



Nederlands Forensisch Instituut
Ministerie van Veiligheid en Justitie

Vakbijlage

DNA-verwantschapsonderzoek

Versie 6



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

DNA-onderzoek kan plaatsvinden aan drie soorten DNA: autosomaal DNA, Y-chromosomaal DNA, en mitochondriaal DNA. Autosomaal DNA erft over van vader en moeder naar kind en is geschikt voor het onderzoeken van onderlinge familierelaties van elke vorm. Echter, met de standaard gebruikte technieken (STRs) is dit in de praktijk alleen zinvol voor eerste- of soms tweedegraads familierelaties. Y-chromosomaal DNA komt alleen bij mannen voor. Het erft over van vader op zoon en is geschikt voor het onderzoeken van (mogelijk verre) familierelaties tussen twee mannen die mogelijk verwant zijn via een zuiver mannelijke lijn. Mitochondriaal DNA erft over van moeder op kind en is geschikt voor het onderzoeken van (mogelijk verre) familierelaties tussen twee personen die mogelijk verwant zijn via een zuiver vrouwelijke lijn.

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 bij het DNA-verwantschapsonderzoek standaard het PowerPlex Fusion 6C DNA-analysesysteem van Promega gebruikt. Hierbij worden de DNA-kenmerken (ook wel 'allelen' genoemd) van 23 autosomale locaties op het DNA (ook wel 'loci' genoemd), een locus voor de geslachtschromosomen en 3 Y-chromosomale loci geanalyseerd. Indien nodig wordt aanvullend autosomaal DNA-onderzoek verricht met bijvoorbeeld, de

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*).

HBS-RAPP: Vakbijlage DNA-verwantschapsonderzoek

HDplex kit van Qiagen of de IDseek OmniSTR TM Global Autosomal STR Profiling kit van firma Nimagen. 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. Indien nodig wordt aanvullend Y-chromosomaal DNA-onderzoek verricht met bijvoorbeeld, het RMY2.0 amplificatie systeem welke 'in-house' bij het NFI is gemaakt³. Voor september 2015 werd het 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.

Voor autosomaal SNPs DNA-onderzoek wordt gebruik gemaakt van de Forenseq DNA Signature Prep Kit van Qiagen (met hierin 27 autosomale STRs, 24 Y-STRs, 7 X-STRs, 94 identity SNPs, 22 phenotypic SNPs, 56 biogeographical ancestry SNPs) of de Verogen ForenSeq Kintelligence kit (met hierin 10230 SNPs) van Qiagen.

Fase 2: Vergelijkend DNA-onderzoek

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 wanneer door een mutatie het DNA spontaan is veranderd. Als door een mutatie een DNA-kenmerk in de geslachtsceel van de ouder is veranderd en dit wordt overgedragen aan het kind, is het mogelijk dat ouder en kind op het betreffende locus geen gemeenschappelijk DNA-kenmerk hebben. Mutaties zijn vrij zeldzaam (in de orde van eens per duizend generaties per onderzocht DNA-gebied).

Het NFI hanteert als richtlijn bij het standaard DNA-verwantschapsonderzoek op basis van maximaal 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

³ De werking van het RMY2.0 amplificatie systeem is gebaseerd op de volgende publicatie: A. Ralf, D. Zandstra, N. Weiler, W.F.J. van IJcken, T. Sijen, M. Kayser, RMplex: an efficient method for analyzing 30 Y STRs with high mutation rates, Forensic Sci Int Genetics. (2021) 102595. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102595>. De DNA-fragmenten zijn gescheiden met behulp van capillaire elektroforese. Hiervoor is een ABI3500 genetic analyzer (ThermoFisher) gebruikt.

HBS-RAPP: Vakbijlage DNA-verwantschapsonderzoek

(zie bijvoorbeeld Chakraborty⁴). 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.

Fase 3: Bewijskracht

Om de bewijskracht te berekenen wordt de 'likelihood methode' gebruikt. Om te beginnen worden hypothesen opgesteld die de mogelijke vormen van verwantschap tussen de bij het onderzoek betrokken personen beschrijven. Voor elk van de opgestelde hypothesen wordt de kans op de verkregen DNA-profielen van de betrokken personen berekend. Zo'n kans wordt de *likelihood* van de betreffende hypothese genoemd. Indien er slechts twee hypothesen worden beschouwd, wordt de mate waarin de eerste hypothese een betere verklaring geeft voor de waargenomen DNA-profielen van de betrokken personen dan de tweede, gegeven door het quotiënt van de likelihood van de eerste hypothese met de likelihood van de tweede hypothese. Dit getal wordt '*likelihood ratio*' genoemd of ook wel '*bewijskracht*'.

In het algemeen geldt dat hoe groter de likelihood van een hypothese is ten opzichte van de likelihoods van de overige beschouwde hypothese(n), hoe beter deze hypothese de waargenomen DNA-profielen kan verklaren (vergeleken met de andere hypothese(n)) en hoe sterker daarom de aanwijzing is dat deze hypothese juist is, en niet een van de andere beschouwde hypothese(n).

3.1 Formules

De formules die het NFI standaard bij het DNA-verwantschapsonderzoek gebruikt voor de berekening van een likelihood (de kans op de verkregen DNA-profielen als de betreffende hypothese juist is) 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 Buckleton⁵.

3.2 Frequenties

⁴ Chakraborty, R. and Stivers, D.N. J. 1996 Forensic Sciences 41: 671 – 677. Paternity exclusions by DNA markers: effects of paternal mutations.

⁵ Buckleton, J., Triggs, C.M., et al. 2005. Forensic DNA evidence interpretation. CRC Press. ISWBN 0-849303017-3.

HBS-RAPP: Vakbijlage DNA-verwantschapsonderzoek

Voor de berekening van de likelihoods is het van belang om te weten hoe vaak elk DNA-kenmerk voorkomt in de algemene bevolking. Hiervoor worden referentiebestanden gebruikt. Als referentiebestand voor de populatiegenetische frequenties benodigd bij het standaard onderzoek met 23 autosomale PPF6C loci 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 gepubliceerd⁶. Wanneer ander autosomaal onderzoek wordt uitgevoerd, dan worden daarvoor gepaste andere referentiebestanden gebruikt.

Wanneer de betrokken personen uit een populatie afkomstig zijn waarvoor het gebruikte referentiebestand niet representatief is, dan kan de aanwijzing op verwantschap te sterk worden ingeschat. Dit kan goed worden ondervangen door een statistische correctie (zie 3.5) op de populatiefrequenties van het standaard referentiebestand. Een statistische evaluatie met populatiegenetische frequenties van een andere bevolkingsgroep (indien beschikbaar) kan daarnaast desgewenst ook worden uitgevoerd.

3.3 Rekenprogramma's

Het NFI gebruikt gevalideerde programma's voor de berekening van de LR. Dit zijn Bonaparte⁷, Familias⁸, Famlink⁹ en DNAXs¹⁰.

3.4 Mutatiefrequenties

Bonaparte en de kinship module in DNAXs gebruikt een uniform mutatiemodel bij de berekeningen. Dit betekent dat elk kenmerk kan muteren in elk ander kenmerk en dat de kans op elke verandering even groot is. Standaard is in Bonaparte en de kinship module in DNAXs de mutatiefrequentie op 5×10^{-3} ingesteld. In sommige gevallen is het uniforme model onvoldoende precies. In dat geval wordt andere software gebruikt. Voor berekeningen die met Familias of handmatig worden uitgevoerd, wordt voor een éénstapsmutatie (een mutatie van een kenmerk die resulteert in één lengte-eenheid meer of minder) de mutatiefrequentie gebruikt die gebaseerd is op de frequenties die vermeld zijn op de site van NIST¹¹ en gecorrigeerd voor niet-geobserveerde mutaties door K. Slooten¹². Voor meerstapsmutaties wordt de frequentie van een éénstapsmutatie per stap met een factor 20 verlaagd.

3.5 (theta)-correctie

Deze correctie kan worden gebruikt om onzekerheid over de populatiegenetische frequenties van DNA-kenmerken te betrekken in de berekening. Dit resulteert in het algemeen in een iets lagere bewijskracht dan wanneer deze correctie niet wordt toegepast, met name voor bewijskracht die voortkomt uit tussen personen overeenkomstige DNA-kenmerken die in het referentiebestand heel zeldzaam zijn of er niet in voorkomen. Het NFI gebruikt een theta van 0,01 bij DNA-verwantschapsonderzoek in strafzaken. Bij de overige verwantschapsonderzoeken gebruikt het NFI geen theta-correctie. Om te grote bewijskracht op grond van

⁶ 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.

⁷ Slooten, K. 2011 Forensic Science International: Genetics 5: 308-315. Validation of DNA-based software by computation of pedigree likelihood ratios.

⁸ Drabek, J. 2009 Forensic Science International: Genetics 3:112. Validation of software for calculating the likelihood ratio for parentage and kinship.

⁹ Egeland, T. et al. 1997 Science & Justice, 37:269. A computerised method for calculating the probability of pedigrees from genetic data.

¹⁰ <http://www.famlink.se/>

¹¹ DNASTatistX: [https://www.fsigenetics.com/article/S1872-4973\(19\)30228-5/fulltext](https://www.fsigenetics.com/article/S1872-4973(19)30228-5/fulltext). In 2022 is een verwantschapsmodule aan deze software toegevoegd.

¹² <http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/mutation.htm>

¹³ 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

overeenkomstige DNA-kenmerken te voorkomen wordt een minimale waarde voor elke allelfrequentie gehanteerd.

HBS-RAPP: Vakbijlage DNA-verwantschapsonderzoek

3.6 Minimale allelfrequentie

Het NFI hanteert een minimale frequentie voor elk DNA-kenmerk. Dit wordt gedaan (zie 3.5) om te voorkomen dat de bewijskracht ontleend aan een gemeenschappelijk kenmerk ten onrechte te groot wordt ingeschat.

In Familias en de kinship module in DNAXs wordt voor het NFI/FLDO referentiebestand als minimale allelfrequentie $5/2N$ gebruikt (waarbij $2N = 4170$ voor de 23 PPF6C loci). Dit wordt gerealiseerd door DNA-kenmerken die minder dan 5 keer voorkomen zijn uit dit bestand te verwijderen. Bij berekeningen van de bewijskracht met dergelijke DNA-kenmerken wordt een frequentie van $5/2N$ gebruikt.

In het programma Bonaparte wordt de frequentie van elk allel berekend als de relatieve frequentie in het gebruikte referentiebestand. Daarom is elk allel dat voorkomt in het standaard referentiebestand nog 5 keer aan dit bestand toegevoegd. Een allel dat niet voorkomt in het referentiebestand maar wel voorkomt bij de betrokken personen wordt tijdens het uitvoeren van de berekeningen in de betreffende zaak tijdelijk eveneens 5 keer toegevoegd. Deze correctie heeft bijna precies hetzelfde effect als een minimale allelfrequentie.

3.7 A Posteriori kans

De a posteriori kansen op de hypothesen zijn de kansen dat elk van de hypothesen juist is, met inachtneming van de verkregen DNA-profielen. Deze kansen hangen af van de berekende likelihoods, maar ook van de a priori kansen (de kansen op de hypothesen, zonder de DNA-profielen bij de kansinschatting te betrekken). Daarnaast kunnen a posteriori kansen alleen worden bepaald indien verder nog wordt aangenomen dat alle relevante hypothesen bij het onderzoek betrokken zijn.

In tegenstelling tot de likelihoods zijn de a priori kansen contextueel, d.w.z. te bepalen op grond van de kennis van overige feiten en omstandigheden in de betreffende zaak, en daarom doet het NFI standaard alleen een uitspraak over de bewijskracht die is verkregen uit een vergelijking van de berekende likelihoods. Het NFI berekent een posterior kans alleen in zaken waarin hier juridisch of anderszins expliciet om gevraagd wordt. In dat geval wordt een aanname gemaakt en vermeld over de a priori kansen die hiervoor nodig zijn. Hierbij kan gedacht worden aan een gesloten ramp waarbij bekend is hoeveel personen er vermist zijn. Deze aanname wordt in het rapport vermeld. Bij zaken voor de Immigratie en Naturalisatie dienst (IND) wordt altijd in de vorm van een posterior kans gerapporteerd. Hierbij is afgesproken dat de prior kans op elk van de twee onderzochte hypothesen 50% is. Hoewel deze keuze arbitrair is, is de invloed ervan bijna altijd verwaarloosbaar omdat de bewijskracht in dergelijke zaken bijna altijd zeer groot is.

De a posteriori kans wordt berekend met de formule:

a posteriori kans = (LR x a prior kansverhouding) / (1 + LR x a priori kansverhouding) waarbij

A priori kansverhouding = (a priori kans) / (1 - a priori kans).