



Nederlands Forensisch Instituut
Ministerie van Veiligheid en Justitie

Vakbijlage

DNA-verwantschapsonderzoek

Versie 4



Inleiding

Deze vakbijlage DNA-verwantschapsonderzoek dient als algemene toelichting op het onderzoek en heeft een informatief karakter. Informatie over een specifieke zaak staat vermeld in het deskundigenrapport van de betreffende zaak. Deze vakbijlage verschaft nadere details over het onderzoek en dient gelezen te worden als aanvulling op hoofdstuk 10 van de uitgave 'De Essenties van forensisch biologisch onderzoek; *Humane biologische sporen en DNA*' (vijfde druk).

Bij het DNA-verwantschapsonderzoek worden de volgende fasen onderscheiden:

1. DNA-onderzoek: het bepalen van de DNA-profielen.
2. Vergelijkend DNA-onderzoek: het vergelijken van de verkregen DNA-profielen.
3. Het vaststellen van de bewijskracht voor de mogelijke familierelatie.

Het DNA-verwantschapsonderzoek wordt uitgevoerd conform criteria genoemd in de NEN-EN ISO/IEC 17025, conform het Besluit DNA-onderzoek Vaderschap dat in 2008 voor het vaderschapsonderzoek in Nederland is opgesteld en conform de aanbevelingen van de Paternity Testing Commission van de International Society of Forensic Genetics (2007)¹. Tevens is het DNA-verwantschapsonderzoek geaccrediteerd door de Raad van Accreditatie (RvA registratienummer L 146) en als verrichting te vinden onder nummer 29 op de verrichtingenlijst, zie www.rva.nl.

Fase 1: DNA-onderzoek

Het autosomale DNA-onderzoek ten behoeve van het DNA-verwantschapsonderzoek wordt uitgevoerd volgens de methoden² die zijn aangegeven in de uitgave 'De Essenties van forensisch biologisch onderzoek; *Humane biologische sporen en DNA*' (vijfde druk). Vanaf 23 april 2018 wordt standaard bij het DNA-verwantschapsonderzoek het PowerPlex Fusion 6C DNA-analysesysteem van Promega gebruikt. Hierbij worden de DNA-kenmerken van 23 autosomale loci, het locus voor het geslachtskenmerk en 3 Y-chromosomale loci geanalyseerd. Indien nodig wordt aanvullend autosomaal DNA-onderzoek verricht met bijvoorbeeld de Minifiler kit van Life Technologies. Voor 23 april 2018 werd standaard het NGM DNA-analysesysteem van Life Technologies gebruikt.

Voor het Y-chromosomale DNA-onderzoek wordt sinds september 2015 standaard het PowerPlexY23 DNA-analysesysteem van Promega gebruikt. Hierbij worden de DNA-kenmerken van 23 loci geanalyseerd. Voor september 2015 werd de kit van Y-filer DNA-analysesysteem van Applied Biosystems gebruikt. Hierbij werden de DNA-kenmerken van 17 loci geanalyseerd.

Voor het mitochondriale (mt)DNA-onderzoek wordt gebruik gemaakt van de Sanger sequencing methode, de SNP-detectiemethode en/of de Next Generation Sequencing (MPS) methode. Variaties ten opzichte van een referentieprofiel ((revised) Anderson of Cambridge Referentie (CamRef)) bepalen het mtDNA-profiel. Voor meer informatie zie de vakbijlage Humaan mitochondriaal DNA-onderzoek.

¹ Gjertson, D.W. et al. 2007 Forensic Science International: Genetics 1:223. ISFG: recommendations on biostatistics in paternity testing.

² Zie voor een schematische weergave van de gebruikte methoden de vakbijlagen 'Methoden forensisch biologisch onderzoek' (www.forensischinstituut.nl, zoekterm: *vakbijlage*).

Fase 2: Vergelijkend DNA-onderzoek

Het DNA-verwantschapsonderzoek voor het vaststellen van een ouder(s)-kindrelatie en een broer-broer (/zus)relatie begint met een vergelijkend autosomaal DNA-onderzoek waarbij de mate van overeenkomst van autosomale DNA-kenmerken wordt bepaald.

2.1 Ouder-kindrelatie

Voor de DNA-kenmerken in het autosomale DNA-profiel van een persoon geldt dat bij ieder locus één DNA-kenmerk afkomstig is van de biologische vader en het andere van de biologische moeder van die persoon. Van dit gegeven maakt men gebruik bij het onderzoeken van biologische ouder-kindrelaties, omdat het in beginsel betekent dat een kind en een biologische ouder op elk autosomaal locus een gemeenschappelijk DNA-kenmerk hebben. Een uitzondering op deze regel is mogelijk als door een mutatie het DNA spontaan is veranderd. Als door een mutatie een DNA-kenmerk van het DNA in de geslachtscel van de ouder is veranderd en dit afwijkende DNA wordt overgedragen aan het kind, is het mogelijk dat ouder en kind op het betreffende locus geen gemeenschappelijk DNA-kenmerk hebben.

Het NFI hanteert als richtlijn bij het standaard DNA-verwantschapsonderzoek op basis van 23 loci, dat indien van twee personen autosomale DNA-profielen zijn bepaald en er 3 of meer loci zijn waarop deze personen geen gemeenschappelijk DNA-kenmerk hebben, er wordt geconcludeerd dat deze personen geen ouder en kind van elkaar kunnen zijn. Deze richtlijn is gebaseerd op onderzoek beschreven in de literatuur (zie bijvoorbeeld Chakraborty³). Wanneer er DNA-profielen vervaardigd zijn met 24-54 loci, hanteert het NFI een grens van 4 of meer loci.

Wanneer een verwantschap tussen personen niet wordt uitgesloten, vindt een statistische berekening plaats van de bewijskracht (likelihood ratio; zie hieronder) van het DNA-verwantschapsonderzoek. Hierbij wordt rekening gehouden met de eventueel waargenomen mutaties.

2.2 Broer-broer(/zus)relatie

Als op basis van verkregen informatie (bijvoorbeeld verklaringen van familieleden) er een vermoeden is van een mogelijke broer-broer(/zus)relatie kan dit met DNA-verwantschapsonderzoek worden getoetst. Bij een volle (dat wil zeggen: twee kinderen van dezelfde ouders) broer-broer(/zus)relatie is gemiddeld ongeveer tweederde van de onderzochte DNA-kenmerken gelijk. Het resultaat van het vergelijkend DNA-onderzoek kan een indicatie geven van een mogelijke broer-broer(/zus)relatie. De bewijskracht van het DNA-verwantschapsonderzoek kan worden berekend (zie hieronder).

In aanvulling op het autosomale DNA-onderzoek kunnen mogelijke broer-broer(/zus)relaties nader onderzocht worden aan de hand van Y-chromosomaal DNA-onderzoek en/of mitochondriaal DNA-onderzoek.

³ Chakraborty, R. and Stivers, D.N. J. 1996 Forensic Sciences 41: 671 – 677. Paternity exclusions by DNA markers: effects of paternal mutations.

Fase 3: Bewijskracht

Om de bewijskracht te berekenen wordt de 'likelihood ratio-methode' (LR) gebruikt. Bij elke berekening worden de resultaten van het DNA-onderzoek beschouwd in het licht van twee of meer hypothesen. Voor de opgestelde hypothesen wordt de kans op het verkregen resultaat van het DNA-onderzoek berekend. Voor elk paar relevante hypothesen wordt de verhouding van deze kansen bepaald.

3.1 Formules

De formules die het NFI standaard bij het DNA-verwantschapsonderzoek gebruikt voor de berekening van de LR zijn gebaseerd op het principe van de Mendeliaanse overerving met de mogelijkheid van een mutatie. Formules voor deze berekeningen zijn vermeld in het boek van Buckleton⁴.

3.2 Frequenties

Als referentiebestand voor de populatie genetische frequenties bij de berekening van de LR gebruikt het NFI het referentiebestand dat in 2010 - 2011 door het NFI en het FLDO (Forensisch Laboratorium voor DNA Onderzoek) bij 2085 Nederlandse mannen is bepaald. De frequenties in dit referentiebestand zijn gepubliceerd⁵.

Een statistische evaluatie met populatie genetische frequenties van een andere bevolkingsgroep kan desgewenst worden uitgevoerd. Naar verwachting zal de waarde van de LR die berekend is met de frequenties van een andere populatie slechts in geringe mate afwijken van de LR die berekend is met het referentiebestand van het NFI/FLDO.

3.3 Rekenprogramma's

Het NFI gebruikt gevalideerde programma's voor de berekening van de LR. Dit zijn Bonaparte⁶, Familias⁷, Famlink⁸ en de kinship module in DNAXs.

⁴ Buckleton, J., Triggs, C.M., et al. 2005. Forensic DNA evidence interpretation. CRC Press. ISWBN 0-849303017-3.

⁵ Westen A.A. et al. 2014 Forensic Science International: Genetics 10: 55-63. Comparing six commercial autosomal STR kits in a large Dutch population sample.

⁶ Slooten, K. 2011 Forensic Science International: Genetics 5: 308-315. Validation of DNA-based software by computation of pedigree likelihood ratios.

⁷ Drabek, J. 2009 Forensic Science International: Genetics 3:112. Validation of software for calculating the likelihood ratio for parentage and kinship.

Egeland, T. et al. 1997 Science & Justice, 37:269. A computerised method for calculating the probability of pedigrees from genetic data.

⁸ <http://www.famlink.se/>

3.4 Mutatiefrequenties

Bonaparte gebruikt een uniform mutatiemodel bij de berekeningen. Standaard is in Bonaparte de mutatiefrequentie op 5×10^{-3} ingesteld.

Voor LR's die met Familias of handmatig worden berekend, wordt voor een éénstaps mutatiefrequentie gebruikt die gebaseerd is op de frequenties die vermeld zijn op de site van NIST⁹ en verbeterd door K.Slooten¹⁰. Voor meerstapsmutaties wordt de frequentie van een éénstapsmutatie per stap met een factor 20 verlaagd.

3.5 Inbreeding (theta)-correctie

Het NFI gebruikt een theta van 0,01 bij DNA-verwantschapsonderzoek in strafzaken. Bij de overige verwantschapsonderzoeken gebruikt het NFI geen theta-correctie.

3.6 Size bias-correctie

Het NFI hanteert als size bias een minimale frequentie van $5/2N$, waarbij N het aantal personen in het referentiebestand is.

In Familias en de kinship module in DNAXs is het NFI/FLDO referentiebestand (waarbij $2N = 4170$) ingevoerd. DNA-kenmerken die minder vaak dan 5 keer voorkomen zijn uit dit bestand verwijderd. Bij berekeningen van de bewijskracht met dergelijke DNA-kenmerken wordt een frequentie van $5/2N$ gebruikt.

In het programma Bonaparte wordt de minimale frequentie ingesteld met de zogenoemde pseudo-count parameters (size bias parameters; lambda's) voor 'common' (λ_c), 'rare' (λ_r) en 'new' (λ_n) DNA-kenmerken. Hierbij wordt er voor gezorgd dat de totale frequentie van alle DNA-kenmerken van een locus 1 blijft.

In Bonaparte is een referentiebestand met de frequenties van de DNA-kenmerken van de verschillende autosomale loci ingevoerd. Tevens is een lijst van mogelijke DNA-kenmerken ingevoerd.

De DNA-kenmerken die ten minste één keer voorkomen in het referentiebestand, worden common alleles genoemd. De DNA-kenmerken die niet voorkomen in het referentiebestand, maar wel vermeld staan in de lijst van mogelijke DNA-kenmerken, worden rare alleles genoemd en de DNA-kenmerken die niet in het referentiebestand en in de lijst met mogelijke DNA-kenmerken vermeld zijn worden new alleles genoemd.

De frequentie f van een DNA-kenmerk a (f_a) wordt in Bonaparte als volgt berekend:

$$f_a = (n_a + \lambda_a) / (2N + \Lambda) \text{ waarbij:}$$

n_a = aantal keren dat DNA-kenmerk a voorkomt in het referentiebestand

N = totaal aantal personen in het referentiebestand

Λ = $L_c \lambda_c + L_r \lambda_r + L_n \lambda_n$

L_c = aantal common alleles

L_r = aantal rare alleles

L_n = aantal new alleles

⁹ <http://www.cstl/nist.gov/biotech/strbase/mutation.htm>

¹⁰ K. Slooten, F. Ricciardi, Estimation of mutation probabilities for autosomal STR markers, Forensic Science International: Genetics, Available online 7 March 2013, ISSN 1872-4973, 10.1016/j.fsigen.2013.01.006. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1872497313000379>)

HBS-RAPP: Vakbijlage DNA-verwantschapsonderzoek

Voor het referentiebestand van het NFI/FLDO (2085 personen) worden de waarden voor de lambda's als volgt gekozen: $\lambda_c = 5$; $\lambda_r = 5$; $\lambda_n = 5$.

NB. Omdat bij gebruik van het NFI/FLDO referentiebestand ($2N = 4170$) Λ veel kleiner is dan $2N$, geldt dat de frequentie van DNA-kenmerken die éénmaal zijn geteld in het NFI/FLDO referentiebestand, die zeldzaam zijn en die nieuw zijn, bij benadering gelijk is aan $5/2N$.

3.7 Posterior kans

Het NFI berekent een posterior kans alleen in zaken waarin een aanname gemaakt kan worden over de prior kans. Deze aanname wordt in het rapport vermeld. Een voorbeeld betreft de IND-zaken, hierin wordt als prior kans 50% gebruikt.

De posterior kans wordt berekend met de formule:

Posterior kans = $(LR \times \text{prior odds}) / (1 + LR \times \text{prior odds})$ waarbij

prior odds = $(\text{prior kans}) / (1 - \text{prior kans})$.