

Efficiencyslag in profilering en kwaliteitsverhoging

NFI robotiseert DNA-onderzoek

Met een nieuwe robotlijn kan het Nederlands Forensisch Instituut DNA-profielen van een grote groep veroordeelden automatisch analyseren. Ook het DNA-onderzoek van sporen gaat sinds kort grotendeels gerobotiseerd.

Door Els van den Brink, gepubliceerd in april 2008 in het Laboratorium Magazine

Een weggegooid stukje kauwgom, een bloedspetter of zelfs een huidschilfer op de kleding van een slachtoffer. Dat kan voor forensische onderzoekers genoeg zijn om een DNA-profiel te bepalen. DNA-profielen kunnen een belangrijke bijdrage leveren aan de oplossing van een delict. Dat zal in de toekomst alleen maar meer worden, nu van steeds meer veroordeelden het DNA-profiel wordt opgeslagen in de Nederlandse DNA-databank. Sinds 2005 gebeurt dat voor alle veroordeelden van ernstige gewelds- en zedendelicten, vanaf 2009 ook voor personen die zijn veroordeeld voor een misdrijf waarvoor een gevangenisstraf staat van vier jaar of meer. Met de steeds beter wordende technologie wordt de kans op het verkrijgen van een bruikbaar DNA-profiel steeds groter. Dankzij deze ontwikkelingen krijgt het Nederlands Forensisch Instituut (NFI) in Den Haag een groeiende stroom DNA-analyses te verwerken. Vandaar dat het DNA-laboratorium binnen het NFI begin 2008 een nieuwe robotlijn in gebruik heeft genomen voor het DNA-onderzoek van referentiemateriaal. Het gaat om wangslimvlies van veroordeelden. Bovendien is het geautomatiseerde DNA-onderzoek van sporen uitgebreid.

Capaciteit

Het DNA-onderzoek van wangslimvlies van veroordeelden vloeit voort uit een nieuwe wet uit 2005. Wiljo de Leeuw, hoofd van het DNA-laboratorium van het NFI, legt uit: "Bij de eerste fase van de nieuwe wet gaat het jaarlijks om 20.000 tot 30.000 DNA-analyses. Als in 2009 de tweede fase van deze wet ingaat, komen daar naar verwachting nog zo'n 50.000 analyses per jaar bij. Met de nieuwe robotlijn zijn we daarop voorbereid. Op dit moment is de capaciteit van tachtigduizend per jaar nog niet helemaal bereikt, maar de basis staat er. Nu is het alleen nog een kwestie van uitbouwen."

PCR

De robotlijn van Tecan bestaat uit vier verschillende apparaten, verdeeld over twee ruimtes. Het eerste isoleert DNA uit het wangslimvlies van veroordeelden, met zo'n tachtig monsters tegelijk. Drie uur later is het DNA gereed voor de volgende stap, en gaat het naar een pipetteerrobot. Hierin wordt volautomatisch het DNA gekwantificeerd, genormaliseerd en vermenigvuldigd. Voor de kwantificering meet het apparaat door middel van een aan het DNA bindende fluorescerende stof hoeveel DNA in de verschillende monsters aanwezig is. Daarna wordt het volume van de verschillende monsters aangevuld, zodat de concentratie in de oplossingen vergelijkbaar is. Tenslotte worden tien strategische plaatsen op het DNA massaal gekopieerd door de *polymerasekettingreactie* (PCR). Ze vallen onder de *hypervariabele* gebieden (zie kader). Tegelijkertijd wordt het geslacht vastgesteld. "Dit is een heel bijzonder apparaat", wijst De Leeuw enthousiast. "Er zijn maar weinig

leveranciers die deze drie stappen in één apparaat geïntegreerd hebben. Wij waren op zoek naar moderne technologie die zich al bewezen had. Dat bleek hier geval te zijn.”

DNA-profiel

Na de PCR gaat het DNA via een speciaal luik naar een tweede laboratoriumruimte. De Leeuw: “Het eerste deel van het proces, vóór de PCR, is heel gevoelig voor contaminatie. Vandaar dat het gebeurt in een ruimte met overdruk, compleet gescheiden van de rest van het proces. Hier gelden zeer strenge werkvoorschriften om contaminatie te voorkomen.” Na de passage naar de andere PCR-ruimte is het proces minder contaminatiegevoelig. Hier voegt een tweede pipetteerrobot een aantal reagentia toe aan het gekopieerde DNA, waarna de uiteindelijke analyse kan plaatsvinden door capillaire elektroforese. Deze techniek vertoont overeenkomsten met *high performance* vloeistofchromatografie (HPLC). Wel is het gebaseerd op een ander scheidingsprincipe. De DNA-moleculen in oplossing stromen door een capillair onder hoogspanning en worden gescheiden naar lading, massa en ruimtelijke vorm. Dat levert een piekenpatroon op: het DNA-profiel.

Kwaliteitsverhoging

Het laatste onderdeel van de robotlijn, de automatische data-analyse, is minstens zo essentieel. De Leeuw: “We hebben een aantal analytische criteria opgesteld. Daarmee kan de computer zelf vaststellen of de resultaten van een analyse goed genoeg zijn. Bij vijftien procent van de monsters blijkt dat het geval te zijn. Van deze monsters wordt het DNA-profiel direct opgenomen in de Nederlandse DNA-databank voor strafzaken, zonder dat er nog mensen aan te pas komen.” Een van de controles die de computer uitvoert, is een test op kruisbesmetting. Het zou namelijk kunnen gebeuren dat door spatten het DNA van twee monsters vermengd raakt. De Leeuw: “Bij de validatie van de robotlijn hebben we dat geen enkele keer gedetecteerd, maar voor de zekerheid hebben we deze controle toch opgenomen. Eerder voerden we deze controle handmatig uit, door alle DNA-profielen te printen en naast elkaar te leggen. De nieuwe robotlijn biedt dus niet alleen een efficiëntieverbetering, maar ook een kwaliteitsverhoging.”

FSS-expertise

Het NFI hoefde de nieuwe robotlijn niet helemaal zelf uit te denken. “We hebben samengewerkt met de *Forensic Science Service* (FSS), een forensisch laboratorium in Engeland. Zij hadden vijf jaar geleden een soortgelijke robotlijn opgezet. We hebben ze gevraagd om hun kennis en expertise bij ons in te zetten. De afgelopen periode kwamen hier wekelijks FSS-medewerkers langs om ons te ondersteunen.” De nieuwe robotlijn is in principe dan ook hetzelfde als de robotlijn in Engeland, zij het dat het NFI beschikt over nieuwere versies van de verschillende onderdelen.

Halfautomatisch

Tegelijkertijd heeft het NFI ook het sporenonderzoek uitgebreid. De Leeuw: “De focus lag hier net even anders. Bij het onderzoek van referentiemateriaal van personen ging het om een bestaande onderzoeksmethode, waarvoor we nieuwe apparatuur hebben aangeschaft voor de automatisering. Bij het sporenonderzoek hadden we de apparatuur grotendeels al wel op orde. In dit geval hebben we echter de methodiek aangepast. We kunnen nu meer verschillende sporen automatisch verwerken.”

Tot voor kort waren er binnen het DNA-laboratorium twee mogelijkheden voor sporenonderzoek. Forensisch onderzoek bij kleine criminaliteit zoals een autodiefstal of een woninginbraak, verliep al

grotendeels automatisch. Het ging dan om sporen op kauwgom, sigarettenpeuken, bloed en speeksel. Bij alle andere zaken was het sporenonderzoek maatwerk. De laatste jaren was het aantal zaken echter zo sterk toegenomen, dat hierin een flinke achterstand was ontstaan. Met de nieuwe halfautomatische methodiek heeft het NFI deze achterstand volledig kunnen wegwerken. Het NFI is nu in staat om binnen twee tot drie weken na de aanlevering van de sporen het DNA-profiel af te geven. De deels geautomatiseerde werkwijze wordt met name ingezet voor sporen die horen bij gewapende overvallen en opiumdelicten. Voor de zwaarste delicten zoals zedenzaken, moord en doodslag, blijft het onderzoek nog handwerk. De komende twee jaar wil het NFI nog verder investeren om ook dit onderzoeksproces te versnellen, met behoud van kwaliteit.

Verontreinigde cellen

In de nieuwe halfautomatische onderzoeksmethode is een aantal protocollen zo aangepast dat deze voor meerdere typen sporen toepasbaar zijn. “Daardoor wordt een maximaal resultaat behaald”, vervolgt De Leeuw. Zo kunnen bijvoorbeeld minimale sporen van speeksel en bloed met dezelfde methode worden onderzocht als complexere sporen, zoals huidschilfers op een kraag of masker. Voor het meten van dergelijke sporen moesten in de protocollen de reagentia en incubatietijden worden aangepast, zodat de analyses een beter resultaat opleverden. Ook de methode om sporen veilig te stellen is vernieuwd. Sommige bestaande methoden waren namelijk niet geschikt voor automatische verwerking. Zo bleek bijvoorbeeld dat de genoemde huidschilfers het beste met een speciaal stukje tape veilig gesteld konden worden. “Met name de eerste stap in het proces, de isolatie van DNA, hebben we echt verbeterd”, vertelt De Leeuw. Dat is ook het meest complexe onderdeel, legt hij uit. “Technisch gezien kunnen we uit vijf tot tien cellen al voldoende DNA halen om een DNA-profiel te maken. Maar dat is niet de praktijk. In de praktijk zijn de cellen veelal verontreinigd op het bewijsmateriaal, soms met stoffen die de isolatie van DNA bemoeilijken. De sporen hebben vaak buiten gelegen in de regen of de zon, waardoor de kwaliteit achteruit is gegaan. Met name dat soort factoren bepalen of je een goed DNA-profiel kan maken. Met de nieuwe technologie zijn we toch in staat om van zulke moeilijke sporen een DNA-profiel te maken.”

Typerend DNA

Voor het maken van een DNA-profiel analyseert het NFI een aantal stukken van het DNA die per persoon sterk verschillen. Het gaat om de *hypervariabele* gebieden, waarvan de functie nog niet duidelijk is. Deze gebieden bestaan uit een aantal repeterende stukjes DNA. Het aantal keer dat zo'n stukje wordt herhaald, verschilt van persoon tot persoon. Omdat alle chromosomen dubbel aanwezig zijn (geërfd van de moeder en van de vader), kunnen de hypervariabele gebieden in maximaal twee varianten voorkomen. Het NFI onderzoekt standaard tien hypervariabele gebieden plus nog een gebied op de geslachtschromosomen om het geslacht te bepalen. Een volledig DNA-profiel van een persoon wordt weergegeven als een grafiek met voor elk onderzocht hypervariabele gebied één of twee pieken. De kans dat een willekeurig gekozen persoon een DNA-profiel heeft dat gelijk is aan het DNA-profiel van een verdachte is kleiner dan één op één miljard. Voor verwante personen is die kans vele malen groter. Als een spoor een onvolledig DNA-profiel oplevert (waarbij minder dan tien hypervariabele gebieden zijn bepaald), is de kans op een *match* groter, en daarmee de bewijswaarde lager.