} + 2H_{2}O \xrightarrow{\text{urease}} NH_{3} + NH_{4}^{+} + HCO_{3}^{-}$ (1) urea ammonia ion bicarbonate

## NH<sub>3</sub> + 2K<sup>+</sup>[HgI<sub>4</sub>]<sup>2-</sup> + 3OH<sup>-</sup> Ammonia Nessler's Reagent



Mercuric Ammonia

### Wykrywanie krwi Metoda Kastle'a-Meyer'a







# Wykorzystanie α-amylazy ze śliny





#### Wykrywanie spermy Wykorzystanie kwaśnej fosfatazy ze spermy



**Phosphate Monosodium** 





Azo Dye (Purple)



5.55

0.18

0.02 /

6.054

## **µPADs w akcji** Mieszanina moczu, krwi, śliny i spermy



# Simultaneous µPAD



# Wykorzystanie α-amylazy ze śliny



- Skrobia skoniugowana z niebieskim barwnikiem i uformowana w tabletkę
- Tabletkę Phadebas wkłada się do wody i dodaje się próbki, którą się analizuje (potencjalna ślina)
- Jeśli w próbce jest α-amylaza, trawi ona skrobię i uwalnia barwnik proporcjonalnie do aktywności enzymu



## Modyfikacje posttranslacyjne histonów



## Modyfikacje posttranslacyjne histonów Wykorzystanie w kryminalistyce

Forensic Science International: Genetics 37 (2018) 180–195

Contents lists available at ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsigen

#### Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics

#### Athina Vidaki<sup>\*</sup>, Manfred Kayser

Department of Genetic Identification, Erasmus MC University Medical Center Rotterdam, PO Box 2040, 3000CA Rotterdam, The Netherlands



Forensic Science International: Genetics









ise?"
)
)
)
)
)

## Kinetyka Michaelisa-Menten





#### Stężenie substratu

# Glukometr

- Oksydaza glukozowa katalizuje reakcję utleniania
  - Glukoza -> Glukozo-1,5-lakton
- Reakcji towarzyszy przepływ elektronów
  - Urządzenie wykrywa przepływ prądu
- Im więcej glukozy, tym większy przepływ
  - Większa liczba na wyświetlaczu...



### **Glikacja – długoterminowa miara glikemii** Nieenzymatyczne przyłączanie glukozy do hemoglobiny



Hemoglobin transports four Oxygen molecules by binding to four Iron atoms inside each HEME Group.

Glycated Hemoglobin (HbA1C) **Glucose** permanently binds to proteins like Hemoglobin after prolonged exposure

to elevated blood sugar.

# Enzymy w przemyśle spożywczym





Cukry proste mają większą higroskopijność i wyciągają wodę z czekolady

#### Sacharoza -> Glukoza + Fruktoza



ktaza
ukoza + Galaktoza
żdy wchłania te cukry

Milk containing lactose

Beads with lactase



# Chromatografia





# Chromatografia









Figure 3.3 **Biochemistry, Seventh Edition** © 2012 W. H. Freeman and Company



**Positively charged** protein binds to negatively charged bead

**Negatively charged** protein flows through

Figure 3.4 **Biochemistry, Seventh Edition** © 2012 W. H. Freeman and Company



# Chromatografia powinowactwa

Glucose-binding protein attaches to glucose residues (G) on beads



Figure 3.5 Biochemistry, Seventh Edition © 2012 W. H. Freeman and Company Glucose-binding proteins are released on addition of glucose

Addition of glucose (G)

### **N-glikozylacja przeciwciał IgG** Enzymatyczne przyłączanie cukrów do przeciwciał IgG

Int J Legal Med (2015) 129:955–961 DOI 10.1007/s00414-015-1162-x

ORIGINAL ARTICLE

#### Estimation of human age using N-glycan profiles from bloodstains

Ivan Gudelj • Toma Keser • Frano Vučković • Vedrana Škaro • Sandra Šupraha Goreta • Tamara Pavić • Jerka Dumić • Dragan Primorac • Gordan Lauc • Olga Gornik





# $Age = 75.59 - 5.15 \times (GP4)^{2} + 17.07 \times GP6 - 5.30$ $\times (GP10)^{2} - 16.56 \times GP16 + 20.07$ $\times GP20 - 7.54 (GP20)^{2} + 16.47 \times GP22$

20 -

80 -





## Elektroforeza



Figure 3.7 **Biochemistry, Seventh Edition** © 2012 W. H. Freeman and Company



## Elektroforeza



th Edition and Company



## Wynik elektroforezy



Białka śliny





## Identyfikacja białka – western blotting

Two filter papers soaked in buffer

Polyacrylamide gel

Membrane (e.g. nitrocellulose)

Two filter papers soaked in buffer


Two filter papers soaked in buffer

Polyacrylamide gel

Membrane (e.g. nitrocellulose)

Two filter papers soaked in buffer









Polyacrylamide gel after staining



Blot prepared from a gel prepared exactly as the previous one (samples are not visible in reality)



Band developed by antibody

#### Pregnant



#### Not pregnant







## Czy można wykorzystać taką technikę do przygotowania innych testów?



### Produkcja przeciwciał monoklonalnych



Immunization



Monoclonal antibodies, expansion and stock

### Spektrometria mas



## Spektrometria mas





### Spektrometria mas Zastosowanie w kryminalistyce

#### Journal of Oroteome Res. 2018, 17, 2412–2420 research

#### Proteomics in Forensic Sciences: Identification of the Nature of the Last Meal at Autopsy

Maria Pieri,<sup>†</sup> Antonio Lombardi,<sup>‡</sup> Pascale Basilicata,<sup>†</sup> Gianfranco Mamone,<sup>§</sup> and Gianluca Picariello<sup>\*,§</sup> <sup>†</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate – Sezione di Medicina Legale. University of Naples "Federico II", Via S. Pansini, 5,

80131 Naples, Italy

<sup>‡</sup>Legal Adviser of the Court of Naples, 80131 Naples, Italy <sup>§</sup>Istituto di Scienze dell'Alimentazione – Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Via Roma 64, 83100 Avellino, Italy

**S** Supporting Information

APSTRACT. A long torm neurobistric 10 male





Article

pubs.acs.org/jpr









was living in a private clinic. The man was found dead in prone position on the floor of his room at 9:00 a.m. Causes of death were compatible with multiple traumatic injuries, which the sanitary staff imputed to an accidental fall from bed. Nurses declared the man refused to have breakfast and was fasting since the night before. He assumed the prescribed therapy



ba

a number of wheat protein components clearly confirmed that the deceased man had a meal compatible with a typical milk and bread-based Italian breakfast, shortly before the finding of his dead body. In principle, proteomics is able to provide

nd	identification	species	uniprot accession	unique peptides	C
6	$\beta$ -lactoglobulin	bovine	P02754	9	
	gastrokine-2	human	Q86XP6	5	
	$\beta$ -amylase	barley	P16098	4	
7	fatty acid-binding protein, epidermal	human	Q01469	4	
	lpha-lactalbumin	bovine	P00711	3	
	α-amylase/trypsin inhibitor CM16	wheat	P16159	4	
8	serum albumin	human	P02768	9	
	$\beta$ -lactoglobulin	bovine	P02754	6	
	hornerin	human	Q86YZ3	5	
	serotransferrin	human	P02787	4	
	transgelin	human	Q01995	5	
	serpin Z1B	wheat	P93693	3	















Contents lists available at ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jprot

#### Mass spectrometry-based proteomics for the forensic identification of vomit traces

#### Maria Pieri<sup>a</sup>, Angela Silvestre<sup>a</sup>, Maristella De Cicco<sup>b,\*</sup>, Gianfranco Mamone<sup>b</sup>, Emanuele Capasso<sup>a</sup>, Francesco Addeo<sup>c</sup>, Gianluca Picariello<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Advanced Biomedical Science-Legal Medicine Section, University of Naples "Federico II", Via S. Pansini 5, 80131 Naples, Italy <sup>b</sup> Institute of Food Sciences, National Research Council (CNR), Via Roma 64, 83100 Avellino, Italy <sup>c</sup> Department of Agriculture, University of Naples "Federico II", Parco Gussone, Via Università 100, 80055 Portici, Naples, Italy

#### A R T I C L E I N F O

*Keywords:* Sexual assault ABSTRACT

Proteomics was exploited to assess the nature of possible traces of vomit found on the scene of an alleged sexual assault. In the case in point, a woman reported to the police to be raped five days before by a cousin of hers in his

Journal of Proteomics 209 (2019) 103524

#### Journal of Proteomics











Uniprot accession	Molecular weight	Protein
P16233	51,157.3	Pancreatic triacylglycerol lipase
P19961	57,710.3	$\alpha$ -amylase 2B <sup>a</sup>
P04746/ P19961/	57,707.4/	Pancreatic/salivary $\alpha$ -amylase <sup>a</sup>
P04745	57768	
P04118	11,954	Colipase
P09093	29,488.9	Chymotrypsin-like elastase family member 3A
P07477	26,558.3	Trypsin-1
P98088	585,575.2	Mucin-5 AC
Q03403	14,284.5	Trefoil factor 2
P07098	45,238.1	Gastric triacylglycerol lipase
P17538	27,713	Chymotrypsinogen B
P15085	47,140.6	Carboxypeptidase A1
P04054	16,359.9	Phospholipase A2
P15086	47,367.9	Carboxypeptidase B
P04155	9149.6	Trefoil factor 1
P07478	26,488	Trypsin-2
Q9HC84	596,345.8	Mucin-5B
P19835	79,322.2	Bile salt-activated lipase
P04083	38,714.6	Annexin A1
P20142	42,426.2	Gastricsin
P55259	59,481.1	Pancreatic secretory granule
		membrane major glycoprotein GP2
P00792	40,003.8	Pepsin A
P0DJD7	41,977.5	Pepsin A-4
P02810	17,016.6	Salivary acidic proline-rich
		phosphoprotein 1/2
Q9NS71	21,999.1	Gastrokine-1
Q9UBG3	53,533.6	Cornulin
P08217	28,888	Chymotrypsin-like elastase family member 2A

### MS umożliwia wykrycie nawet zmianę 1 aminokwasu





#### PAPER CRIMINALISTICS

Zheng Zhang (D, M.D.; Meghan C. Burke, Ph.D.; William E. Wallace, Ph.D.; Yuxue Liang, Ph.D.; Sergey L. Sheetlin, Ph.D.; Yuri A. Mirokhin, Ph.D.; Dmitrii V. Tchekhovskoi, Ph.D.; and Stephen E. Stein, Ph.D.

#### Sensitive Method for the Confident Identification of Genetically Variant Peptides in Human Hair Keratin\*

**ABSTRACT:** Recent reports have demonstrated that genetically variant peptides derived from human hair shaft proteins can be used to differentiate individuals of different biogeographic origins. We report a method involving direct extraction of hair shaft proteins more sensitive



#### J Forensic Sci, 2019 doi: 10.1111/1556-4029.14229 Available online at: onlinelibrary.wiley.com

#### (A) Gel Image



#### (B) Example GVP ion analysis

#### KRT31\_A82V\_V DNVELENLIR/2\_0









# VouTube

## 



## **Nentimeter**







UNINA





## takao.pl