

---

# DNA

**een blauwdruk**

A.L.B.M. Biemans

A.A.F. Jochems

J.A.P. Sprangers

**Tweede druk**

**Oplage 2009**

Syntax Media - Arnhem

---

©2005, Uitgeverij Syntax Media, Arnhem

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voorzover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16b Auteurswet 1912 j<sup>o</sup> het Besluit van 20 juni 1974, Stb. 351, zoals gewijzigd bij Besluit van 23 augustus 1985, Stb. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reprorecht (Postbus 882, 1180 AW Amstelveen). Voor het overnemen van (een) gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

ISBN 978 90 77423 08 0

[www.syntaxmedia.nl](http://www.syntaxmedia.nl)

Ontwerp omslag: Lapis Vivus grafisch ontwerp, Oosterbeek

Omslagillustratie: Forepoint © IC-Vec Ltd

Afbeeldingen en tabellen:

A.L.B.M. Biemans e.a., *Fundamentele biologie*, 2e dr., Bohn Stafleu van Loghum, Houten, 1987.

afb. 2.1, 15.1.

E. van Pelt-Verkuil e.a., *Moleculaire diagnostiek*, Bohn Stafleu van Loghum, Houten, 2001.

afb. 2.6, 2.9, 3.9, 17.1, 17.2, 18.3, 22.4; tabel 22.1.

P. Sudbery, *Human molecular genetics*, Prentice Hall, second edition, 2002.

afb. 21.2, 21.3.

Nederlands Forensisch Instituut, Rijswijk.

afb. 22.5, 22.6, 22.7; tabel 22.2, 22.3 22.4.

P.C. Winter e.a., *Genetics*, Bios Scientific Publishers, 1998.

afb. 5.7.

P.C. Turner e.a., *Molecular Biology*, second edition, Bios Scientific Publishers, 2000.

afb. 2.5 en 17.6.

---

# Voorwoord

## DNA: van Watson tot genomics

Meer dan een halve eeuw geleden, in 1953, hebben Watson en Crick de structuur van DNA opgehelderd.

Tussen het statische DNA-model van Watson en de dynamiek van de huidige research ligt een scala aan mogelijkheden, waarbij ethische discussies dikwijls ook om de hoek komen kijken.

Dit boek beoogt een wegwijzer te zijn in de ingewikkelde DNA-materie voor iedereen die, in welke hoedanigheid dan ook, hetzij als student, hetzij beroepshalve of als geïnteresseerde leek, met het onderwerp DNA te maken heeft. De meeste handboeken duiken vrijwel meteen in het diepe, veronderstellen voorkennis, zodat een beginnende door de bomen het DNA-bos niet meer ziet.

Deze herziene uitgave dient daarom als een opstap voor voornoemde handboeken en leidt de lezer op een begrijpelijke wijze de wereld van het DNA binnen.

Sinds de verschijning van de eerste druk, meer dan tien jaar geleden, zijn de ontwikkelingen op dit terrein in een versneld tempo doorgegaan. Vrijwel iedereen is nu vertrouwd met termen, zoals transgene organismen, kloneren, gentech, DNA-profiel, PCR en forensisch DNA-onderzoek. Met dit laatste actuele onderwerp sluiten we dit boek af.

Bij de herbewerking van deze uitgave hebben we dankbaar gebruikgemaakt van de adviezen van velen. Het aantal hoofdstukken is sterk verminderd door herschikking en koppeling van de vele 'DNA-fragmenten' uit de eerste druk. Daar waar nodig is de tekst geactualiseerd en uitgebreid, nieuwe onderwerpen zijn ingevoegd en de talrijke afbeeldingen en tabellen zijn nu beter geïntegreerd in de tekst. Hiermee is er een nieuw handzaam handboek voor beginners ontstaan, waarbij vrijwel alle onderwerpen op het brede terrein van DNA aan bod komen vanaf de 'dubbele helix' van Watson tot forensisch DNA-onderzoek. Zeker voor hoofdstuk 22 zijn we veel dank verschuldigd aan de medewerking van het NFI (Nederlands Forensisch Instituut) in de persoon van de heer dr. A.D. Kloosterman. Het uitgebreide register en de lijst van afkortingen verhogen de studiewaarde van deze uitgave. Wij hopen dat ook deze herziene druk voor u als gebruiker de DNA-ruggensteun zal zijn die wij bij de opzet van dit boek voor ogen hadden.

---

---

Voor kritische opmerkingen van welke aard dan ook houden wij ons opnieuw ten zeerste aanbevolen.

Ten slotte dank aan de uitgever, Syntax Media, voor de prettige contacten en de snelle en correcte afwikkeling van dit project.

Ad Biemans  
Janus Jochems  
Hans Sprangers

Breda, Bavel, La Roquebrussanne (Fr.), augustus 2005

Correspondentieadres:

A.L.B.M. Biemans, Irenestraat 17-b, 4811 SB Breda.

E-mail: *adbiemans@hotmail.com*

---

# Inhoudsopgave

<b>1</b>	<b>DNA: combinatie en recombinatie</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>DNA: desoxyribonucleïnezuren</b>	<b>7</b>
2.1	Structuur en eigenschappen van DNA	7
2.2	DNA bij prokaryoten en virussen	11
2.3	DNA bij eukaryoten	14
<b>3</b>	<b>Enzymen en nucleïnezuren</b>	<b>19</b>
3.1	Topoïsomerasen	19
3.2	Ligasen	20
3.3	Modificerende enzymen	21
3.4	Nucleasen	22
3.5	Polymerasen	26
<b>4</b>	<b>Replicatie van DNA</b>	<b>31</b>
4.1	Polymerisatie	31
4.2	Circulair en lineair DNA	34
<b>5</b>	<b>RNA en transcriptie</b>	<b>39</b>
5.1	RNA en enzymen	39
5.2	Transcriptie	40
5.3	Promoters	43
<b>6</b>	<b>RNA: messenger-RNA, ribosomaal-RNA, transfer-RNA</b>	<b>47</b>
6.1	Messenger-RNA (mRNA)	47
6.2	Ribosomaal-RNA (rRNA)	50
6.3	Transfer-RNA (tRNA)	53
<b>7</b>	<b>Van DNA tot eiwit</b>	<b>59</b>
7.1	Transcriptie	59
7.2	Translatie	63
7.3	Transport en processing van eiwitten	67
<b>8</b>	<b>Regulatie genexpressie</b>	<b>71</b>
8.1	Genexpressie	71
8.2	Genexpressie in vitro	74
8.3	Gene silencing	77
8.4	Regulatiemechanismen; operon	78
8.5	Transcriptiefactoren bij eukaryoten	82

<b>9</b>	<b>Transposons en repeterend DNA</b>	<b>87</b>
9.1	Insertie-sequenties	87
9.2	Transposons	90
9.3	Repeterende DNA-sequenties	93
<b>10</b>	<b>Mutaties en herstelmechanismen</b>	<b>99</b>
10.1	Mutaties	99
10.2	Gelokaliseerde mutagenese	102
10.3	DNA-herstelmechanismen	106
<b>11</b>	<b>Overdracht van DNA; transformatie en conjugatie</b>	<b>111</b>
11.1	DNA-overdracht	111
11.2	Transformatie	114
11.3	Conjugatie	118
<b>12</b>	<b>Restrictie-enzymen</b>	<b>123</b>
<b>13</b>	<b>Recombinant-DNA</b>	<b>131</b>
13.1	DNA-technieken	131
13.2	Koppeling van DNA-fragmenten	131
<b>14</b>	<b>Vectoren</b>	<b>139</b>
14.1	Vectoren	139
14.2	Plasmiden	142
14.3	Kunstmatige plasmiden	145
14.4	Ti-plasmiden	149
<b>15</b>	<b>Bacteriofagen <math>\lambda</math> en M13</b>	<b>153</b>
15.1	Bacteriofaag $\lambda$	153
15.2	Bacteriofaag M13	156
<b>16</b>	<b>Sequentie-analyse volgens Maxam-Gilbert en volgens Sanger</b>	<b>161</b>
16.1	Methode van Maxam-Gilbert: de chemische degradatiemethode	161
16.2	Sequentie-analyse volgens Sanger	164
<b>17</b>	<b>Labeling, blotting en hybridisatie van nucleïnezuren</b>	<b>169</b>
17.1	Labeling van nucleïnezuren	169
17.2	Blotting	173
17.3	Hybridisatie	176
<b>18</b>	<b>Amplificatietechnieken: PCR en NASBA</b>	<b>181</b>
18.1	PCR-techniek	181
18.2	Real time-PCR	184
18.3	NASBA-techniek	185
18.4	NAT-test	186

<b>19</b>	<b>Complementair DNA en DNA-chips</b>	<b>189</b>
19.1	Complementair DNA	189
19.2	DNA-chip: microarray	192
<b>20</b>	<b>HIV-genoom</b>	<b>195</b>
<b>21</b>	<b>Oncogenen en erfelijke ziektebeelden</b>	<b>199</b>
21.1	Oncogenen	199
21.2	Erfelijke ziektebeelden	202
<b>22</b>	<b>Forensisch DNA-onderzoek</b>	<b>211</b>
22.1	Inleiding	211
22.2	DNA-profiel; genetische markers	213
22.3	Onderzoek van haren en biologische contactsporen	217
22.4	Uiterlijk waarneembare persoonskenmerken	218
22.5	DNA-onderzoek naar familierelaties	221
	<b>Afkortingen</b>	<b>223</b>
	<b>Register</b>	<b>229</b>

- splicing** Bij splicing onderscheiden we achtereenvolgens de volgende processen:
- de eerste reactie is het splitsen van de 5'-exon-intronbinding. De fosfaatgroep blijft verbonden met het 5'-nucleotide van het intron;
  - de fosfaatgroep van het nucleotide aan de 5'-zijde van het intron vormt een 2' → 5'-binding met een nucleotide van het intron. Dit nucleotide bevat meestal de base A en ligt ongeveer 20 tot 30 nucleotiden verwijderd van de 3'-intron-exonbinding. Dit wordt het vertakkingspunt genoemd. De basensamenstelling in de directe omgeving hiervan is sterk geconserveerd: CUAAC;
  - de volgende splitsing vindt plaats naast het eerste dinucleotide AG, stroomafwaarts vanaf het vertakkingspunt. Hierdoor wordt het intron, dat de vorm van een lasso heeft, verwijderd;
  - de 3'-OH-groep van het eerste exon wordt gekoppeld aan de 5'-fosfaatgroep van het tweede exon.

## 6.2 Ribosomaal-RNA (rRNA)

- ribosomen** Ribosomen zijn opgebouwd uit ribosomaal-RNA en eiwitten. De ribosomen in prokaryoten, in mitochondriën en in plastiden zijn 70S, die in het cytosol 80S. Ieder ribosoom bestaat uit twee subunits (tabel 6.1).

Tabel 6.1

*Samenstelling van de 70S- en 80S-ribosomen. De ribosomen van bepaalde organismen vertonen kleine verschillen.*

ribosomen	70S		80S	
subeenheden	50S	30S	60S	40S
rRNA-moleculen	5S en 23S	16S	5S, 5,8S en 28S	18S
aantal eiwitten	34	21	50	30

rRNA-moleculen worden zowel bij prokaryoten als bij eukaryoten uit pre-rRNA-moleculen geknipt. Het RNA in een cel bestaat voor ruim 80% uit rRNA. Het DNA dat hiervoor als matrijs dient beslaat maximaal 1% van het totale genoom. Het rRNA vertoont een zeer geringe diversiteit. De rRNA-moleculen zijn moeilijk bereikbaar voor ribonucleasen vanwege hun structuur en associatie met eiwitten. Daardoor zijn rRNA-moleculen zeer stabiel.

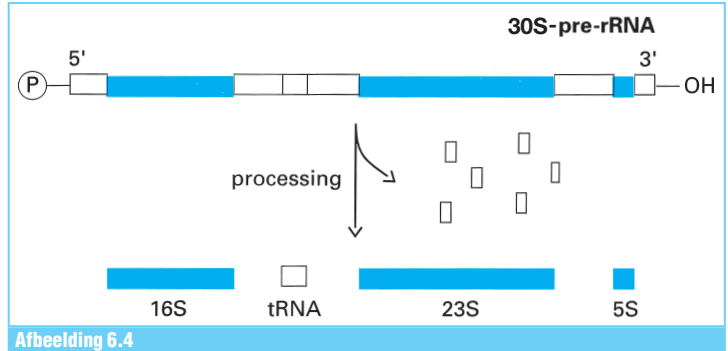
- rRNA-moleculen** De rRNA-moleculen in de ribosomen hebben onder andere de volgende functies:
- interactie met het mRNA tijdens de start van de translatie;
  - interactie met tRNA tijdens het aandragen van de aminozuren;
  - het bij elkaar houden van de twee ribosomale subunits tijdens de translatie.



### Prokaryoten

Bij *E.coli* komen in totaal zeven genensets voor die elk coderen voor pre-rRNA. Dit precursor-rRNA van 30S wordt als één transcript ge-synthetiseerd. Het bevat tevens de sequentie voor een pre-tRNA (afb. 6.4).

30S-pre-rRNA



Afbeelding 6.4

Processing van pre-rRNA bij prokaryoten.

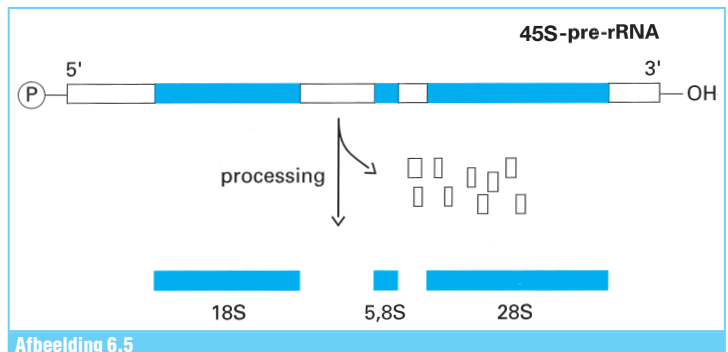
ribosomale subunits

Het pre-rRNA bevat aan het 5'-einde een leadersequentie en aan het 3'-einde een trailersequentie. Een leadersequentie speelt een rol bij de regulatie van de transcriptie (zie hoofdstuk 8). De trailersequentie is een sequentie met onbekende functie. Uit het 30S-pre-rRNA worden door het enzym RNase III drie rRNA-moleculen geknipt: 5S, 16S en 23S. Deze RNA-moleculen worden vervolgens geassocieerd met eiwitten, waarna de twee ribosomale subunits ontstaan. Het 16S-RNA-molecuul heeft, als onderdeel van de kleinste ribosomale subeenheid, een biologische functie. Dit RNA-molecuul vormt tijdelijk waterstofbruggen met het mRNA zodat de initiatie van de eiwitsynthese kan plaatsvinden.

### Eukaryoten

Bij eukaryoten wordt 45S-pre-rRNA, ongeveer 13,7 kb, gesynthetiseerd door RNA-polymerase I (afb. 6.5).

45S-pre-rRNA



Afbeelding 6.5

Processing van pre-rRNA bij eukaryoten.

### 8.5 Transcriptiefactoren bij eukaryoten

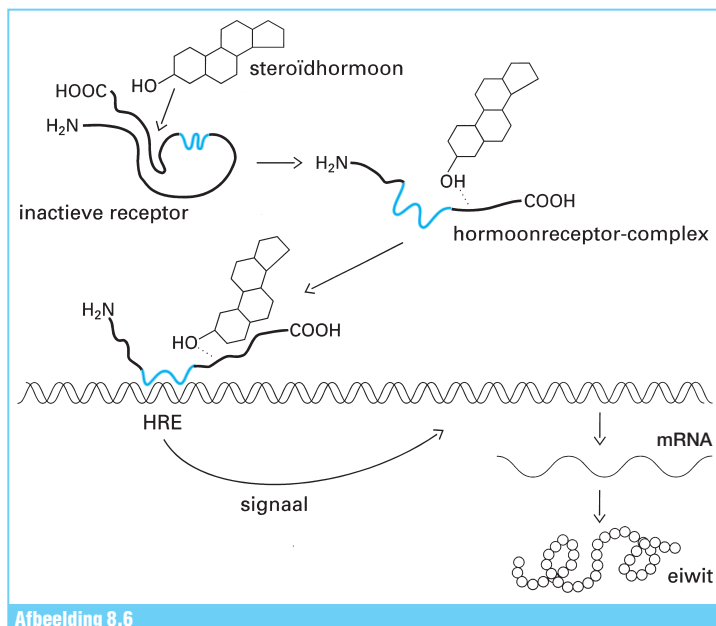
In principe is de regulatie bij eukaryoten hetzelfde als bij prokaryoten. Bij eukaryoten kan het product van één gen echter vele clusters van genen gelijktijdig aan- of uitschakelen. Zo'n gen wordt regulatorgen of regelgen genoemd. Bij eukaryoten wordt de genactiviteit niet alleen gereguleerd door veranderingen binnen de cel, zoals metabolietconcentraties en temperatuur, maar ook van buitenaf door bijvoorbeeld hormonen. Hierbij moet onderscheid worden gemaakt tussen in water oplosbare hormonen en steroïdhormonen.

second messenger

De in water oplosbare hormonen, zoals insuline en groeihormoon, kunnen het celmembraan niet passeren. Ze reageren met receptoren op het celmembraan van hun target-cellen. Hierdoor wordt intracellulair cyclisch AMP (cAMP) gevormd, dat als second messenger fungeert. Deze tweede boodschapper activeert veelal enzymen.

hormoonresponsieve elementen

De in vet oplosbare steroïdhormonen, zoals bijnierschors-hormonen en geslachtshormonen, kunnen het celmembraan wel passeren. In het cytosol van hun target-cellen komen receptoren voor die met de binnengedrongen hormonen een complex vormen. Door de binding verandert de structuur van het receptoreiwit, waardoor dit op specifieke plaatsen aan het DNA kan binden. Deze specifieke bindingsplaatsen op het DNA worden aangeduid als hormoonresponsieve elementen (HRE's) (afb. 8.6). Hierdoor ontstaat er een verhoogde genexpressie. De eiwitten die de transcriptie beïnvloeden, worden transcriptiefactoren (TF) genoemd.



Afbeelding 8.6

Activering van hormoonresponsieve elementen (HRE's) door middel van een hormoonreceptor-complex.

### Transcriptiefactoren

- promoter** De initiatie van RNA-polymerase II wordt beïnvloed door transcriptiefactoren die de promoter binden. De promoter van RNA-polymerase II kan door de volgende transcriptiefactoren worden herkend:
- TFIIA, TFIIB, TFIID en TFIIE. Ze herkennen de TATA-box en starten de basale transcriptie;
  - algemene TF, zoals Oct-1, SP1, CTF/NF-1 en AP1, en weefsel-specifieke TF, zoals NF- $\kappa$ B en Oct-2. Ze herkennen de stroomopwaarts gelegen, korte, specifieke basensequenties, zoals de CAAT-box, de GC-box en een bepaald octameer (tabel 8.4).
- enhancers** Deze sequenties komen soms ook voor in enhancers, waardoor TF ook hier kunnen binden. Door de combinatie van deze elementen vindt een verhoogde transcriptie plaats.

Tabel 8.4

Transcriptiefactoren (TF) en herkenningsequenties.

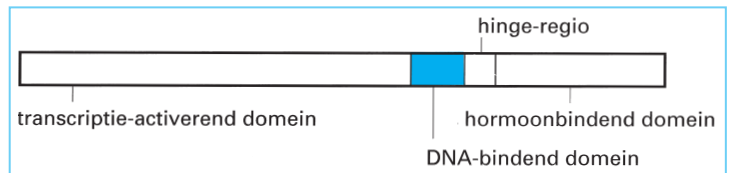
TF	box	consensus
TFIID	TATA	TATAAAA
CTF/NF1	CAAT	GGCCAATCT
SP1	GC	GGGCGG
Oct-1/Oct-2	octameer	ATTTGCAT

### hormoonreceptor-eiwitten

#### Bouw van transcriptiefactoren

Hormoonreceptor-eiwitten zijn voorbeelden van transcriptiefactoren. Deze zijn in het algemeen opgebouwd uit drie domeinen, elk met een specifieke functie (afb. 8.7):

- *een DNA-bindend domein*. Soms komen hiervan meerdere voor. Zo'n domein zorgt voor de binding van de TF aan het DNA;
- *een transcriptie-activerend domein*. In TF komt een beperkt aantal van deze activerende gebieden voor. De 'acid-blob' is een sterk zure, amfipathische helix die negatieve ladingen bevat. Deze komt bijvoorbeeld voor in de transcriptiefactor VP16. In de transcriptiefactoren SP1 en Oct-2 zijn de domeinen rijk aan de aminozuren glutamine en proline;
- *een ligand-herkenningsdomein*. Dit is bijvoorbeeld de hormoonbindende plaats in steroïdreceptoren.



Afbeelding 8.7

Schematische bouw van een ligandafhankelijk hormoonreceptoreiwit.

transformatiefrequentie

pronucleus

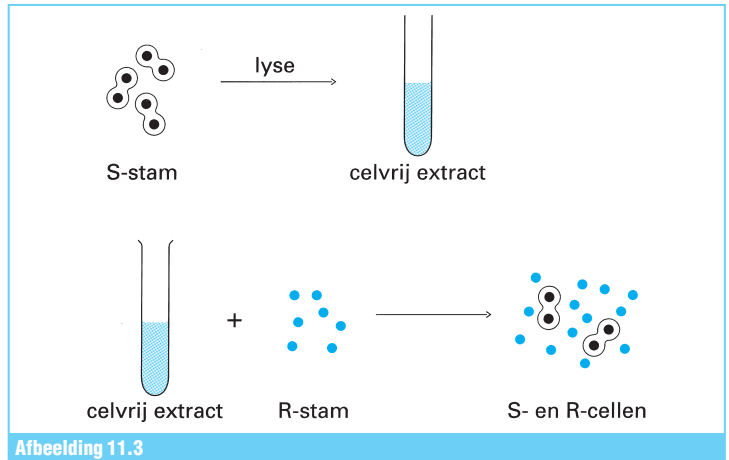
micellen

- celmembraan. Vervolgens gaat het DNA de cel binnen. Co-precipitatie wordt ook wel aangeduid als chemische transfectie;
- *elektroporatie*. Dit is een methode waarbij kortdurende elektrische impulsen van een zeer hoge veldsterkte worden toegediend. Hierdoor wordt de permeabiliteit van de celmembranen zodanig veranderd dat DNA-moleculen de cel kunnen binnendringen. Bij lymfoïde muizencellen bedraagt de transformatiefrequentie ongeveer 500 transformanten per  $10^6$  cellen bij het gebruik van  $5 \mu\text{g}$  DNA. Sinds ongeveer twintig jaar wordt deze methode ook toegepast bij protoplasten van planten;
  - *micro-injectie*. Dit is een techniek waarbij met behulp van glazen capillairen DNA rechtstreeks in de kern van een cel kan worden geïntroduceerd in een van de beide pronuclei van de kort daarvoor bevruchte eicel van bijvoorbeeld een muis. De injectie vindt meestal plaats in de pronucleus afkomstig van de zaadcel, omdat deze pronucleus veel groter is dan de vrouwelijke pronucleus. Hoewel deze techniek tijdrovend en vrij kostbaar is, biedt ze enkele voordelen ten opzichte van andere technieken, met name door de controle over de hoeveelheid geïnjecteerd DNA en door de hoge transformatiefrequentie;
  - *kerntransplantatie*. Dit is een techniek waarbij men bijvoorbeeld bij een muizenembryo de nucleus vervangt door de nucleus van de cel van een ander embryo. Op deze manier kunnen transgene muizen worden geconstrueerd.
  - *liposomen*. Liposomen zijn blaasjes die bestaan uit een synthetisch membraan waarin DNA of het chromosoom is verpakt. Ze worden gevormd door lipiden en nucleïnezuren te suspenderen in ether. Na een ultrasone behandeling worden de micellen veranderd in DNA-bevattende liposomen. Liposomen hebben het voordeel dat ze het DNA beschermen tegen afbraak door nucleasen. Bovendien zijn ze niet-toxisch en het percentage transformanten is zeer hoog;
  - *DNA-kanon*: overdracht van DNA, gebonden aan metaaldeeltjes, de zogenaamde microcarriers (zie hoofdstuk 14).

## 11.2 Transformatie

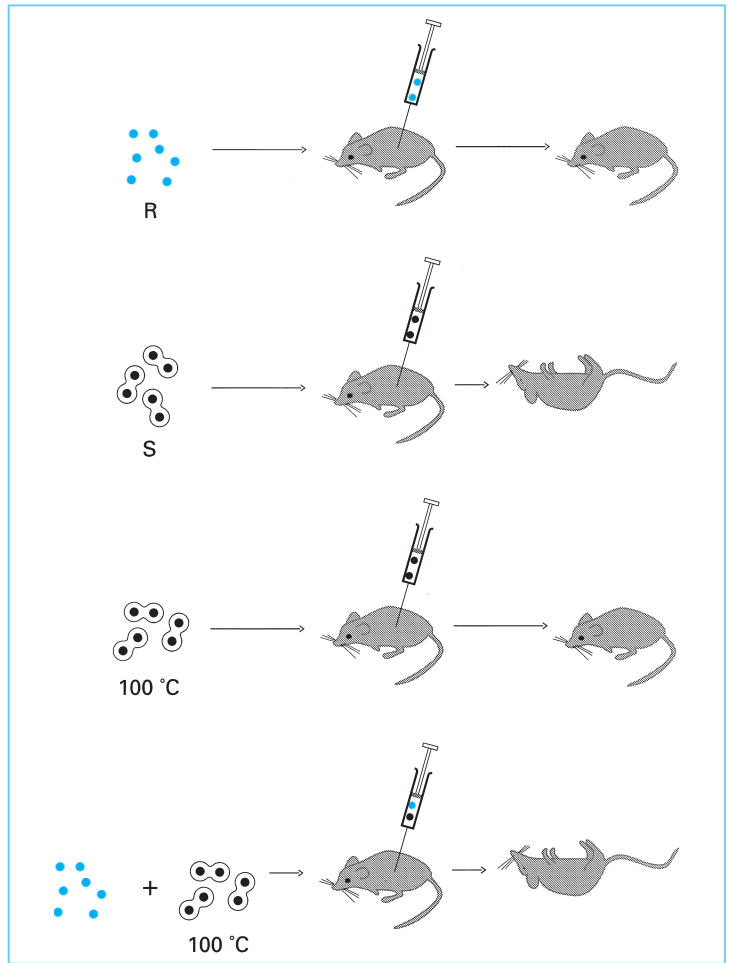
apathogene stammen  
pathogene stammen

Het verschijnsel transformatie is voor het eerst ontdekt in 1928 door Griffith bij zijn experimenten met bepaalde stammen van pneumokokken (afb. 11.3 en afb. 11.4). Hier bleek dat apathogene, kapselloze (rough) stammen (R) pathogeen konden worden door opname van DNA van dode kapselbevattende (smooth) stammen (S). De verandering van apathogene stammen in pathogene stammen werd door Griffith transformatie genoemd. Onder transformatie verstaan we nu het proces waarbij DNA van vreemde herkomst, donor-DNA genoemd, wordt opgenomen door een acceptorcel. De acceptorcel is meestal een bacterie, maar sinds vele jaren wordt transformatie ook toegepast bij eukaryoten. Bij het transformatieproces kan men de volgende fasen onderscheiden: competentie, de binding en opname van DNA en ten slotte de handhaving van het vreemde DNA in de gastheer cel.



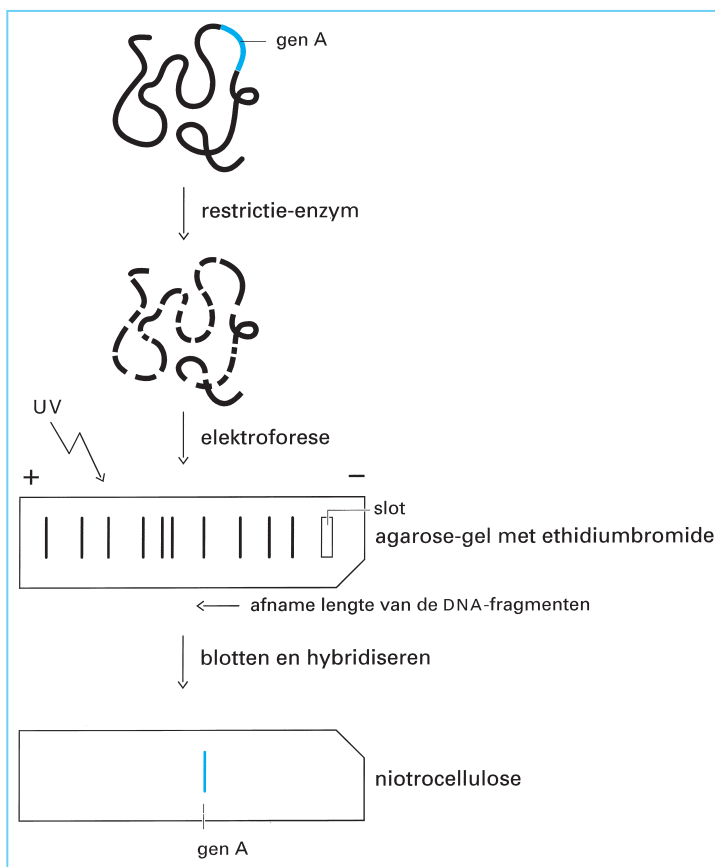
Afbeelding 11.3

Transformatie in vitro bij de pneumokok (*Streptococcus pneumoniae*).



Afbeelding 11.4

Transformatie in vivo bij de pneumokok (*Streptococcus pneumoniae*).



Afbeelding 17.8

Het aantonen van een gen door middel van hybridisatie op een Southern-blot.

**filter in situ hybridisatie**

**prehybridisatie**

**aspecifieke binding**

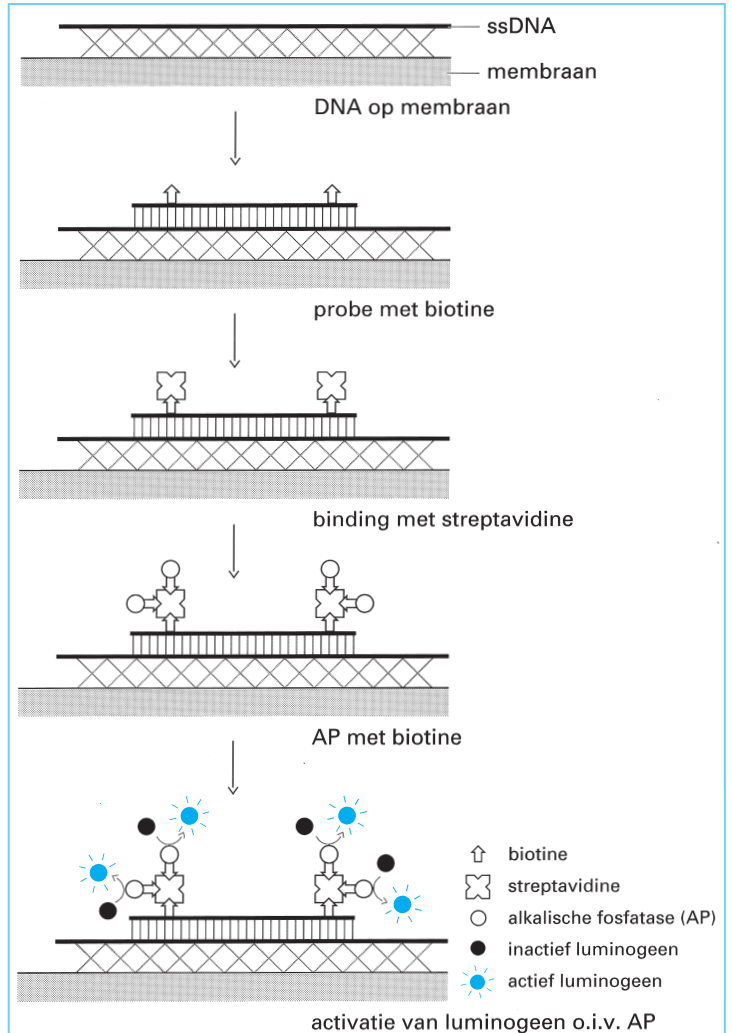
Wanneer nucleïne-zuren in cellen op een membraan worden aange-toond, spreekt men van filter in situ hybridisatie (FISH). De membra-nen die DNA goed binden zullen ook de probes goed kunnen binden. Dit moet echter worden voorkomen. Daarom wordt voorafgaand aan de hybridisatie het membraan volledig bedekt met DNA van een niet-verwant organisme zoals haringsperma-DNA. Om aspecifieke bin-ding tijdens de volgende stappen te voorkomen wordt bovendien een eiwitoplossing toegevoegd: de zogenaamde Denhardts-oplossing. Deze stappen noemt men prehybridisatie. Om de signaal-ruis-ver-houding te optimaliseren worden, afhankelijk van de randvoorwaar-den van het experiment, veel verschillende chemicaliën toegevoegd. Hybridisatiebuffers zijn meestal complex.

Belangrijk bij de hybridisatie is de hoeveelheid toegevoegde probe, omdat te veel probe leidt tot aspecifieke binding. Experimenteel heeft men aangetoond niet méér te gebruiken dan 10 ng/ml. Een 10%-dex-traansulfaat-oplossing stabiliseert de binding tussen probe en target-DNA door netwerkvorming.

fluorochromen

haptenen

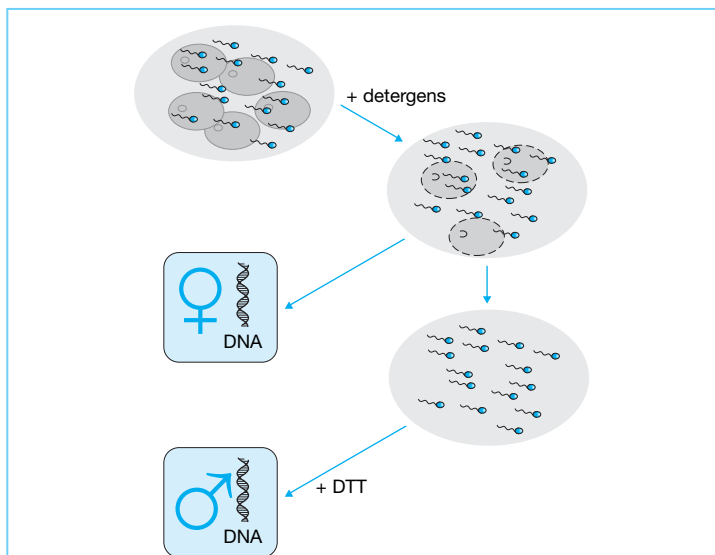
Het label aan de probe wordt gekozen aan de hand van de vraagstelling van het experiment en de snelheid waarmee men het resultaat wil hebben. Veel gebruikte labels zijn:  $^{32}\text{P}$ , verschillende fluorochromen zoals FITC en TRITC en verschillende zogenaamde ‘nieuwe’ fluorochromen, zoals JOE<sup>TM</sup> en SYBR<sup>R</sup>Green I, en haptenen (kleine moleculen waartegen antilichamen gemaakt kunnen worden), zoals biotine en digoxigenine (afb. 17.9).



Afbeelding 17.9

Het aantonen van hybridisatie door middel van chemoluminescentie.

Het detecteren van de probe kan worden geautomatiseerd. Zo is er de Phospho Imager, een geautomatiseerd detectiesysteem voor  $^{32}\text{P}$ -gelabelde probes op membranen.

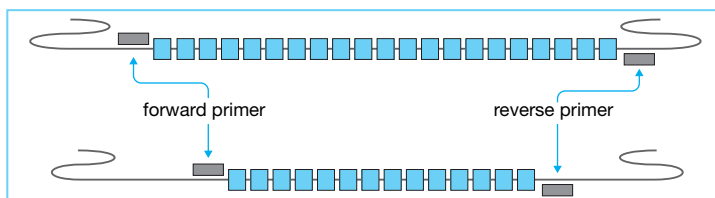


Afbeelding 22.3

### differentiële lysistechniek

Het principe van de differentiële lysistechniek. De cellen in het schede-uitstrijkje worden met detergents behandeld, waardoor de vaginale epitheelcellen lyseren en het DNA van de vrouwelijke cellen in oplossing komt. De spermacellen blijven intact en kunnen vervolgens door centrifugeren worden gescheiden van de vrouwelijke DNA-fractie. De spermacellen worden vervolgens met dithiothreitol (DTT) behandeld om het DNA uit de spermacellen vrij te maken.

forward primer  
reverse primer



Afbeelding 22.4

Het locus op het ene chromosoom heeft 21 repeats, het locus op het andere chromosoom bezit 14 repeats. Het individu is voor dit locus een 14/21. In dit geval bezit de reverse primer een fluorescentielabel, zodat de PCR-producten met behulp van een excitatielaser en een geschikte detector real time in een polyacrylamide-gel (PAG) kunnen worden gedetecteerd.

### genetische markers

De primerbindingsplaatsen dienen geconserveerde sequenties te zijn. De vermeerderde DNA-fragmenten worden op grootte gescheiden en met behulp van een automatische DNA-sequencer gedetecteerd. Om biologische sporen naar een bepaald persoon te kunnen herleiden is het onderzoek gericht op de reeds genoemde tien genetische markers (tabel 22.1). De hypervariabele gebieden verschillen sterk per persoon met name voor wat betreft het aantal repeats. De genoemde VNTR's erven volgens de wetten van Mendel over. Een DNA-profiel is dus geen weergave in de zin van een fingerprint, laat staan dat er genen voor erfelijke eigenschappen in beeld worden gebracht. Een DNA-profiel is een voor ieder persoon unieke afspiegeling van niet-coderend, repeterend DNA.



**autosomale STR-loci**

Tabel 22.1

*De tien autosomale STR-loci en het amelogenine-gen dat zich op het X- en Y-chromosoom bevindt.*

<i>Locus</i>	<i>Chromosoom</i>
amelogenine <sup>1</sup>	X- en Y-chromosoom
D3S1358*	3
VWA*	12
D16S539	16
D2S1338	2
D8S1179*	8
D21S11*	21
D18S51*	18
D19S433	19
THO1*	11
FGA*	4

**Toelichting**

- 1 Het amelogenine-locus bevindt zich op de geslachtschromosomen. Aan de hand van de typering van dit locus kan worden vastgesteld of de donor van het celmateriaal van het mannelijke (X/Y) dan wel van het vrouwelijke (X/X) geslacht is.
- \* Deze zeven loci gelden als core loci binnen Europa. Dit wil zeggen, dat elk forensisch lab deze set van DNA-markers altijd bij het DNA-onderzoek betreft. Deze core-loci zijn ook als zodanig door Interpol aangemerkt en worden bovendien in de VS en in Canada standaard getypeerd. Technisch wordt het mogelijk om DNA-profielen van onopgeloste misdrijven wereldwijd te vergelijken.

Elk hypervariabel gebied is in een cel tweemaal aanwezig; op het van vader geërfde chromosoom en op het vergelijkbare chromosoom afkomstig van de moeder.

**typering 12/20**

De plaats van een hypervariabel gebied wordt aangeduid als locus met een bepaalde typering. Zo duidt de typering 12/20 erop dat het ene chromosoom 12 repeats van dat bepaalde DNA-fragment bevat en het homologe chromosoom 20 repeats.

**gedeeltelijk DNA-profiel**

Men onderzoekt altijd dezelfde tien loci, die met specifieke codes worden aangegeven, zoals D3, VWA, THO1 en FGA. We spreken van een volledig DNA-profiel wanneer de DNA-kenmerken van alle tien loci aanwezig zijn. Wanneer niet alle DNA-kenmerken van de onderzochte loci zichtbaar zijn spreken we van een partieel of gedeeltelijk DNA-profiel.

De DNA-analyseapparatuur geeft de DNA-kenmerken weer als pieken. Afbeelding 22.5 en tabel 22.2 zijn de weergave van een volledig DNA-profiel. Het is een piekpatroon met voor elke locus een of twee pieken. Zo zijn er voor de locus VWA twee pieken zichtbaar: zeventien en achttien. Naast de tien aangeduide loci is er nog een kenmerk dat het geslacht aanduidt. Bij een mannelijk DNA-profiel vinden we op die plaats twee pieken (weergegeven als X en Y), bij een vrouwelijk DNA-profiel is slechts één piek (X-chromosoom) aanwezig.