

TOELICHTING FORENSISCH DNA-ONDERZOEK (ALGEMENE PROCEDURE, AANDACHTSPUNTEN EN DEFINITIES)

ALGEMENE PROCEDURE (zie DEFINITIES voor uitleg van de vaktermen)

De door het FLDO gevolgde procedure voor het uitvoeren van een DNA-onderzoek komt, kort samengevat, op het volgende neer:

- Als ruw materiaal voor DNA-onderzoek is aangeboden, wordt getracht hieruit DNA te isoleren.
- Als de DNA-isolatie destructief is voor de aangeleverde ruwe sporen (m.a.w. als na de DNA-isolatie geen ruw materiaal over blijft), worden de door het FLDO gegenereerde DNA-extracten altijd gesplitst in twee gelijke delen. Eén deel wordt gebruikt voor het DNA-onderzoek, het andere deel wordt apart gehouden voor een mogelijke contra-expertise.
- Indien nodig wordt een kwantificatiereactie uitgevoerd (als DNA-extracten vanuit een ander lab zijn aangeleverd is de daarin aanwezige hoeveelheid DNA vaak al bekend).

Afhankelijk van de vraagstelling van het DNA-onderzoek wordt na de DNA-isolatie (of na ontvangst van DNA-extracten) als volgt gehandeld:

Vergelijkend onderzoek m.b.v. autosomale en/of Y-chromosomale STRs:

- Op de DNA-extracten van de sporen wordt een eerste PCR uitgevoerd.
- Afhankelijk van het resultaat van deze eerste PCR en de kwantificatiereactie (indien uitgevoerd) wordt bepaald of het uitvoeren van één of meerdere aanvullende PCRs, met dezelfde of een andere STR-kit, toegevoegde waarde kan hebben voor het bevestigen en/of uitbreiden van het verkregen resultaat. Hierbij geldt over het algemeen: Hoe partiëler een DNA-profiel of hoe complexer een DNA-mengprofiel, hoe meer PCRs nodig kunnen zijn om tot een zo volledig mogelijk resultaat te komen.
- Wanneer geen voor vergelijking geschikt DNA-profiel wordt verkregen én de kwantificatiereactie (indien uitgevoerd) een negatief resultaat gaf, wordt het onderzoek voor het desbetreffende spoor afgesloten en wordt gerapporteerd dat geen voor vergelijking geschikt DNA-profiel is verkregen.
- Wanneer ruw materiaal of DNA van personen beschikbaar is gesteld worden hiervan DNA-profielen gegenereerd, m.b.v. dezelfde kits welke voor de sporen zijn gebruikt, en worden deze DNA-profielen vergeleken met de resultaten van de sporen.
- Wanneer DNA-profielen van personen ter inzage zijn gegeven worden deze DNA-profielen, voor de STRs waarvoor dit mogelijk is, vergeleken met de resultaten van de sporen.
- Als de resultaten van de sporen voldoen aan de door de DNA-databank gestelde criteria, worden deze aangeboden voor opname of een eenmalige zoekactie in de Nederlandse DNA-databank voor Strafzaken (of andere relevante DNA-databank), tenzij een overeenkomst is gevonden met een persoon die niet in de DNA-databank wordt opgenomen of met een overleden slachtoffer.

Vergelijkend onderzoek m.b.v. mtDNA:

- Met behulp van door het FLDO ontworpen primers wordt getracht de HVR1 sequentie van de sporen te bepalen.
- Wanneer geen betrouwbare HVR1 sequentie wordt verkregen én de kwantificatiereactie (indien uitgevoerd) een negatief resultaat gaf, wordt het onderzoek voor het desbetreffende spoor afgesloten en wordt gerapporteerd dat geen voor vergelijking geschikt mtDNA-profiel is verkregen.
- Wanneer een partiële HVR1 sequentie wordt verkregen, wordt getracht deze sequentie verder uit te breiden door de test te herhalen. Als dit niet slaagt wordt genoteerd welk deel van HVR1 betrouwbaar kon worden getypeerd en worden de verschillen t.o.v. de rCRS genoteerd.
- Wanneer een volledige HVR1 sequentie wordt verkregen, worden de verschillen t.o.v. de rCRS genoteerd.
- Afhankelijk van het onderscheidend vermogen van de HVR1 sequentie kan worden besloten ook een HVR2 sequentie te bepalen.
- Wanneer ruw materiaal of DNA van personen beschikbaar is gesteld, worden hiervan HVR1 (en HVR2) sequenties gegenereerd m.b.v. dezelfde primers welke voor de sporen zijn gebruikt en worden deze sequenties vergeleken met de rCRS en de resultaten van de sporen.

Bepaling van geografische origine m.b.v. mtDNA:

Mitochondriale SNPs

- Met behulp van door het FLDO ontworpen primers wordt een PCR uitgevoerd.
- Als deze PCR niet resulteert in een betrouwbaar SNP-profiel, wordt gerapporteerd dat voor dit spoor geen betrouwbare mtDNA-haplogroep kon worden vastgesteld. In overleg wordt vervolgens besloten of nog wel

een poging zal worden ondernomen om een HVR1 en HVR2 sequentie te genereren.

- Als deze PCR wel resulteert in een betrouwbaar SNP-profiel, wordt dit profiel, op basis van de definities van Quintans et al.¹ en Brandstatter et al.², vertaald naar een mtDNA-haplogroep.
- Van de gevonden mtDNA-haplogroep wordt de globale verspreiding bepaald met behulp van niet publiek toegankelijke databestanden.

Mitochondriale sequenties

- Als in het SNP-onderzoek geen aanwijzingen zijn gevonden voor de mogelijke aanwezigheid van DNA van meerdere personen wordt, met behulp van door het FLDO ontworpen primers, getracht de HVR1 sequentie van het sporenmateriaal te bepalen.
- Wanneer geen betrouwbare HVR1 sequentie wordt verkregen wordt het mtDNA-onderzoek voor het desbetreffende spoor afgesloten en wordt gerapporteerd dat geen betrouwbaar mtDNA-profiel kon worden verkregen.
- Wanneer een partiële HVR1 sequentie wordt verkregen, wordt getracht deze sequentie verder uit te breiden door de test te herhalen. Als dit niet slaagt wordt genoteerd welk deel van HVR1 betrouwbaar kon worden getypeerd en worden de verschillen t.o.v. de rCRS genoteerd.
- Wanneer een betrouwbare HVR1 sequentie wordt verkregen, worden de verschillen t.o.v. de rCRS genoteerd.
- Afhankelijk van het onderscheidend vermogen van de waargenomen HVR1 sequentie kan worden besloten ook een HVR2 sequentie te bepalen.
- Om een indruk te krijgen van de globale verspreiding van de waargenomen HVR1 (en HVR2) sequentie wordt met deze sequentie gezocht in de EMPOP-database³.

Bepaling van geografische origine m.b.v. het Y-chromosoom (alleen i.g.v. een mannelijke DNA-donor):

Y-chromosomale SNPs

- Met behulp van door het FLDO ontworpen primers wordt een PCR uitgevoerd.
- Wanneer deze PCR niet resulteert in een betrouwbaar SNP-profiel, wordt gerapporteerd dat voor dit spoor geen betrouwbare Y-haplogroep kon worden vastgesteld. In overleg wordt vervolgens besloten of nog wel een poging zal worden ondernomen om een Y-haplotype vast te stellen.
- Wanneer deze PCR wel resulteert in een betrouwbaar SNP-profiel, wordt dit profiel, op basis van de definities van Karafet et al.⁴ en, indien van toepassing, de definities van Myres et al.⁵.
- Van de gevonden Y-haplogroep wordt de globale verspreiding bepaald met behulp van het FLDO-YSNP-bestand, eventueel in combinatie met de gegevens uit de YHRD⁶ en de publicaties van Chiaroni et al.⁷ en Myres et al.⁵.

Y-chromosomale STRs

- Op de DNA-extracten wordt een eerste PCR uitgevoerd.
- Afhankelijk van het resultaat van deze eerste PCR en de kwantificatiereactie (indien uitgevoerd), wordt bepaald of het uitvoeren van één of meerdere aanvullende PCRs, met dezelfde of een andere STR-kit, toegevoegde waarde kan hebben voor het bevestigen en/of uitbreiden van het verkregen resultaat.
- Om een indruk te krijgen van de globale verspreiding van het waargenomen Y-haplotype wordt met dit haplotype gezocht in de YHRD⁶.
- Wanneer de PCRs niet resulteren in een betrouwbaar of betrouwbaar en reproduceerbaar DNA-profiel dan wordt het onderzoek voor het desbetreffende spoor afgesloten en wordt gerapporteerd dat geen betrouwbaar of geen betrouwbaar en reproduceerbaar DNA-profiel kon worden verkregen.

Voor de rapportages m.b.t. geografische origine geldt: De door het FLDO in de rapportages gebruikte naamgeving voor de meest waarschijnlijke regio van origine is altijd conform de UNESCO definities⁸, ook wanneer het databestand waarmee is vergeleken deze naamgeving niet gebruikt.

Voor alle door het FLDO uitgevoerde soorten DNA-onderzoek geldt: DNA-profielen van sporen worden altijd eerst vergeleken met de FLDO-eliminatiebank. Indien van toepassing voor de vraagstelling en als het DNA-profiel voldoet aan de criteria van de Nederlandse DNA-databank voor Strafzaken, worden de DNA-profielen van sporen ook vergeleken met de NFI-eliminatiebank. Als een overeenkomst wordt gevonden met een DNA-profiel in één van de eliminatiebanken, wordt in het rapport gemeld dat voor het spoor in kwestie niet kan worden uitgesloten dat contaminatie is opgetreden en dat het DNA-profiel van dit spoor niet geschikt is voor verdere opsporingsactiviteiten.

AANDACHTSPUNTEN (zie DEFINITIES voor uitleg van de vaktermen)

DNA-databank^{9,a,10}: Naarmate het aantal DNA-profielen in een DNA-databank toeneemt, neemt ook de kans toe dat bij een zoekactie in de DNA-databank een overeenkomst wordt gevonden met een persoon van wie het celmateriaal in de onderzochte sporen niet afkomstig is (een vals positief resultaat). Het DNA-profiel van deze persoon komt 'bij toeval' overeen met het DNA-profiel van het spoor. Met deze mogelijkheid moet met name rekening worden gehouden wanneer het een overeenkomst betreft met een spoor waarvan een onvolledig DNA-profiel of een DNA-mengprofiel is verkregen. De wetenschappelijke bewijswaarde van een dergelijke overeenkomst is immers lager (het DNA-profiel is minder zeldzaam) dan die van een overeenkomst met een spoor waarvan een volledig enkelvoudig DNA-profiel is opgenomen.

Voor het inschatten van de mogelijkheid dat de overeenkomst met een in de DNA-databank opgenomen DNA-profiel op toeval berust is o.a. van belang of er andere tactische of technische aanwijzingen zijn die de desbetreffende persoon met het delict in verband brengen.

De kans op een toevallige overeenkomst kan worden ingeschat op basis van het aantal in de DNA-databank opgenomen personen en de voor het DNA-profiel van het spoor berekende frequentie of inclusiekans.

Bijvoorbeeld: bij een DNA-profiel met een frequentie (of inclusiekans) van ± 1 op 10.000 en een DNA-databank met DNA-profielen van 200.000 personen, kunnen gemiddeld 20 'toevalstreffers' worden verwacht.

Waarschijnlijkheidsberekening: Het in een waarschijnlijkheidsberekening veronderstelde aantal donoren komt niet altijd overeen met het in eerste instantie vermelde minimale aantal donoren in een spoor. De reden hiervoor is dat het minimale aantal donoren in een DNA-profiel gedurende het onderzoek op verschillende manieren wordt bepaald:

- Het minimale aantal donoren in een spoor wordt eerst op basis van het aantal waargenomen allelen per STR bepaald: Eén of twee allelen kunnen afkomstig zijn van (minimaal) één donor, drie of vier allelen van minimaal twee donoren, enz. Hierbij wordt dus geen rekening gehouden met eventuele overeenkomsten of verschillen met de DNA-profielen van personen.
- Het minimale aantal donoren in de hypothesen voor de waarschijnlijkheidsberekening wordt bepaald op basis van de vergelijking van het spoor met een persoon: Indien bij deze vergelijking allelen in het DNA-profiel van het spoor worden waargenomen welke niet zijn waargenomen in het DNA-profiel van de vergeleken persoon, moeten deze allelen ofwel zijn veroorzaakt door een artefact, ofwel afkomstig zijn van één of meerdere onbekende DNA-donoren. Hoe meer allelen in het spoor niet bij de vergeleken persoon zijn waargenomen, hoe aannemelijker het wordt dat deze allelen afkomstig moeten zijn van één of meerdere onbekende DNA-donoren.

Massively Parallel Sequencing (MPS): Wanneer DNA-profielen zijn verkregen met behulp van Massively Parallel Sequencing (MPS) houdt dit in dat voor de succesvol geanalyseerde STRs zowel lengte-informatie als sequentie-informatie van de waargenomen allelen beschikbaar is. Een vergelijking van MPS-DNA-profielen met door andere laboratoria gegenereerde DNA-profielen of met eerder door het FLDO gegenereerde DNA-profielen, zal in de meeste gevallen enkel op basis van de lengte-informatie van de (autosomale) STRs kunnen worden uitgevoerd. Wellicht ten overvloede: Dit geldt ook voor een vergelijking met de DNA-profielen welke zijn opgenomen in DNA-databanken. Indien bij een dergelijke vergelijking een (mogelijke) overeenkomst wordt gevonden, kan het (mogelijk) overeenkomende DNA-profiel eveneens met behulp van MPS worden geanalyseerd om ook een vergelijking op basis van de sequentie-informatie van de STRs mogelijk te maken.

Y-chromosoom en mtDNA: Door de afwijkende manier van overerven van het Y-chromosoom en het mtDNA hebben alle in directe mannelijke lijn verwant mannen hetzelfde Y-haplotype en alle in directe vrouwelijke lijn verwante personen (mannen én vrouwen) dezelfde mtDNA-sequentie. Zelfs als twee personen tientallen generaties van elkaar verschillen en ogenschijnlijk geen familie van elkaar zijn, kan nog steeds sprake zijn van volledig identieke Y-haplotypes of mtDNA-sequenties.

In geval van een overeenkomst tussen de Y-haplotypes en/of mtDNA-sequenties van een spoor en een persoon kan daarom niet worden uitgesloten dat de daadwerkelijke DNA-donor in directe mannelijke of vrouwelijke lijn aan deze persoon verwant is. Daarnaast bestaat de kans dat twee personen per toeval hetzelfde Y-haplotype of dezelfde mtDNA-sequentie hebben. De rCRS wordt bijvoorbeeld in ongeveer 10% van alle Europeanen aangetroffen en het is niet aannemelijk dat deze personen allemaal in directe vrouwelijke lijn aan elkaar verwant zullen zijn. Hetzelfde geldt voor sommige Y-haplotypes. De kans op een toevallige overeenkomst kan worden ingeschat met behulp van de YHRD⁶ of de EMPOP database³.

DEFINITIES

Allel: De verschijningsvorm van een STR of SNP op het DNA. Bij STRs worden de allelen aangeduid met een cijfer wat staat voor het aantal keer dat het repeterend stukje DNA aanwezig is (de 'lengte' van de STR). Bij SNPs worden de allelen aangeduid met de afkorting van het waargenomen nucleotide (**A**, **T**, **C** of **G**).

Allelfrequentie: Een getal wat een inschatting geeft van hoe vaak een allel in een bepaalde populatie voorkomt.

Allelic drop-out / allelic drop-in^{a,b}: In sporen waarin weinig en/of afgebroken DNA aanwezig is, kan het voorkomen dat één of meerdere voor een STR aanwezige allelen niet in de PCR wordt waargenomen (drop-out) of dat een niet in het spoor aanwezig allel wel in de PCR wordt waargenomen (drop-in). Omdat deze verschijnselen willekeurig van aard zijn, is de kans dat in meerdere PCRs exact dezelfde drop-out of drop-in optreedt zeer klein. Mede hierom voeren wij voor sporen meerdere PCRs uit: Hoe vaker een allel wordt waargenomen, hoe kleiner de kans dat het drop-in betreft. En hoe vaker een allel niet wordt waargenomen, hoe groter de kans dat het daadwerkelijk niet aanwezig is in het spoor.

Chromosomen: De vorm waarin het DNA in biologisch materiaal voor komt. Iedere cel van het menselijk lichaam bevat 23 paar chromosomen. Van ieder paar komt één exemplaar van moeder en één exemplaar van vader.

Consensus: Bij DNA-profielen wordt van consensus gesproken, wanneer een overeenstemmend DNA-profiel uit de resultaten van twee of meerdere onafhankelijke PCRs is afgeleid en als betrouwbaar kan worden beschouwd. Voor de afleiding van een consensus DNA-profiel hanteert het FLDO de $n/2$ methode. Bij deze methode worden alleen allelen in het consensus DNA-profiel opgenomen welke in ten minste de helft (naar boven afgerond) van de uit de onafhankelijke PCRs verkregen DNA-profielen zijn waargenomen. Consensus DNA-profielen worden voornamelijk opgesteld voor het opnemen van DNA-profielen in de Nederlandse DNA-databank voor Strafzaken (of andere relevante DNA-databank).

D-loop: Afkorting van **D**isplacement-**l**oop, een gedeelte van het mtDNA waarvan de sequentie veel variatie vertoont tussen verschillende vrouwelijke familielijnen en daardoor gebruikt kan worden voor identificatiedoelinden. De D-loop wordt opgedeeld in drie hypervariabele regio's: HVR1 (bp 16024 – 16390), HVR2 (bp 57-357) en HVR3 (bp 438-547). Het FLDO onderzoekt alleen HVR1 en HVR2.

DNA: Afkorting van **D**eoxyribo **N**ucleic **A**cid (in het Nederlands: desoxyribonucleïnezuur), de stof in het lichaam die de drager is van de erfelijke eigenschappen. DNA wordt onderscheiden in:

- **Autosomaal DNA:** Autosomaal DNA (chromosoomparen 1 t/m 22) bevindt zich in de celkern en heeft een zeer groot onderscheidend vermogen. Alleen eenenige tweelingen hebben, op basis van de huidige beschikbare forensische analysemethoden, identieke autosomale DNA-profielen.
- **Geslachts-chromosomaal DNA:** Ook dit DNA (het X- en Y-chromosoom) bevindt zich in de celkern. Vrouwen hebben twee X-chromosomen, mannen één X- en één Y-chromosoom (m.u.v. enkele zeldzame genetische aandoeningen). Het Y-chromosoom wordt van vader op zoon onveranderd doorgegeven, waardoor alle in directe mannelijke lijn aan elkaar verwante mannen identieke Y-chromosomale DNA-profielen hebben.
- **Mitochondriaal DNA (mtDNA):** Het mtDNA bevindt zich buiten de celkern in de mitochondriën (de 'energiecentrales' van de cel). MtDNA wordt van moeder op kind onveranderd doorgegeven, waardoor alle in directe vrouwelijke lijn aan elkaar verwante personen (zowel mannen als vrouwen) identieke mtDNA-profielen hebben.

DNA-databank¹⁰: Een landelijke verzameling van DNA-profielen, welke zijn opgesteld in het kader van strafrechtelijk onderzoek en welke voldoen aan de opnamecriteria. De DNA-profielen in de DNA-databank bestaan uit verschillende aantallen STRs, afhankelijk van de gebruikte PCR kit. De meeste DNA-profielen in de DNA-databank zijn opgesteld m.b.v. de SGM+ kit (10 aSTRs), de NGM kit (15 aSTRs) of de PPF6C kit (23 aSTRs en 3 YSTRs).

DNA-extract: Het uit biologisch materiaal geïsoleerde DNA, opgelost in water of een speciaal voor de conservering van DNA geoptimaliseerd oplosmiddel.

DNA-profiel: Een grafische of tabelmatige weergave van de allelen welke voor één of meerdere STRs zijn waargenomen in het DNA van een spoor of een persoon. Hoe meer STRs kunnen worden onderzocht (dus hoe uitgebreider het DNA-profiel), hoe kleiner de kans dat twee personen, of een spoor en een persoon, per toeval overeenkomstige DNA-profielen hebben.

Het FLDO onderscheidt de volgende mogelijke onderzoeksresultaten:

- **Geen voor vergelijking geschikt DNA-profiel:** Op het DNA van een spoor of een persoon zijn één of meerdere PCRs uitgevoerd, waarvan de resultaten ofwel te zwak waren om te kunnen interpreteren ofwel in het geheel niet met elkaar overeenstemden. Als de resultaten van de afzonderlijke PCRs niet met elkaar overeenstemmen, is niet te bepalen of de waargenomen resultaten van de afzonderlijke PCRs het gevolg zijn

van technische artefacten of van daadwerkelijk aanwezig DNA. Deze resultaten, zowel gecombineerd als individueel, zijn daarom niet bruikbaar voor een (al dan niet handmatig) vergelijkend onderzoek met de DNA-profielen van personen of andere sporen. Wij rapporteren dit niet als 'geen resultaat', aangezien het mogelijk is dat van een dergelijk spoor wel een DNA-profiel kan worden verkregen wanneer gevoeligere technieken voor DNA-onderzoek beschikbaar worden.

- **Een (consensus) DNA-profiel bestaande uit n aSTRs (en n YSTRs):** Op het DNA van een spoor of een persoon zijn meerdere onafhankelijke PCR's uitgevoerd. De resultaten van deze PCR's zijn van dusdanige kwaliteit dat deze gebruikt kunnen worden voor vergelijkend onderzoek. De individuele resultaten stemden zodanig met elkaar overeen dat het mogelijk was tot een consensus te komen. Een dergelijk consensus DNA-profiel is meestal geschikt voor opname in de Nederlandse DNA-databank voor Strafzaken.

- **Een (consensus) DNA-mengprofiel bestaande uit n aSTRs (en n YSTRs):** DNA-profielen die voldoen aan de hierboven vermelde condities, maar die zijn ontstaan door vermenging van celmateriaal van meerdere personen. Wanneer voor één of meer STRs meer dan 2 allelen reproduceerbaar worden waargenomen, is in principe sprake van een DNA-mengprofiel. Aangezien iedere persoon maximaal 2 verschillende allelen per STR heeft, geeft het totale aantal verschillende allelen wat per STR is waargenomen een indicatie van het minimale aantal personen wat aan het DNA-mengprofiel moet hebben bijgedragen (3 of 4 allelen = ten minste 2 personen, 5 of 6 allelen = ten minste 3 personen, enz.). Ook DNA-mengprofielen zijn, over het algemeen, geschikt voor vergelijkend onderzoek.

LET OP: Bij kleine aantallen STRs met meer dan 2 allelen kan sprake zijn van allelic drop-in i.p.v. een extra persoon. Een dergelijk resultaat rapporteren wij daarom als een DNA-(meng)profiel zonder specificatie van een minimaal aantal donoren. Bij grotere aantallen STRs met meer dan 2 allelen wordt een extra persoon aannemelijker dan allelic drop-in. Dit rapporteren wij daarom als een DNA-mengprofiel met specificatie van een minimaal aantal donoren.

Een consensus DNA-mengprofiel is vaak ongeschikt voor opname in de Nederlandse DNA-databank voor Strafzaken, maar kan meestal wel éénmalig worden vergeleken met de in de DNA-databank aanwezige DNA-profielen van personen. Zowel bij zoeken in de databank als bij 1 op 1 vergelijken geldt: Hoe groter het minimale aantal donoren, hoe groter de kans dat een persoon per toeval niet kan worden uitgesloten als mogelijke donor van een deel van het DNA in het spoor.

EMPOP database³: EDNAP Mitochondrial DNA Population Database, een verzameling van >45.000 mtDNA-sequenties van anonieme vrijwilligers over de gehele wereld (het FLDO gebruikt altijd de meest actuele versie).

Eliminatie-databank: Een eliminatie-databank bevat DNA-profielen van personen die beroepsmatig, direct of indirect, met onderzoeksmateriaal in aanraking kunnen zijn gekomen.

- De FLDO-eliminatie-databank bevat DNA-profielen van personen die binnen het FLDO met het onderzoeksmateriaal in aanraking kunnen komen.

- De NFI-eliminatie-databank bevat DNA-profielen van personen die gedurende het gehele onderzoekstraject met het onderzoeksmateriaal in aanraking kunnen komen (o.a. medewerkers van de Nederlandse forensische laboratoria en politiemedewerkers).

FLDO-controlebestand: Een groot databestand waarin de autosomale en Y-chromosomale DNA-profielen van anonieme Nederlandse vrijwilligers zijn opgenomen^{11,12}. Indien statistiek wordt uitgevoerd door het FLDO, wordt gebruik gemaakt van dit databestand, tenzij expliciet anders wordt vermeld. Als in een DNA-profiel een allel wordt waargenomen wat niet voorkomt in het FLDO-controlebestand en hiervoor statistiek wordt uitgevoerd, wordt gerekend met een 'fictieve' allelfrequentie welke wordt berekend als $1/n+1$. Hierbij is n gelijk aan het aantal chromosomen in het FLDO-controlebestand (= 2 maal het aantal personen).

FLDO-YSNP-bestand: Een niet publiek toegankelijk databestand bestaande uit ca. 50.000 Y-haplogroepen van anonieme vrijwilligers over de gehele wereld, door het FLDO samengesteld uit verschillende wetenschappelijke publicaties. De Y-haplogroepen van het FLDO-controlebestand zijn niet opgenomen in het FLDO-YSNP-bestand.

Haplogroep: Een DNA-profiel bestaande uit de typering van een aantal SNPs, welke op hetzelfde chromosoom voorkomen en als één geheel overerven. Iedere haplogroep is opgebouwd uit een unieke combinatie van SNP-typering. Doordat de SNPs als één geheel overerven is het vaak mogelijk om op basis van een onvolledig resultaat in een SNP-onderzoek toch de haplogroep te herleiden.

Haplotype: Een DNA-profiel bestaande uit de typering van een aantal STRs, welke op hetzelfde chromosoom voorkomen en als één geheel overerven.

Kwantificatiereactie: Een specifiek soort PCR waarmee een inschatting kan worden gemaakt van de hoeveelheid DNA in een DNA-extract.

NEN-EN-ISO/IEC 17025: De Europese norm die de algemene eisen voor de bekwaamheid van beproevings- en kalibratielaboratoria beschrijft.

Nieuwe Ronde Nieuwe Kansen (NRNK): Als een eenmalige zoekactie in de Nederlandse DNA-databank voor strafzaken geen overeenkomsten oplevert, kan de DNA-deskundige het spoor aanbieden voor NRNK. Dit houdt in dat met de resultaten van het spoor eens per twee maanden, tot een jaar na de datum van aanbieden, een hernieuwde eenmalige zoekactie zal worden uitgevoerd. Bij zo'n hernieuwde zoekactie worden de resultaten van het spoor vergeleken met alle DNA-profielen van personen die sinds de vorige zoekactie aan de Nederlandse DNA-databank voor strafzaken zijn toegevoegd of zijn opgewaarderd.

Nucleotiden: De bouwstenen waaruit DNA is opgebouwd. De nucleotiden worden afgekort tot **A** (Adenine), **T** (Thymine), **C** (Cytosine) en **G** (Guanine).

PCR: Afkorting van Polymerase Chain Reaction, de chemische reactie waarmee specifieke delen van het DNA (in forensisch onderzoek meestal STRs) vele miljoenen malen worden gekopieerd. Deze kopieën worden PCR-producten genoemd. Als het DNA-profiel met capillaire elektroforese zichtbaar gemaakt zal worden, worden de PCR-producten tijdens deze reactie voorzien van een fluorescerend label. Voor het uitvoeren van de PCR worden, zo veel mogelijk, commercieel verkrijgbare kits gebruikt, waarmee meerdere autosomale STRs (aSTRs) en/of Y-chromosomale STRs (YSTRs) gelijktijdig gekopieerd worden. Het FLDO maakt gebruik van:

- **PCR kits voor Capillaire Elektroforese (CE):**

- Powerplex® Fusion (22 aSTRs, 1 YSTR), Powerplex® 35GY (23 aSTRs, 10 YSTRs) en Powerplex® Y23 (22 YSTRs) van Promega¹³.

- Verifiler™ Plus (23 aSTRs, 1 Y-chromosomale insertie/deletie) van ThermoFisher Scientific¹⁴.

- **PCR kits voor Massively Parallel Sequencing (MPS):** PowerSeq® 46GY System (22 aSTRs, 22 YSTRs) van Promega¹³.

revised Cambridge Referentie Sequentie (rCRS): Een internationale standaard waarmee mtDNA-profielen worden vergeleken. De waargenomen verschillen ten opzichte van de rCRS worden gerapporteerd d.m.v. een internationaal bepaalde naamgevingsmethode.

Sequentie: Een DNA-profiel waarin de exacte volgorde van de nucleotiden van een stukje DNA is weergegeven. Dit type DNA-profiel wordt bijvoorbeeld bepaald bij MPS-onderzoek en bij de analyse van mtDNA. Voor sequentieanalyse zijn vaak enkel de belangrijkste chemicaliën commercieel verkrijgbaar. In dergelijke gevallen maakt het FLDO gebruik van een gedeeltelijk door het laboratorium zelf ontworpen en gevalideerde methode, waarvan op verzoek een geautoriseerde kopie beschikbaar gesteld kan worden.

SmartRank: Een door het NFI ontwikkelde software welke wordt gebruikt bij het eenmalig zoeken in de DNA-databank. SmartRank vergelijkt het DNA-profiel van iedere in de DNA-databank opgenomen persoon met de resultaten van het spoor waarmee wordt gezocht en berekent een LR voor alle mogelijke overeenkomsten. Alleen personen waarvoor de LR hoger is dan een door de DNA-deskundige ingestelde grenswaarde, worden in het resultaat van de zoekactie weergegeven als mogelijke match met het spoor.

SNP: Afkorting van Single Nucleotide Polymorphism; een verandering van één enkele nucleotide op een bepaalde plaats in het DNA. Men bestudeert bij SNP-onderzoek de plaatsen op het DNA waar, gedurende de evolutie, het 'oertype' nucleotide (bijvoorbeeld **G**) is veranderd in een ander type nucleotide (bijvoorbeeld **A**). Voor SNP-analyse zijn enkel de belangrijkste chemicaliën commercieel verkrijgbaar. Derhalve maakt het FLDO gebruik van een gedeeltelijk door het laboratorium zelf ontworpen en gevalideerde methode, waarvan op verzoek een geautoriseerde kopie beschikbaar gesteld kan worden.

Statistiek: Een rekenkundige onderbouwing van de waargenomen DNA-resultaten.

In geval van vergelijkend DNA-onderzoek voert het FLDO enkel statistiek uit voor autosomale DNA-profielen en volgt bij het uitvoeren van statistiek de adviezen van de National Research Council van de USA^{15,16}.

Afhankelijk van de waarnemingen worden verschillende berekeningen uitgevoerd, al dan niet met correctie voor de populatiestructuur¹⁷.

- **Likelihood Ratio (LR):** Deze waarde geeft aan hoe veel waarschijnlijker of onwaarschijnlijker het waarnemen van een bepaald DNA-profiel is onder aanname van specifieke hypothesen. Deze waarde wordt berekend voor enkelvoudige DNA-profielen of DNA-mengprofielen waarmee een (mogelijke) overeenkomst is gevonden met het DNA-profiel van een persoon.

- **Match Probability (MP):** De kans dat een waargenomen DNA-profiel bij een willekeurig gekozen persoon uit een bepaalde populatie voorkomt. Deze waarde kan worden berekend voor enkelvoudige DNA-profielen van sporen waarmee ofwel geen overeenkomst met het DNA-profiel van een persoon is gevonden ofwel een (mogelijke) overeenkomst is gevonden met een DNA-profiel van een persoon én geen aanwijzingen zijn gezien dat in het DNA-profiel van het spoor allelic drop-in of allelic drop-out kan zijn opgetreden.

- **Random Man Not Excluded waarde (RMNE):** een inschatting van de kans dat een willekeurig uit een bepaalde populatie gekozen persoon niet kan worden uitgesloten als donor van een deel van het in een spoor aanwezige DNA. Deze waarde kan worden berekend voor DNA-mengprofielen waarmee geen overeenkomsten met DNA-profielen van personen zijn gevonden.

In geval van DNA-onderzoek naar geografische origine wordt geen statistiek uitgevoerd. Er wordt enkel gekeken naar de mate van voorkomen van de waargenomen DNA-profielen in verschillende delen van de wereld: Het deel van de wereld waar het waargenomen DNA-profiel het meest frequent voor komt, is de meest aannemelijke regio van origine van de (voorouders van de) DNA-donor.

Statistiek software: Het berekenen van waarschijnlijkheidswaarden in geval van een (mogelijke) overeenkomst met het DNA-profiel van een persoon gebeurt met speciaal daarvoor ontwikkelde software. Het FLDO gebruikt hiervoor de software EFMrep¹⁸. Deze software berekent een LR (hier worden dus altijd 2 hypothesen vergeleken). De berekening wordt uitgevoerd op basis van de afzonderlijke resultaten van alle voor het spoor uitgevoerde PCRs en bij deze berekening wordt rekening gehouden met de mogelijkheid dat in de individuele PCR-resultaten van een spoor allelic drop-in en/of allelic drop-out kan zijn opgetreden.

STR: Afkorting van **Short Tandem Repeat**; een gebied op het DNA waarin een bepaalde korte combinatie van nucleotiden zich een aantal malen herhaalt (bv. **CCAT CCAT CCAT CCAT**). Het aantal herhalingen vertoont grote variatie tussen verschillende personen, resulterend in lengteverschillen (= de allelen). Daarnaast kan de sequentie van de STR kleine verschillen vertonen (bv. **CCAT CCAT CGAT CCAT** in plaats van **CCAT CCAT CCAT CCAT**). STRs komen enkel voor op het DNA wat zich in de celkern bevindt: Per autosomale STR (aSTR) heeft iedere persoon twee gelijke (homozygoot) of twee verschillende (heterozygoot) allelen. Voor de meeste Y-chromosomale STRs (YSTR) heeft iedere man één allel, maar voor een klein aantal YSTRs kan men ook meer dan één allel hebben.

Verskillende analysemethoden: De met behulp van PCR verkregen PCR-producten van STRs kunnen met behulp van verschillende technieken worden vertaald naar een DNA-profiel:

- **Capillaire Elektroforese (CE):** Bij CE wordt alleen de lengte van de PCR-producten in kaart gebracht. Allelen met dezelfde lengte, maar verschillende sequenties, kunnen met behulp van CE niet van elkaar worden onderscheiden.

- **Massively Parallel Sequencing (MPS):** Bij MPS wordt naast de lengte ook de exacte sequentie van de PCR-producten zichtbaar gemaakt. Met behulp van MPS is het dus ook mogelijk eventuele verschillen tussen allelen van gelijke lengte zichtbaar te maken.

BELANGRIJK: Ondanks het grotere onderscheidende vermogen, wordt MPS enkel in uitzonderlijke gevallen door het FLDO gebruikt. Eén van de voornaamste redenen hiervoor is dat tot voor kort enkel CE beschikbaar was, waardoor o.a. alle DNA-profielen in DNA-databanken enkel CE-gegevens bevatten. Daarnaast is MPS een veel arbeidsintensievere en duurdere methode dan CE.

YHRD⁶: **Y Chromosome Haplotype Reference Database**, een verzameling van >300.000 Y-haplotypes en >30.000 Y-haplogroepen van anonieme vrijwilligers over de gehele wereld (het FLDO gebruikt altijd de meest actuele versie). De Y-haplotypes en Y-haplogroepen van het FLDO-controlebestand zijn ook opgenomen in de YHRD.

REFERENTIES

1. Quintans B, Alvarez-Iglesias V, Salas A, Philips C, Lareu MV and Carracedo A. **Typing of mitochondrial DNA coding region SNPs of forensic and anthropological interest using SNaPshot minisequencing.** *Forensic Sci Int* 2004; Mar 10: 140 (2-3): 251-257.
2. Brandstatter A, Parsons TJ and Parson W. **Rapid screening of mtDNA coding region SNPs for the identification of European Caucasian haplogroups.** *Int J Legal Med* 2003; Oct: 117 (5): 291-298.
3. <https://empop.online>
4. Karafet TM, Mendez FL, Hammer MF. **New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y-chromosomal haplogroup tree.** *Genome Res* 2008; 18: 830-838.
5. Myres NM, Rootsi S, Underhill PA. **A major Y-chromosome haplogroup R1b holocene era founder effect in Central and Western Europe.** *Eur J Hum Gen* 2011; 19: 95-101.
6. <https://yhrd.org>
7. Chiaroni J, Underhill PA and Cavalli-Sforza LL. **Y chromosome diversity, human expansion, drift, and cultural evolution.** *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106: 30174-20179.
8. <https://unstats.un.org/unsd/methodology/m49/>
9. A.J. Meulenbroek. **De Essenties van forensisch biologisch onderzoek; Humane biologische sporen en DNA.** Vijfde herziene druk, Uitgeverij Paris, 2009, ISBN: 9789077320822.
- a. Hoofdstuk 9: Context van de match.
- b. Hoofdstuk 8: Onvolledige DNA-profielen, DNA-mengprofielen en DNA-onderzoek van minimale biologische sporen.
10. <https://dnadatabank.forensischinstituut.nl/>
11. Westen AA et al. **Comparing six commercial autosomal STR kits in a large Dutch population sample.** *Forensic Sci Int Genet* 2014; 10: 55-63.
12. Westen AA et al. **Analysis of 36 Y-STR marker units including a concordance study among 2085 Dutch males.** *Forensic Sci Int Genet* 2015; 14: 174-81.
13. <http://www.promega.com>
14. <http://www.thermofisher.com>
15. National Research Council. **DNA technology in forensic science.** *National Academy Press* 1992.
16. National Research Council. **The evaluation of Forensic DNA evidence.** *National Academy Press* 1996.
17. Gill P et al. **A comparison of adjustment methods to test the robustness of an STR DNA database comprised of 24 European populations.** *Forensic Sci Int* 2003; 131:184-196.
18. Bleka O, Prieto L, Gill P. **EFMrep: An extension of EuroForMix for improved combination of STR DNA mixture profiles.** *Forensic Sci Int Genet* 61 (2022) 102771.