

# FORENSISCH DNA-ONDERZOEK

## HET PRACTICUM

Melanie Rosenhart werkt bij het Nederlands Forensisch Instituut (NFI). Bij het NFI werken wetenschappers die allerlei vragen proberen te beantwoorden die met strafrecht te maken hebben. In dit practicum ga je zelf als forensisch onderzoeker aan de slag. Je expertise is DNA-onderzoek. De officier van justitie heeft je de opdracht gegeven om het DNA uit een bloedspoor te analyseren dat gevonden is bij moordzaak. Het DNA van de plaats delict (de crime scene) moet vergeleken worden met het DNA van het slachtoffer en met dat van drie verdachten.

*“Het bloedspoor gevonden op de plaats delict moet onderzocht worden op de aanwezigheid van celmateriaal, teneinde een DNA-profiel te maken, waarna het verkregen DNA-profiel vergeleken dient te worden met de profielen van de gearresteerde – of nog te arresteren – verdachten en het slachtoffer in deze zaak. Wanneer er geen match wordt gevonden moet het gevonden DNA-profiel worden bewaard in de profielendatabse, en vergeleken worden met andere profielen in de database.”*

Bij DNA-onderzoek komen zowel praktische vaardigheden als het nodige denkwerk kijken. Het eindresultaat van het onderzoek is een officieel rapport voor de officier van justitie. Het is belangrijk dat je je realiseert dat de uitspraak van de jury in deze moordzaak – in ieder geval voor een deel – gebaseerd zal zijn op je analyse. Het is dus heel belangrijk om nauwkeurig te werken.

Het DNA is al geïsoleerd (uit de cellen gehaald). Er moeten nu dus DNA-profielen gemaakt worden. Dat gaat grofweg in de volgende stappen:

- target DNA kopiëren met PCR (Polymerase Chain Reaction)
- DNA scheiden met gelelektroforese
- DNA op gel zichtbaar maken

Daarna kunnen de DNA-profielen geanalyseerd worden. In deze handleiding wordt stap voor stap uitgelegd wat je moet doen.

Veel plezier!

## BENODIGDHEDEN

Voor je onderzoek heb je de volgende materialen en apparatuur nodig. Dit zijn de benodigdheden voor één groepje, tenzij anders wordt aangegeven. Let op: in de beschrijving van het practicum wordt er van uitgegaan dat de agarose gels voor de gelelektroforese al gegoten zijn (of dat je kant-en-klare gels gebruikt). In de docentenhandleiding die bij dit practicum hoort wordt beschreven hoe je zelf gels kunt gieten.

### *de monsters*

- 1 epje met DNA van de plaats delict (PD)
- 1 epje met DNA van het slachtoffer (SL)
- 3 epjes met DNA van de drie verdachten (V1 t/m V3)

### *voor de PCR*

- 5 kleine PCR-epjes (0,2 ml) met daarin een zogenaamde 'PCR-korrel'
- 1 epje met primers
- een micropipet met instelbaar volume (2-20 µl) en pipetpuntjes
- een markeerstift
- een microcentrifuge (vier per klas)
- een PCR-apparaat (één voor de hele klas)

### *voor de gelelektroforese*

- een agarosegel (één per groepje of één per twee groepjes)
- elektroforesebuffer
- gel loading solution
- een horizontale gelelektroforesetank (één per twee groepjes)
- voeding voor de gelelektroforese (één per acht groepjes)
- 1 epje met DNA-ladder

### *voor het kleuren*

- kleuring (FlashBlue vloeistof)
- een plastic bakje
- een UV-lamp
- een lichtbak

Let op: hou epjes of flesjes waar DNA in zit niet te lang bij kamertemperatuur. Zet ze bij voorkeur zo snel mogelijk weg in één van de (Dyna Chill) koelers.

## WERKWIJZE

De *crime scene investigators* hebben monsters verzameld en een collega van je heeft daar DNA uit geïsoleerd. Jullie gaan nu DNA-profielen maken. Dat gaat grofweg in de volgende stappen:

- target DNA kopiëren met PCR (Polymerase Chain Reaction)
- DNA scheiden met gelelektroforese
- DNA op gel zichtbaar maken

Daarna kunnen de DNA-profielen geanalyseerd worden. Hieronder wordt stap voor stap uitgelegd wat je moet doen. Bij sommige stappen moet je even wachten. Je kan dan alvast met de verwerkingsvragen aan de slag of – als je die nog niet gedaan hebt – de vragen van de voorbereidende les.

### A. PCR

1. Label de vijf kleine PCR-epjes (0,2 ml) met de markeerstift, zodat je steeds kan zien welk monster in welk epje zit. Gebruik de volgende afkortingen: PD (bloedmonster van de plaats delict), SL (slachtoffer) en V1 t/m V3 (verdachte 1 t/m 3). Als er meerdere groepjes in de klas zijn die hetzelfde onderzoek doen, schrijf dan ook het nummer van je groep op de epjes.
2. Controleer of het korreltje helemaal onder in het epje zit. Tik anders even met je vinger tegen het epje.
3. Pipetteer in elk PCR-epje 20 µl primermix. Als je nog nooit met een pipet hebt gewerkt, lees dan de handleiding van het pipet goed door en oefen het pipetteren met een beetje water.
4. Het is handig om de epjes met de monsters van tevoren even te centrifugeren in de microcentrifuge zodat alle vloeistof in het puntje terecht komt.
5. Breng nu ook de monsters over in de PCR-epjes; pipetteer van elk monster 5 µl in het juiste epje. Let op: gebruik voor ieder monster een nieuw pipetpuntje.
6. Schud de epjes voorzichtig een paar keer heen en weer.
7. *Doe deze stap samen met je docent.* Plaats de epjes in het PCR-apparaat. Kies het protocol FOR DNA OND en druk op *Run*. Het PCR-programma duurt ongeveer een uur. Begin ondertussen met de verwerkingsvragen.
8. Als het PCR-programma is afgerond, pipetteer dan in elk epje 5 µl gel loading solution.
9. Je kunt nu meteen door met de volgende stap (gelelektroforese), of dat op een later moment doen (bijvoorbeeld de volgende les). In dat geval moeten de epjes met de monsters zolang in het vriesvak bewaard worden.

### B. GELELEKTROFORESE

10. Leg de gel in het gelelektroforeseapparaat, met de gaatjes ('slotjes') aan de kant van de negatieve (zwarte) pool.
11. Giet de elektroforesebuffer in het gelapparaat, zodat de gel helemaal onder de vloeistof staat.

12. Verwarm de vijf epjes met de monsters en het epje met de DNA-ladder twee minuten lang op ongeveer 50°C. Hier kun je een waterbad voor gebruiken, of een bekertje warm water.
13. Laat de epjes even afkoelen.
14. Pipetteer de inhoud van de DNA-ladder (30 µl) in het eerste slotje van de gel. Hou het pipetpuntje nét onder het vloeistofoppervlak, in een hoek van 45°, en druk de pipet langzaam leeg.
15. Pipetteer op dezelfde manier de monsters (30 µl) in de slotjes. Let op: noteer bij de resultaten alvast welk monster in welk slotje terecht komt.
16. Doe het deksel op de elektroforesetank en sluit de snoeren aan op de voeding. Let er steeds op dat het rode snoer verbonden is met de rode pluggen, en het zwarte snoer met de zwarte.
17. Zet de voeding aan, stel het voltage in op 125 Volt en laat het elektroforeseapparaat 60 minuten lopen. Als het goed is zie je nu gasballetjes ontstaan aan de elektroden. Hou de tijd in de gaten.
18. Schakel na 60 minuten de voeding uit en haal het deksel van het elektroforeseapparaat.

## C. KLEUREN EN ONTKLEUREN

19. Doe plastic wegwerphandschoenen aan.
20. Haal de gel voorzichtig uit de plastic houder en leg hem in een bakje.
21. Giet 75 ml kleurvloeistof (FlashBlue) over de gel. Let op: FlashBlue krijg je erg moeilijk uit je kleren. Zorg dat de gel helemaal ondergedompeld is. Schud het bakje voorzichtig een beetje heen en weer. Laat het bakje 5 minuten staan.
22. Giet de kleurvloeistof voorzichtig terug in een maatbeker (de kleurvloeistof kun je hergebruiken).
23. Giet nu lauwwarm water (niet warmer dan 37°C) over de gel. Zorg dat de gel helemaal ondergedompeld is. Plaats de gel in het bakje op het schudplatform. Zet het schudplatform aan en laat de gel zo minimaal 30 minuten ontkleuren. Voor het beste resultaat (de scherpste bandjes) laat je de gel een paar uur in het water. Spoel de gel eventueel nog één of twee keer na.

## RESULTATEN

1. Leg de gekleurde en gespoelde gel voorzichtig op de lichtbak.
2. Bekijk de gel.
3. Maak – indien mogelijk – een foto van de gel. Gebruik hiervoor de zwarte kap. Print de foto uit.
4. Maak hieronder een schets (een bovenaanzicht) van de gel met de slotjes aan de bovenkant. Geef in de tekening aan wat in welk slotje zit. Gebruik de afkortingen DL (DNA-ladder), PD (DNA van de plaats delict), SL (DNA van het slachtoffer) en V1 t/m V3 (DNA van de verdachten).
5. Maak na het kleuren en spoelen een schets van het bandenpatroon.
6. Geef aan of er een match is tussen het DNA-profiel van het bloedspoor en één van de andere profielen.
7. Geef bij de tekening ook aan waar de positieve en negatieve elektroden zich bevonden, en waar in de gel de kleinste DNA-fragmenten zich bevinden en waar de grootste.
8. Vergelijk jullie resultaten ook met die van een ander groepje (als er een ander groepje is dat hetzelfde onderzoek heeft gedaan).

## VERWERKING

1. Schrijf een kort en bondig rapport voor de officier van justitie. Dit rapport zal in de rechtszaal gebruikt worden en de uitspraak van de rechter zal voor een deel op dit rapport gebaseerd zijn. Beperk je daarom tot objectieve waarnemingen en betrouwbare conclusies. In je rapport moeten in ieder geval de volgende vragen beantwoord worden:

- Bevatte het bloedspoor bruikbaar celmateriaal?
- Is het gelukt om DNA-profielen te maken op basis van de monsters?
- Was er sprake van een match tussen het DNA-profiel van het bloedspoor en de andere profielen, en zo ja, welke? (Indien van toepassing: ga in op eventuele verschillen tussen jullie resultaten en die van andere groepjes.)
- Mag je op basis van een match tussen het profiel van het bloedspoor en het profiel van een verdachte concluderen dat de verdachte schuldig is? (Noem twee redenen waarom je die conclusie niet zomaar kan trekken.)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Lees de volgende stellingen. Leg uit of je het met de stelling wel of niet eens bent, en waarom.

- I. Monsters waar forensisch DNA-onderzoekers mee werken moeten anoniem zijn.
- II. Forensisch onderzoekers mogen via de media best de ontwikkelingen rondom een rechtszaak volgen.

.....

.....

.....

.....

.....

.....