

Graden av overføring av hudepitel versus slimhinneepitel ved direkte kontakt

Karsten Gundersen



Prosjektoppgave ved Avdeling for biologiske spor,
Divisjon for rettsmedisin og rusmiddelforskning,
Folkehelseinstituttet

UNIVERSITETET I OSLO

7.3.2012

Graden av overføring av hudepitel versus slimhinneepitel ved direkte kontakt.

© Karsten Gundersen

2012

Graden av overføring av hudepitel versus slimhinneepitel ved direkte kontakt.

Karsten Gundersen

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Abstract

“The Transfer of Skin Epithelial Cells versus Vaginal Mucous Membrane Cells by Direct Contact”

Female cellular material may be detected on swabs from the surface of the defendant’s penis in rape cases including vaginal penetration. The defendant may display alternative explanations to the findings, i.e. that he touched the offender’s skin with his hands prior to manual transfer of the cellular material to his penis. It is not possible to decipher if the female DNA profile detected originates from skin or mucous epithelial cells.

Based on case work experience we hypothesized that vaginal epithelial mucous cells will be transferred to a greater extent by direct contact than skin epithelial cells.

To test the hypothesis, 11 male-female pairs were tested as follows: Each male participant swabbed his penile surface on 3 specified anatomical locations in two different situations: 1. Following vaginal intercourse with his female partner, and 2. Following manually touching of his penis preceded by his touching of his female partner’s skin. Reference profiles were produced from self-harvested oral swabs.

DNA was extracted by Chelex 5% followed by Quantifiler® Duo™ quantification and AmpFℓSTR® NGM™ kit DNA profiling. The results of the penile swab profiling were compared to the reference profiles of each couple.

The quantification results indicate that swabbing of the penile surface following intercourse produce much higher DNA concentrations than after manual touching. Moreover, our results also give indications as to the best penile anatomical region for the sampling of female epithelial cells. The DNA profiling results show a preponderance of female profiles over male profiles following intercourse compared to manual touching.

Innhold

1	Innledning.....	6
1.1	Bakgrunn	6
1.2	Tilgjengelig kunnskap	7
1.3	Hypotese	9
2	Materialer og metoder	10
2.1	Godkjenning	10
2.2	Innsamling av materiale.....	10
2.3	Analysering.....	11
2.3.1	Ekstraksjon	11
2.3.2	Kvantifisering.....	12
2.3.3	Amplifisering	12
2.3.4	DNA-typing.....	13
2.3.5	Oppsett og tolkning	15
3	Resultater.....	18
3.1	Kvantifisering og forholdstall.....	18
3.2	DNA-typing	19
4	Diskusjon.....	21
4.1	Drøfting av resultater	21
4.2	Feilkilder.....	23
4.3	Oppsummering	24
5	Egne synspunkter og takk	25
6	Referanser.....	26
7	Appendiks 1 og 2.....	27

1 Innledning

1.1 Bakgrunn

En vesentlig del av arbeidet innenfor det rettsmedisinske fagfeltet er å bidra som sakkyndig i rettssaker der en person er anklaget for en kriminell handling, for eksempel legemsbeskadigelse eller seksuelt overgrep. Med økende bruk av DNA-spor som bevis i straffesaker, har det også oppstått et behov for å vite mer om fra og til hvilke overflater cellemateriale lar seg overføre og også i hvor stor grad cellemateriale fra et individ lar seg overføre mellom mennesker og mellom mennesker og objekter. Det kan virke som DNA har fått en særskilt sterk stilling som endelig bevis på at en person har vært til stede og lagt igjen eget DNA-materiale, kanskje særlig blant folk som ikke har mye kunnskap om cellebiologi, cellers overlevelsestid og/eller erfaring med rettsmedisinske teknikker. Det er derfor viktig at de som arbeider med rettsmedisinske problemstillinger bidrar til å fremskaffe kunnskap om cellers og DNAets egenskaper, særlig i de situasjoner som er aktuelle i straffesaker som krever rettsmedisinsk sakkyndighet, slik at ikke avdekkingen av DNA-spor i seg selv ureflektert blir stående som endelig bevis på en persons tilstedeværelse eller berøring av et objekt. Som i all annen rettspraksis skal det ikke være noen rimelig tvil om at et annet scenario er mulig, for at en tiltalt skal kunne dømmes for en handling. Det er derfor viktig i rettsmedisinsk forskning å forske på også alternative forklaringer og scenarier bak ulike DNA-spor.

Det er viktig å presisere at som rettsmedisinsk sakkyndig uttaler man seg ikke om sannsynligheten for skyld eller uskyld, men kun objektivt sier noe om det biologiske grunnlaget for det biologiske prøver har vist. Det er opp til retten å vurdere om det den rettsakkyndige har kommet fram til har relevans for skyldspørsmålet.

En konkret problemstilling som rettsgenetikerne ved Folkehelseinstituttet har erfart er overgrepssaker der DNA fra den fornærmede (oftest en kvinne) kan påvises på kjønnsorganet til den tiltalte (oftest en mann) ved prøvetaking med vattpinneavstryk på tiltaltes kjønnsorgan etter pågripelse. Den tiltalte kan gi en forklaring om at det ikke skjedde noe seksuelt, men at DNA fra fornærmede må ha blitt overført sekundært gjennom hudkontakt, for eksempel ved at han først strøk fornærmede på huden og deretter kort tid etterpå berørte sitt eget kjønnsorgan. Etersom genmaterialet i alle kroppens kjerneholdige celler er det samme, er det med den DNA-typingen som brukes i dag ikke mulig å skille mellom hudepitel og slimhinneepitel fra vagina. En alternativ forklaring om sekundær overføring av DNA-materiale kan derfor ikke utelukkes uten bedre kunnskap om i hvor stor grad cellemateriale lar seg overføre ved de ulike kontaktmåtene.

Biologisk materiale til bruk i DNA-identifisering kan være i form av ferskt eller tørket blod på klær eller andre effekter, sædflekker, hudceller, spytt, beinrester og alt annet organisk materiale som inneholder kjerneholdige celler. I alle situasjoner der det er mistanke om at en kriminell handling har funnet sted, er det svært viktig at prøver til DNA-identifisering samles

inn korrekt, og at det oppbevares på en slik måte at risikoen for forurensing og kontaminering minimeres. Politi og leger som kan bli bedt om å utføre prøveinnsamling skal være trent i dette.

De biologiske prøvene vil etter innsamling bearbeides og analyseres i et laboratorium etter velkjente metoder. Det er viktig å være bevisst at prøvene selv under behandling i et laboratorium kan forurennes dersom de ikke behandles korrekt. Laboratoriearbeidet består av ekstrahering, kvantifisering, amplifisering og DNA-typing. Dersom prøven er tilstrekkelig i mengde og kvalitet, fører dette fram til en ren eller en blandet DNA-profil, avhengig av hvor mange individer som har vært i direkte eller indirekte kontakt med overflaten prøven tas fra og av i hvor stor grad genetisk materiale fra individene er avsatt på overflaten. Dersom amplifiseringen og DNA-typingen kun får fram noen av de DNA-markørene man ønsker å få fram og studere, har man en delvis DNA-profil. DNA-profilen, ren eller blandet, hel eller delvis, kan så sammenlignes med referanseprøver tatt av for eksempel en fornærmet og en mistenkt, for å se om man får en DNA-match. De kan eventuelt også matches mot en database bestående av tusenvis av DNA-profiler dersom man ikke har en klar mistenkt.

I sammenheng med det studiet vi har gjennomført, vil det være relevant å undersøke om det er gjort lignende forsøk andre steder, eller om det er gjort forsøk som kan si noe mer om cellers egenskaper og overføringsgrad i forsøk med andre typer materialer, og som kan være med å belyse den problemstillingen vi ønsker å undersøke.

1.2 Tilgjengelig kunnskap

Etter søk i PubMed på "transfer DNA", "secondary DNA transfer", "skin contact" og lignende kombinasjoner av aktuelle søkeord, har vi funnet at det er gjort svært sparsomt med forskning på dette feltet. En av prosjektmedarbeiderne (M. Bouzga) bekrefter også fra samtaler på rettsmedisinske konferanser hun har deltatt på de siste årene at det ikke er publisert artikler fra lignende studier, men at lignende studier av ulik størrelse og metodikk er i gang ved andre institusjoner. Vi fant dermed ingen publiserte studier som har undersøkt nøyaktig det samme som vi ønsker å se på, altså sekundær overføring av annen persons hudepitel fra hudoverflate til egen hudoverflate. Vi skal gå gjennom noen studier som har undersøkt overføring av genetisk materiale i andre relevante situasjoner.

Det er kjent at vaginaepitel fra kvinnen avsettes i stor grad på mannens penis etter vaginalt samleie, og at dette enklest kan påvises ved Fluorescens In Situ Hybridisering (Collins et al. (1)). Kvinnelig DNA lot seg tydelig farge og påvise ved mikroskopering i minst 24 timer etter samleie. Ved påvisning av kvinnelig DNA kan man så gå videre med DNA-profilering av prøvematerialet for om mulig å knytte fornærmede til tiltalte. Interessant nok kunne artikkelforfatterne (1) derimot ikke påvise mannlige hudepitelceller ved mikroskopering av noen av vattpinneavstrykene som ble tatt fra mannens penis 1-24 timer etter samleie. Det er også vist at hudepitelceller kan overføres fra individ til individ – primæroverføring – og deretter videre til en tredje overflate – sekundæroverføring (Lowe et al. (2)). Her er det riktignok vist at det er betydelige variasjoner mellom personer hva gjelder i hvor stor grad

man avsetter cellemateriale under ellers like forhold, og samtidig flere kjente og ukjente variabler (for eksempel type og tid for kontakt) som påvirker i hvor stor grad et enkelt individ avsetter cellemateriale i en gitt situasjon (Phipps et al. (3)). Det er problematisk å dele personer inn i grupper etter hvor godt de avsetter DNA, og dersom det finnes individer som har en særdeles stor evne til å avsette DNA på overflater, så gjelder dette i så fall bare noen få (3). Lee et al. (4) påpeker at med utviklingen av stadig mer avanserte DNA-kit som benytter flere markører og kortere STRer, og som dermed gjør det mulig å få fram tydelige DNA-profiler fra mindre mengde ekstrahert DNA, er samtidig sannsynligheten for å påvise DNA også etter sekundær overføring blitt større. Dette er det viktig å være klar over i alt rettsmedisinsk og rettsgenetisk arbeid.

Goray et al. (5) har vist at DNA fra hudepitel lar seg overføre sekundært fra et materiale til et annet etter først å ha blitt avsatt ved håndkontakt på primærmaterialet. De fant at det i størst grad lot seg overføre dersom primærmaterialet var ikke-porøst stoff, f.eks. hard plast, og sekundærmaterialet var porøst, f.eks. bomull. Om huden var tørr eller fuktig hadde mindre betydning. Det mest interessante funnet i relasjon til vårt prosjekt, var at mengden DNA som kunne ekstraheres sank betraktelig fra primær- til sekundærmaterialet. Mengden DNA som kunne ekstraheres fra sekundærmaterialet varierte likevel mye med hvilke materialer som ble testet og hva slags type kontakt (lett berøring, pressing eller friksjonskontakt) mellom materialene som ble brukt. Forfatterne regnet seg så fram til hvilke mengder DNA som måtte være tilstede ved avsetting på primærmaterialet for at en minste nødvendig mengde kunne ekstraheres fra sekundærmaterialet. Det varierte fra 2 ng ved friksjonskontakt med tørt hudepitel fra hard ikke-porøs plast til porøs bomull, til så mye som 385 ng ved trykkontakt med fuktig hudepitel fra porøs bomull til hard plast. I en annen studie av noen av de samme forfatterne (6), hvor de tester sekundær overføring av andre organiske substanser som rent DNA, blod og spytt, så de at mengden DNA som avsettes ved sekundæroverføring varierer så mye som fra 0,36 % til 95 % avhengig av primær- og sekundæroverflaten og type kontakt.

Goray et al. (5, 6) har ikke testet overføring av DNA mellom hudoverflater, men resultatene er likevel relevante ettersom de viser at type primær- og sekundærmateriale har stor betydning, samtidig som tørt eller fuktig hudepitel og type kontakt også spiller inn. Det er derfor viktig å ha kjennskap til disse forholdene når man på bakgrunn av ekstrahert DNA fra sekundæroverflaten vurderer sannsynligheten for ulike scenarier og forklaringsmodeller for avsetning av cellemateriale.

I en litteraturstudie fra 2002 (Wickenheiser (7)) konkluderer forfatteren med at DNA lar seg overføre sekundært, men at bærerens DNA, altså DNAet til den som tilslutt berører overflaten hvor prøven tas fra, vil utgjøre en klar majoritet av cellematerialet. Bæreren vil ikke overføre DNA fra en andreperson uten å legge igjen store deler eget DNA, og andrepersonens DNA vil maksimalt utgjøre kun en liten mengde i en blandet DNA-profil. Ny kontakt med overflaten av en 3. person vil kunne fjerne og erstatte det tidligere avsatte cellematerialet (7), og det er derfor viktig med en detaljert historie og nøyaktig prøvetaking fra flere lokalisasjoner avhengig av hva man vet om påstått hendelsesforløp. Dette vil være nyttig kunnskap særlig med tanke på del 2 av studien vår, hvor vi tester sekundæroverføring ved hudkontakt.

Enkelte av studiene som er gjennomgått har ingen direkte sammenligningsverdi for vår studie, men sier mer om hvor variert og usikkert bildet er når man skal vurdere kontakt mellom individer utfra DNA-profiler som har fremkommet etter prøvetaking. Med så lite forskning på feltet er det viktig å være åpen for resultater som også går imot tidligere funn.

1.3 Hypotese

Formålet med prosjektet er å bidra til et sikrere vitenskapelig grunnlag for rettsavgjørelser, og resultatene av prosjektet vil kunne inngå i bakgrunns materialet som de rettsmedisinske sakkyndige bruker når de uttaler seg om sannsynlighet for overføring av cellemateriale i seksuelle overgrepssaker.

I vårt prosjekt vil det, med henvisning til metodekapittelet, særlig være muligheten for at mannen overfører kvinnens hudepitelceller sekundært fra egen hånd til egen penisoverflate, etter først å ha blitt avsatt fra kvinnen, som vil være interessant å se på.

Vår hypotese er at slimhinneepitel avsettes i større grad ved direkte kontakt ved vaginalt samleie enn hudepitel overføres og avsettes ved sekundær overføring. Kvinnelig DNA vil derfor kunne påvises ved vattpinnestryk fra penis i betydelig større grad etter et vaginalt samleie enn etter sekundær overføring ved hudkontakt.

Vi ønsker samtidig å se på om det er anatomiske lokalisasjoner på penis som egner seg bedre enn andre til å sikre prøver til DNA-analyse.

2 Materialer og metoder

2.1 Godkjenning

Vi søkte regional etisk komité om godkjenning av prosjektet i mai 2010. Komitéen hadde et spørsmål angående rekrutteringsmåten, og den sa seg fornøyd med svaret som ble gitt. Komiteen hadde ellers som eneste innvending at informasjonsskrivet vårt måtte standardiseres etter deres mal, noe som ble etterkommet.

Prosjektet er fullfinansiert av Avdeling for biologiske spor, Divisjon for rettsmedisin og rusmiddelforskning, Folkehelseinstituttet (kjent som Rettsmedisinsk institutt, Universitetet i Oslo fram til 1.6.2011).

Vi presiserte i søknaden at alle prøver ville bli innlevert anonymt uten navn, fødselsnummer eller andre gjenkjennende tegn, at analysemetoden som blir brukt ikke kunne brukes til å identifisere individene som deltok og at prøvene ved forskningsprosjektets slutt ville bli destruert og ikke inngå i noen form for DNA-register. Vi presiserte også at prøvetakingen ikke ville innebære noen form for helsemessig risiko eller ulempe for deltakerne.

Prosjektet ble 20. august 2010 godkjent av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk Sør-Øst C.

2.2 Innsamling av materiale

14 etablerte par (kvinne og mann), alle i alder 22-35 år, ble spurt om å delta i prosjektet. De ble vervet gjennom bekjentskap med oppgavens forfatter. Dette var ønskelig da dette gjorde det lettere å instruere og følge opp prøvetakingen. Alle parene skulle gjennomgå samme intervensjon og testing, og noen form for randomisering var derfor ikke aktuelt. De sto fritt til å trekke seg fra studien når de måtte ønske. Parene fikk utdelt informasjon om studien og et instruksjonsskriv om hvordan prøvene skulle tas (appendiks 1), sammen med vattpinner og sporsikringsposer til prøvetaking.

Hvert par ble først instruert til å ta en vattpinneprøve hver fra munnslimhinnen sin som er blitt brukt som kontrollreferanse ved DNA-analysering av prøvene.

Mannen i forholdet skulle så ta avstryk med tre forskjellige saltvannsfuktede bomullsvattpinner fra tre anatomiske steder på penis (glans, sulcus coronarius og skaftet) etter tre separate vaginale samleier. Det skulle gå minst 24 timer mellom hvert samleie, og prøvene skulle tas innen en time etter samleiet og før dusjing/vask. I den andre delen av forsøket skulle han ta samme type vattpinneavstryk fra penis etter først å ha strøket kvinnen over huden hennes i 5-10 minutter for deretter kort tid etter å berøre penis som ved et vanlig toalettbesøk. Dette ble også gjort tre ganger, med minst 24 timers mellomrom. Til sammen gjorde derfor hvert par seks forsøk, tre etter samleie og tre etter sekundær hudkontakt. Det ble

tatt vattpinneavstryk fra de samme tre anatomiske stedene hver gang, og alle vattpinnene ble lagt i hver sine sporsikringsposer.

Det ble ikke lagt noen føringer for tidspunkt eller andre forhold rundt prøvetakingen, annet enn at vattpinneprøvene måtte tas innen en time etter kontakt. Prøvene ble levert inn kun merket med et parnummer, et testforsøksnummer og den anatomiske lokalisasjonen som prøvene ble tatt fra. Til sammen 11 par leverte inn prøver innen fristen som var satt. De tre parene som ikke leverte inn oppga ulike praktiske årsaker til dette.

2.3 Analysering

Prøvene er blitt analysert ved Avdeling for biologiske spor, Divisjon for rettsmedisin og rusmiddelforskning, Folkehelseinstituttet. Analysene er gjort på følgende måte:

DNA-materialet ble ekstrahert fra vattpinnene med 5 % Chelex 100 (8, 10) og så kvantifisert med Quantifiler® Duo DNA Quantification Kit (9). Det ble deretter amplifisert og DNA-typet med AmpFISTR® NGM™ PCR Amplification Kit (11).

2.3.1 Ekstraksjon

Det eksisterer tallrike metoder for ekstrahering i rettsgenetisk arbeid. Organisk fenol-kloroform ekstraksjon og Chelex-metoden er blant de mest brukte. I vår studie benytter vi Chelex, som på grunn av at det produserer enkeltrådig DNA kun egner seg i de prosedyrene som baserer seg på PCR-amplifisering.

Chelex 100 (8,10) har vært på markedet siden 1991 og brukes til å ekstrahere DNA fra rettsmedisinsk materiale. Det inneholder ingen organiske væskeløsninger og krever vanligvis ikke at materialet overføres mellom prøverør i flere trinn, kun ett prøverør benyttes. Da reduseres risikoen for at prøven kontamineres med annet organisk materiale underveis i prosessen. Chelex-løsningen inneholder også et konserveringsmiddel, EDTA, som binder opp magnesiumet i cellematerialet. Nukleasene, som er avhengig av magnesium for å fungere optimalt, blir dermed inaktivert og man unngår degradering av DNAet.

Den biologiske prøven tilsettes en 5 % Chelex-oppløsning og kokes på 100 grader i noen minutter for å løse opp cellemembranen, ødelegge intracellulære proteiner og denaturere DNAet. Etter sentrifugering blir Chelex-komponentene og celledbris liggende nederst mens DNAet blir liggende øverst, og DNAet kan dermed ekstraheres, kvantifiseres og overføres til PCR-prosessen. DNA ekstrahert med denne metoden virker å være mindre tilbøyelig til å inneholde PCR-hemmere, og metoden skal være like effektiv som eller mer effektiv enn å benytte proteinase K og fenol-kloroform ekstraksjon (8).

Ved mulig opphold mellom ekstraksjon og kvantifisering/amplifisering lagres DNAet på -20 til -80 grader celsius for å unngå enzymatisk aktivitet fra nukleaser som degraderer DNAet.

2.3.2 Kvantifisering

Kvantifisering av mengde DNA, målt ved konsentrasjon av DNA i ekstraksjonsproduktet og angitt i ng/ μ l, er nødvendig siden alle PCR-kit fungerer best innenfor et gitt referanseområde av DNA-mengde (9). Dette referanseområdet er lite, for eksempel 1-2,5 ng/ μ l, mens konsentrasjonen i en ekstrahert prøve kan variere stort. For å oppnå allele-topper i DNA-typingen som er tydelige men som samtidig ikke går utenfor skalaen, er det derfor nødvendig å kvantifisere prøven. Ønsket volum fra prøven kan så måles opp for å passe optimalt til det benyttede PCR-kittet.

Quantifiler® Duo DNA Quantification Kit (9) har vært på markedet siden 2008. Det er en humanspesifikk kvantifiseringsmetode som gjennom én PCR-syklus kombinerer en kvantifisering av total mengde humant DNA og mannlig humant DNA (Y-kromosomet) til å bestemme forholdet mellom mannlig og kvinnelig DNA i prøven. Ved å observere terskeltemperaturen for ulike stadier i syklusen, som forteller hvilke temperatur som skal til for at DNA skal gjennomgå denaturering, primertilkobling og kopiering, kan det samtidig avdekke om PCR-hemmere fra annet organisk cellemateriale er tilstede i prøven. Prøven kan i så tilfelle kjøres gjennom en ekstra rensingsprosess. Kittet kan også avdekke så lite som 25 pg/ μ l mannlig DNA i en prøve som inneholder flere tusen ganger mer kvinnelig DNA.

Kittet er en forbedring fra tidligere benyttede hybridiserings-kit ved at det klarer å avdekke færre kopier av mål-DNAet slik at det får fram gode STR-segmenter fra mindre mengder DNA enn tidligere. Det er også designet til bedre å fange opp ønsket DNA-sekvens, og det måler forholdet mellom kvantifisert DNA-mengde og PCR-oppnådd DNA-mengde for hver PCR-syklus inntil ønsket metningspunkt.

Basert på mengdeforholdet mellom mannlig og kvinnelig DNA og avdekkingen av eventuelle PCR-hemmere, brukes resultatet til å velge det kjemisk best tilpassede kittet for STR-amplifisering og DNA-typing. I vår studie har vi benyttet AmpFISTR® NGM™ PCR Amplification Kit (11).

2.3.3 Amplifisering

Etter kvantifisering gjennomgikk prøvene 29 PCR-sykluser i amplifiseringsprosessen. Vi benyttet et kommersielt tilgjengelig kit (11) bestående av 16 STR-markører på DNA-molekylet. Én av markørene er en kjønnsmarkør. De andre 15 markørene er valgt ut fra spesifikke ikke-kodende sekvenser i kromosomene som ikke gir noen informasjon om opphavspersonenes egenskaper annet enn kjønn. Det er derfor ikke mulig å bruke resultatene til å identifisere personer uten å sammenligne dem med en allerede kjent DNA-profilreferanse fra personen selv eller dens slektninger.

Short tandem repeats (STR) er deler av DNAet som består av sekvenser på fire basepar som ligger etter hverandre mange ganger, noen steder opptil flere hundre ganger, slikt at hele sekvensen kan bestå av over tusen basepar. STRene koder ikke for proteiner, og de kan dermed ikke brukes til å si noe om egenskapene til en person. Det er stor variasjon i

befolkningen når det gjelder hvor lange STRene er, og bare eneggede tvillinger har like lange STRer over hele genomet. Ved å trekke ut og måle flere ulike STRer fra genomet, kan man få et genetisk avtrykk som er unikt for et individ.

The AmpFISTR® NGM™ PCR Amplification Kit (11), tilgjengelig siden 2009, analyserer flere kortere STR-segmenter i DNAet enn tidligere utviklede kit. Enkelte er mindre enn 200 basepar, og kittet egner seg derfor bedre til å analysere delvis ødelagte prøver som inneholder mer degradert DNA. Det er anbefalt å tilføre minimum 1 ng DNA for å få fram en optimal DNA-profil. Flere DNA-markører i kittet øker muligheten til å diskriminere mellom ulike DNA-profiler, selv der det er sparsomt med DNA.

PCR er en enzymprosess der DNAet varmes opp og kjøles ned til bestemte temperaturer i gjentatte sykluser for å kopiere opp og mangedoble utvalgte sekvenser av DNAet, såkalte STRer. STRene plukkes ut ved at man i DNA-løsningen tilsetter høye konsentrasjoner av primere som er spesifikke for de sekvensene man ønsker å kopiere. Hver PCR-syklus består av tre nivåer på henholdsvis 94, 60 og 72 grader, som er nøyaktig regnet ut for å katalysere tre prosesser i ønsket rekkefølge; splitting av DNA-trådene, tilkobling av tilsatte primere og kopiering av enkelttrådene til dobbelt-tråd DNA. For hver syklus dobles antallet STRer. Hver syklus tar cirka 5 minutter, og prosessen kjøres vanligvis rundt 28 ganger. Etter så mange sykluser vil en STR være oppkopiert til omtrent en milliard kopier (10).

2.3.4 DNA-typing

Selve DNA-typingen skjer ved elektroforese. Den beste metoden for DNA-typing de seneste 10-15 årene, både for å diskriminere mellom individer og med tanke på hastigheten analysen kan utføres med, har vist seg å være elektroforese av multiple korte og ikke fullt så korte STR-alleler (10). De 16 oppkopierte STR-allelene farges med fluorescense før de kjøres gjennom elektroforese.

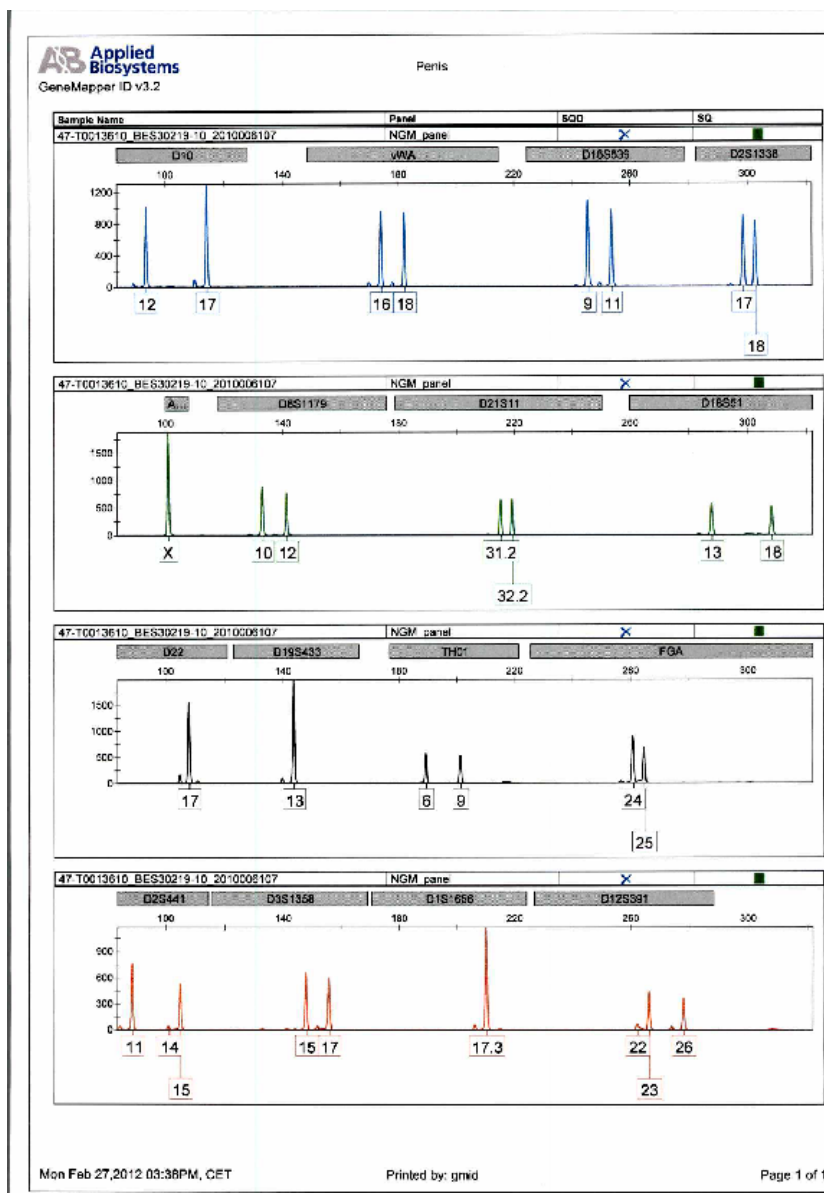
Elektroforese er en biokjemisk teknikk hvor man ved hjelp av et elektrisk felt gjennom en gel, som er bygget opp av organiske polymerer, kan separere organiske molekyler av ulik størrelse og elektrisk ladning fra hverandre (10). En positiv pol i den ene enden trekker molekylene gjennom gelen, og jo mindre partikler og jo større negativ ladning de har, jo raskere vil de vandre mot den positive polen, også avhengig av gelens porestørrelse. Alle DNA-fragmenter er negativt ladd og vil vandre mot polen, men med ulik hastighet avhengig av antall basepar på STRen. Etter en gitt tid bruker man mønsteret som oppstår i gelen til å lage en DNA-profil.

Hver STR-markør skiller fra de andre markørene ved at den har en egen lengde og en av flere brukte farger, mens hver allele for én markør skiller fra de andre på lengden/antall basepar alene. Fargen kommer fra fluorescense-farging under amplifisering. Kjønnsmarkøren vil gi to topper fra mannlig DNA (fra X og Y) og kun én og høyere topp fra kvinnelig DNA (X og X). I en blandingsprøve med materiale fra hvert kjønn, vil den mannlige X-toppen normalt finnes som en del av den kvinnelige allele-toppen, slik at man ser til sammen to kjønnsalleler av ulik høyde. Dersom mannlig og kvinnelig DNA finnes i omtrent like store mengder i

prøven, vil X-toppen være omtrent tre ganger så stor som Y-toppen (to deler X fra kvinnen og en del X fra mannen).

På de resterende 15 markørene vil hvert individ maksimalt bidra med to allele-topper per markør. Dersom en markør har tre eller flere allele-topper, vet man at det minst må være to personer som har bidratt med DNA til prøven, og det vil kalles en blandingsprofil. Når man så har fått fram en DNA-profil, sammenligner man den med referanseprofiler fra for eksempel en tiltalt og en fornærmede, og man vil se hvem som har bidratt med hvilke allele-topper. Om ikke alle 16 markørene ses tydelig, vil man kalle det en delvis DNA-profil, eventuelt en delvis blandingsprofil dersom noen av markørene har tre eller flere toppe.

En fullstendig DNA-profil fra én person, der man har fått treff på alle 16 markører (STRer) og amplifisering har gitt nødvendig mengde til å få fram tydelige allele-topper, vil se slik ut:

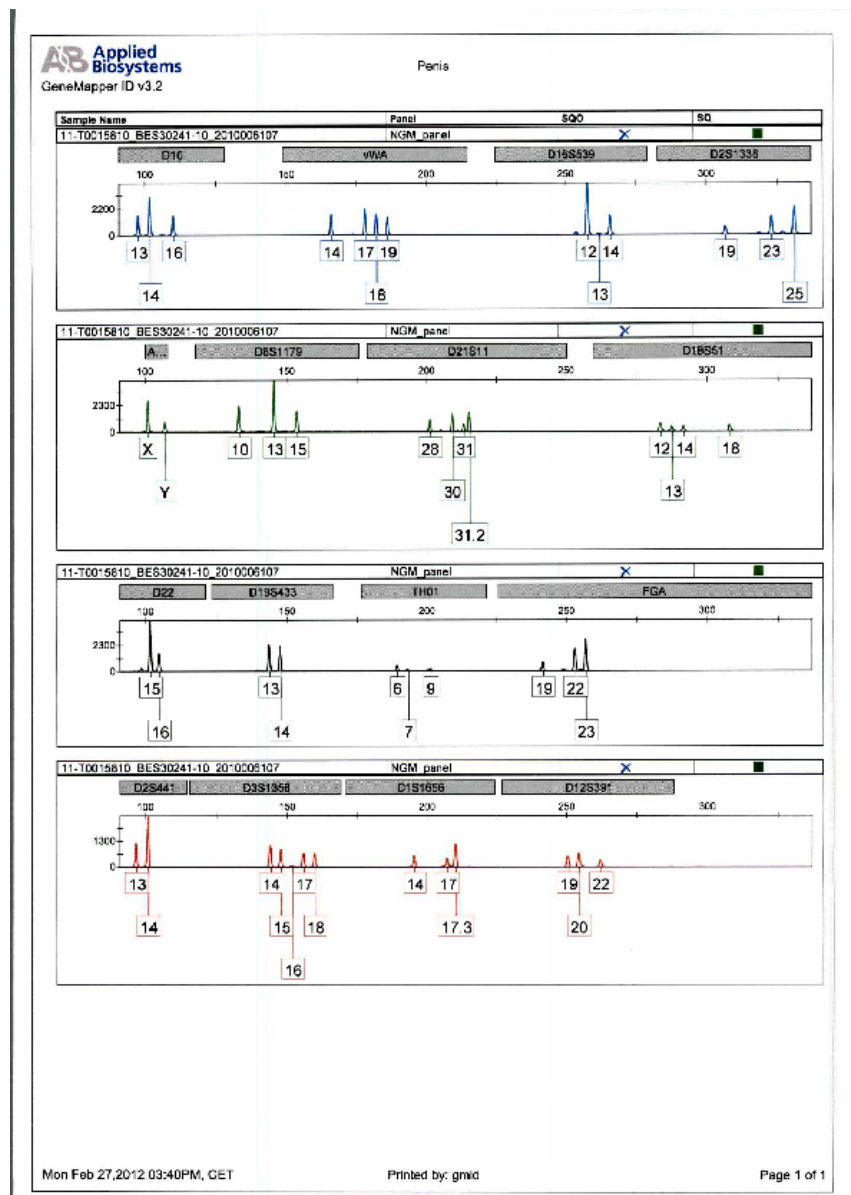


Figur 1.

DNA-profil av kvinnelig opprinnelse, fra prøve sikret fra penisstift etter vaginalt samleie. Kjønnsmarkøren til venstre i 2. rad.

Kilde: Avdeling for biologiske spor

En delvis blandingsprofil fra to personer, der man har fått treff på alle 16 markører (STRer) men der enkelte allele-topper nesten ikke er synlige, vil se slik ut:



Figur 2.

Blandingsresultat med DNA av både kvinnelig og mannlig opprinnelse i jevnt mengdeforhold, prøve sikret fra penishode etter vaginalt samleie.

Kilde: Avdeling for biologiske spor

DNA-profilene som er fremskaffet fra vattpinnene i vårt prosjekt er til slutt blitt sammenlignet med referanseprøvene fra forsøkspersonene, for å kontrollere at det er samsvarende DNA-profiler som brukes når vi setter opp resultatene.

Etter at prøvene var ferdig typet, analysert og tolket, ble alle prøver og vattpinner destruert.

2.3.5 Oppsett og tolkning

Prøvene har blitt analysert med tanke på to forhold; total mengde DNA avgitt ved vattpinneavstryk under de to ulike situasjonene og forholdet mellom mannlig og kvinnelig DNA, samt kvaliteten på DNA-materialet.

I den første delen av analyseringen har vi kun benyttet kvantiteringsresultatene og sett på total mengde DNA som ble avsatt ved vattpinneavstryk av penis tatt innen en time etter intervensjonen, som var enten vaginalt samleie eller sekundær hudkontakt (se tidligere i metodekapittelet). Vi har skilt prøvene etter lokalisasjon på penis. Videre har vi benyttet kvantifisert Y-mengde (som er kun fra mann) til å beregne forholdstallene mellom kvinnelig og mannlig DNA-mengde i prøvene.

Når prøvene så er analysert og sammenlignet ut fra kjønnsdeling, er de 33 prøvene avgitt etter samleie og de 33 prøvene avgitt etter sekundær hudkontakt (11 par, 3 forsøk i hver situasjon) inndelt i hver sin tabell og gruppert avhengig av kvalitet på prøvene etter kriterier som gitt nedenfor. Inndelingene er gitt engelske navn med tanke på presentasjon på internasjonale konferanser og senere publisering i internasjonalt tidsskrift. Partial (eng.) = delvis. Major (eng.) = større (forholdsmessig). Minor (eng.) = mindre (forholdsmessig).

- DNA profile (XX) – antall prøver som ga full profil på kvinnelig DNA, altså allele-topper på alle 16 DNA-markører, men ingen topper fra mannlig DNA
- DNA profile (XY) - antall prøver som ga full profil på mannlig DNA, altså allele-topper på alle 16 DNA-markører, men ingen topper fra kvinnelig DNA
- Partial profile (XX) – antall prøver som ga delvis kvinnelig profil, altså allele-topper på mellom 1-15 DNA-markører, men ingen topper fra mannlig DNA
- Partial profile (XY) – antall prøver som ga delvis mannlig profil, altså allele-topper på mellom 1-15 DNA-markører, men ingen topper fra kvinnelig DNA
- Major XX/minor XY – full profil (16 markører) for begge kjønn, men et mengdeforhold på minst 60/40 i kvinnelig favør på alle 16 DNA-markører
- Major XY/minor XX – full profil (16 markører) for begge kjønn, men et mengdeforhold på minst 60/40 i mannlig favør på alle 16 DNA-markører
- XX/XY – full profil for begge kjønn, men et relativt jevnt mengdeforhold, mindre enn 60/40 i noe retning på flere eller alle av markørene
- Major XX/partial XY – full profil (16 markører) for kvinnelig DNA, men bare delvis profil (mellom 1-15 markører) for mannlig DNA. Et mengdeforhold på minst 60/40 i kvinnelig favør på alle markører
- Major XY/partial XX – full profil (16 markører) for mannlig DNA, men bare delvis profil (mellom 1-15 markører) for kvinnelig DNA. Et mengdeforhold på minst 60/40 i mannlig favør på alle markører
- Partial major XX/partial minor XY – delvis profil (mellom 1-15 markører) for begge kjønn, men et mengdeforhold på minst 60/40 i kvinnelig favør

- Partial major XY/partial minor XX – delvis profil (mellom 1-15 markører) for begge kjønn, men et mengdeforhold på minst 60/40 i mannlig favør
- Partial XX/XY – delvis profil for begge kjønn og relativ likt mengdeforhold, det vil si mindre enn 60/40 overvekt for flere eller alle markører
- Negative – ikke nok markører til å rapportere et gyldig resultat, normalt to eller færre markører på bare et av kjønnene

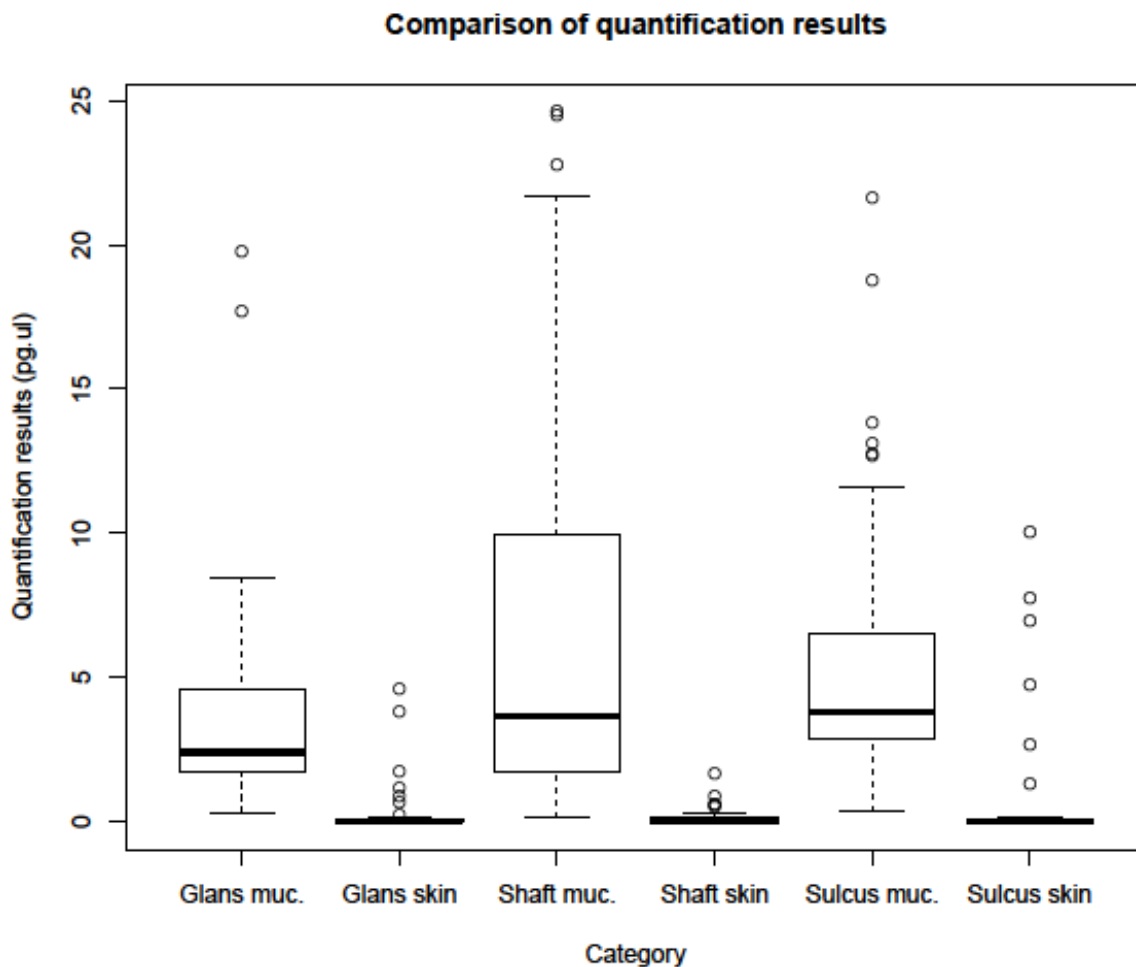
Mengdeforholdet analyseres ved å se på høyden på allele-toppene. Der et eller begge kjønn har delvis profil, sammenlignes både de markørene som har gitt utslag hos begge og de som kun har gitt utslag hos et kjønn.

Selv på de prøvene som i utgangspunktet ikke har inneholdt nok humant DNA til normalt å gi et DNA-resultat, er det likevel kjørt elektroforese og gjort DNA-typing. De fleste av disse prøvene har kommet ut som negative.

3 Resultater

3.1 Kvantifisering og forholdstall

Etter ekstrahering og kvantifisering ble prøveresultatene gruppert etter testforhold og anatomisk lokalisasjon på penis: glans penis, sulcus coronarius og penisskaftet henholdsvis etter vaginalt samleie og etter sekundær hudkontakt, til sammen seks grupper. Vi fikk et boksplot som ga følgende figur:



Figur 3.

N = 33 for hver kolonne. Det er brukt engelske termer med tanke på senere publisering. Muc (mucous, eng.) = slim, refererer til forsøk etter vaginalt samleie. Skin (eng.) = hud, refererer til forsøk etter sekundær overføring etter hudkontakt. Glans = glans penis, shaft (eng.) = skaft, penisskaftet og sulcus = sulcus coronarius.

Tykk, svart strek = median. Tynn, svartlinjert boks = 75 % konfidensintervall. Tynne, svarte streker på enden av svartpikkede linjer = 95 % konfidensintervall. Små, svarte rundinger = ytterpunktene av enkeltresultater.

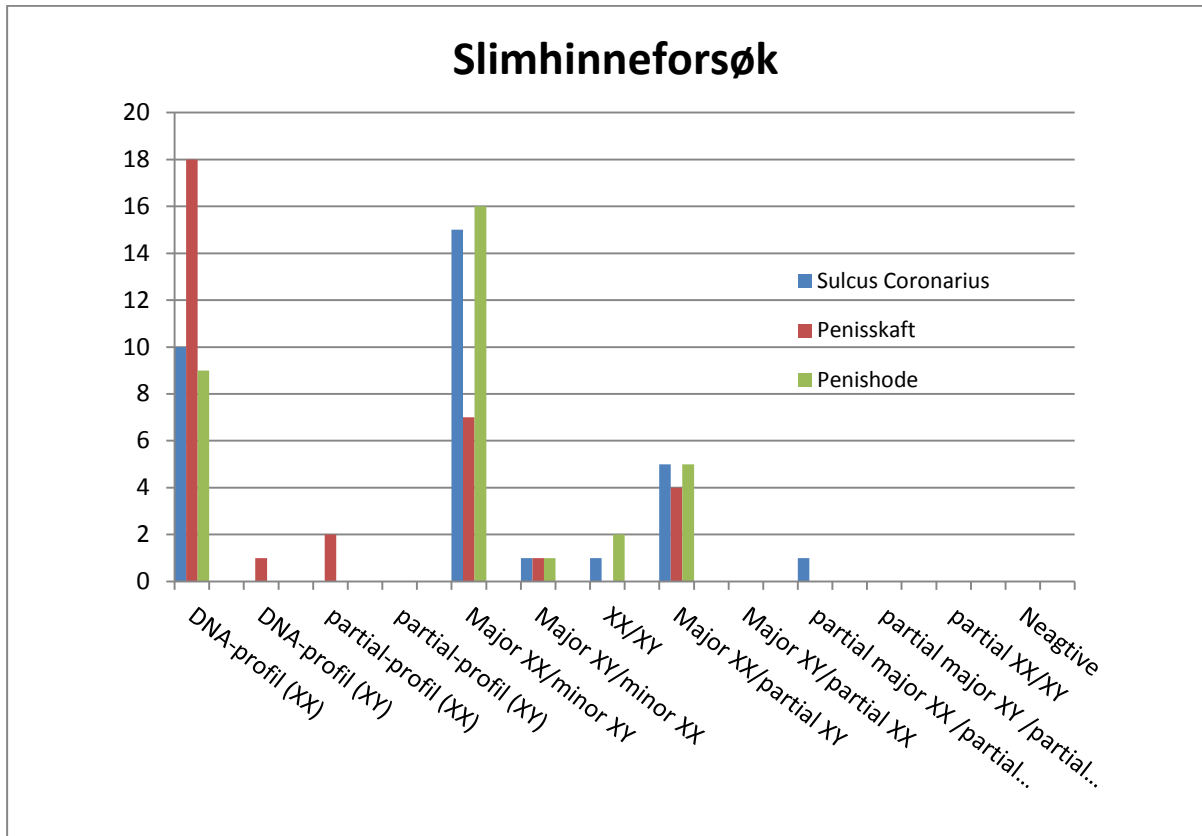
Ser vi nærmere på tallene (appendiks 2) som gir figur 3 og regner ut mengdeforholdet mellom mannlig og kvinnelig DNA (i appendikset: Y/tot.), så kan vi sette opp følgende tabell:

	Sulcus, N=33	Skaft, N=33	Glans, N=33
Slimhinneforsøk			
Median total DNA	3,82 ng/μl	3,68 ng/μl	2,42 ng/μl
Median Y-mengde/total DNA i %	7,2 %	1,9 %	11,0 %
Hudforsøk			
Median total DNA	0,02 ng/μl	0,03 ng/μl	0,01 ng/μl
Median Y-mengde/ total DNA i %	96,7 %	100,0 %	100,0 %

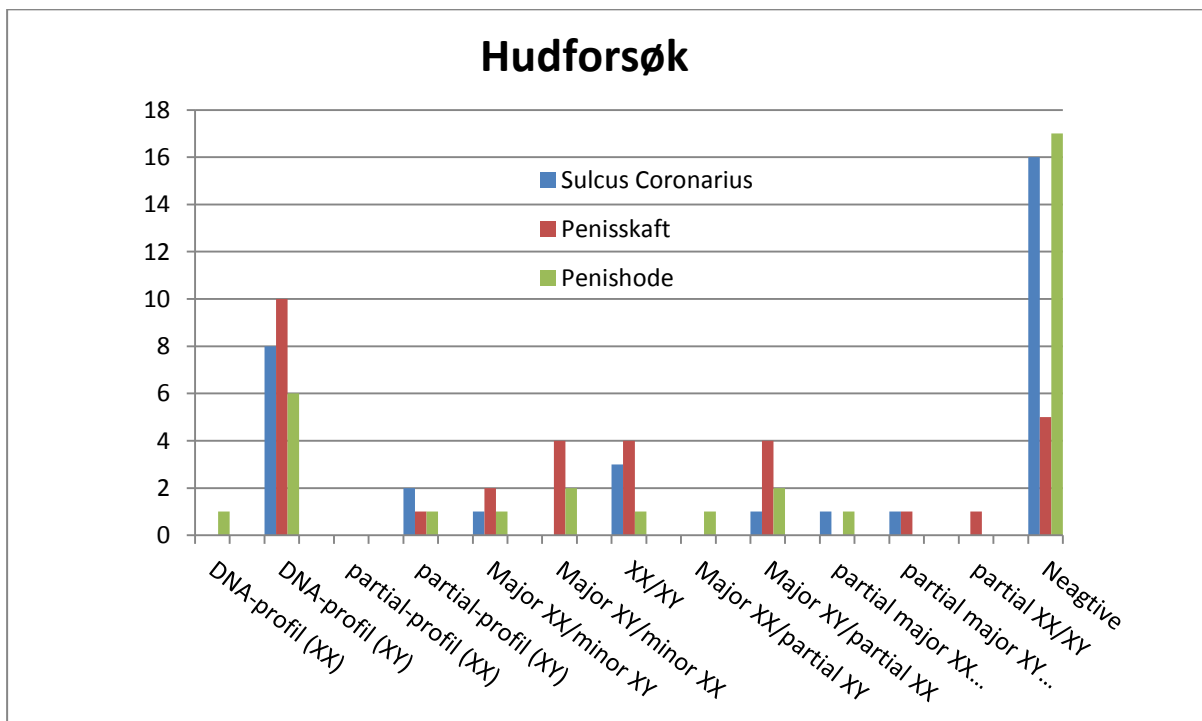
Tabell 1.

3.2 DNA-typing

Etter kvantifisering ble det gjort PCR og DNA-typing. Delt inn i to figurer etter forsøk gjort etter vaginalt samleie og forsøk gjort etter sekundær overføring ved hudkontakt, ga det følgende figurer (neste side):



Figur 4.



Figur 5.

N = 33 for alle tre fargekoder. Grønn = prøver fra glans penis. Rød = prøver fra skaftet. Blå = prøver fra sulcus coronarius. Forklaring til de inndelte grupperingene er gitt i metodedelen.

4 Diskusjon

4.1 Drøfting av resultater

Som vi ser av appendiks 2, som viser bakgrunnstallene for figur 3 og tabell 1, så har prøvene gitt en stor variasjon av resultater med noen svært avvikende enkeltresultater, og det er da statistisk riktigere å ta utgangspunkt i medianverdiene heller enn gjennomsnittsverdiene som sammenligningsgrunnlag. Boksplottet (figur 3) viser såpass tydelig forskjeller, at etter å ha konferert med en statistiker og diskutert oss imellom, har vi funnet at det ikke er nødvendig å regne på P-verdier med disse resultatene. Konfidensintervaller vises i figuren.

Vi ser at det ble avsatt klart mer total mengde DNA fra hver av de tre anatomiske lokalisasjonene etter et vaginalt samleie enn etter sekundær hudkontakt. Resultatene viser også at cellemateriale bare avsettes i svært begrenset grad ved sekundær overføring fra hud til hud, noe som samsvarer godt med tidligere forskning på sekundær overføring mellom andre materialer (5, 7). Selv om det er to ulike kontakter ved de to situasjonene i vår studie, slimhinne og hudoverflate, og at de dermed ikke kan direkte sammenlignes med den primære og sekundære overføringen som ble undersøkt i studien til Goray et al. (5) eller litteraturstudien til Wickenheiser (7), ser vi at forholdet i DNA-mengde som blir avsatt på vattpinnene i de to situasjonene er i omtrent samme størrelsesorden som de fant i tester med kun hudkontakt, der fallet i avsatt DNA-konsentrasjon i noen forsøk var flere 100-foldig fra primær- til sekundæroverføring. Det er mulig å tenke seg at det overføres mer DNA ved primæroverføring mellom slimhinne og penis enn mellom hudoverflate og penis, men sannsynligvis likevel ikke i så store forskjeller som vi ser her. Hud må kunne defineres som glatt, ikke-porøs overflate og skal sann sett være en god primærkilde for avsetning av DNA, ifølge studien til Goray et al (5). Med utgangspunkt i vår hypotese, er det heller ikke mulige årsaker til at konsentrasjonsforskjellene er så store som er interessant, men det faktum at DNA i veldig liten grad ser ut til å avsettes etter sekundær hudkontakt. Disse resultatene styrkes derfor av tidligere studier (5, 7). Det er det som er den praktiske nytteverdien av resultatene. Med så tydelige forskjeller kan resultatene brukes til å si noe om sannsynligheten for primær eller sekundær overføring, uavhengig av type kontakt, gitt at man har en faktisk prøveverdi fra en person/mistenkt. Resultatene våre bekrefter også funnene til Wickenheiser (7) om at DNAet til en andreperson vil "drukne" eller kun utgjøre en liten mengde i forhold til bæreren som så står for sekundæroverføringen. Y-mengde/total DNA-mengde etter hudforsøk (tabell 1) bekrefter dette.

Vi ser også at vattpinneavstryk fra sulcus coronarius og på skaftet muligens gir en noe større mengde DNA enn avstryk fra glans, selv om disse forskjellene med vårt datagrunnlag er for små til å trekke klare konklusjoner. Blir disse resultatene bekreftet i større studier, kan dette være nyttig kunnskap i utarbeidelsen av prøvetakingsprotokoller.

Går vi inn i forholdstallene mellom mannlig og kvinnelig DNA i slimhinneforsøkene, ser vi at medianverdien for kvantum mannlig DNA (Y-mengde i %) utgjør henholdsvis 7,2; 1,9 og

11,0 % for de tre lokalisasjonene. Medianverdien i hudforsøkene viser at Y-mengden utgjør henholdsvis 96,7; 100,0 og 100,0 % av total DNA-mengde. I hudforsøkene er total mengde DNA i mange prøver så liten at vi ikke oppnår gyldige resultater. Uansett viser prøvene tatt etter vaginalt samleie at de består av en klar overvekt av kvinnelig DNA, mens det ble avsatt lite eller ikke noe påviselig kvinnelig DNA ved sekundær hudoverføring. Dette siste funnet samsvarer med funnene til Wickenheiser (7). Dersom det gjøres større studier med et lengre tidsintervall før prøvetaking, og som bekrefter denne klare skjevheten i mengdeforhold, kan de resultatene muligens fortelle oss mer om prøver som i reelle situasjoner er tatt etter lengre tid og som avsetter mindre mengder eller mer degradert DNA.

Det kan innvendes at når det avsettes lite kvinnelig DNA, som vi ser i hudforsøkene, så vil selv en liten mengde mannlig DNA utgjøre en forholdsmessig stor del av prøven, og at de forholdstallene vi har fått derfor er å forvente, gitt lite kvinnelig DNA. Det vil være interessant å forske på, dersom det lar seg gjøre å verve deltakere, hvordan forholdstallene etter et vaginalt samleie i prøver tatt over tid utvikler seg. Collins et al. (1) har vist ved fluorescence-farging og mikroskopering at kvinnelige celler synes under mikroskopet i minst 24 timer etterpå, mens mannlige celler ikke synes. En studie som bruker samme kvantifiseringsmetode som vi har brukt, og som forsker på samme tidsrom som (1), altså 24 timer eller lenger, vil kunne si mer om i hvilket tempo kvinnelig DNA degraderes eller støtes av fra penis igjen etter samleie, og hvilke faktorer som er mest avgjørende.

Resultatene som vises i figur 4 og 5, som er inndelt etter at alle prøver er DNA-typet, styrker resultatene vi fant da vi kvantifiserte og målte forholdet mellom kvinnelig og mannlig DNA i prøvene.

Etter vaginalt samleie (figur 4) fordeles cirka 90 % av prøvene på tre grupper, som alle inneholder en full kvinnelig DNA-profil og enten ingen mannlig markører, full mannlig profil men lite mengde DNA eller kun en delvis mannlig profil. En av de resterende prøvene ga kun full mannlig profil. Dette kan enten være et svært avvikende gyldig resultat eller skyldes ombytting av prøver fra et av deltakerparenes side. Etter sekundær hudkontakt (figur 5) fordeles mer enn 50 % av prøvene seg på to grupper; full mannlig profil og ingen kvinnelige markører eller negativ prøve. De resterende prøvene er spredt utover hovedsakelig 6-7 andre grupper, hvor én av gruppene (Major XX/minor XY) korrelerer med en av de tre hovedgruppene i figur 4. Dette forvirrer bildet noe, og gjør oss igjen usikre på om prøven skyldes en ombytting. Veilederen som har bearbeidet og tolket resultatene (M. Bouzga) bekrefter at det er det samme paret som står bak $\frac{3}{4}$ -deler av utslaget i denne gruppen som også står bak det avvikende resultatet (Major XY/minor XX) i figur 4.

Ser vi bort fra den avvikende prøven, gir figur 5 en bekreftelse på at kvinnelig DNA avsettes i liten eller ingen grad ved sekundær hudkontakt og at det er vanskelig å få fram en full DNA-profil fra kvinne i denne situasjonen, selv når prøven er sikret kort tid etter kontakt. Siden prøvene i studien vår er tatt innen en time etter kontakt og uten dusj/vask i mellomtiden, sier disse resultatene noe om omtrentlig maksimal mengde og/eller konsentrasjon av kvinnelig DNA som lar seg overføre sekundært, selv om datagrunnlaget (N=33) i vår studie er lite. En større studie på akkurat denne testsituasjonen bør søkes å få utført.

Dette vil likevel være praktisk nyttige opplysninger i de tilfeller der man får fram en god kvinnelig profil, selv om prøven tas flere timer eller døgn etter et påstått vaginalt samleie. En alternativ forklaring om sekundær hudoverføring i et slikt tilfelle vil være vanskelig å støtte med de funnene vi har her.

Inndelingen i prøveresultater som vi har gjort i figur 5 viser samtidig hvilket sprik man får ved prøver tatt i like situasjoner, med en blanding av rene profiler, blandingsprofiler og mange delvise profiler, og dermed hvilken utfordring man har når man skal tolke en enkelt prøve tatt i en gitt situasjon. Man kan tenke seg at selv med mange flere deltakende par, så vil man kunne anta, tatt vårt datagrunnlag i betraktning, at man fortsatt vil se et stort sprik i kvaliteten på prøvene.

Oppsummert, så er det likevel den første delen av analysene, kvantifisering og mengdebestemmelse, som trolig gir mest praktisk nyttig kunnskap om DNA-overføring ved vaginal og sekundær kontakt. Disse funnene styrkes av resultater fra andre sammenlignbare studier gjort på dette feltet.

4.2 Feilkilder

Det er selvfølgelig en rekke mulige feilkilder til en studie som dette. Det mest åpenbare er utførelsen og prøvetakingen, siden det er 11 ulike par som har gjort testene og at ikke én og samme person har vært til stede ved alle forsøkene og prøvetakingene for å kontrollere at de gjøres noenlunde likt. Dette lar seg ikke praktisk løse, slik vi ser det, og vi er nødt til å stole på at deltakerne har utført forsøkene så tett opp mot slik vi beskrev det i informasjonsskrivet. Det er noen svært avvikende resultater blant prøvene, noe som gjør at vi mistenker at et av parene kan ha byttet prøver med forhåndsmerkede sikringsposer. Dette viser en mulig feilkilde med potensielt store utslag. Vi har derfor brukt median og ikke gjennomsnitt i videre drøfting av resultatene, for å minimere følgen av slike avvikende resultater.

En annen feilkilde er den som alltid følger rettsgenetisk arbeid, nemlig risikoen for forurensing og kontaminering av prøvene under innsamling, transport og analysering. I vår studie har deltakernes DNA-profil vært kjent på forhånd gjennom referanseprøver, men det er likevel mulig at selve kvaliteten på prøvene har blitt redusert på grunn av ikke-optimale forhold i ulike ledd fra prøvetaking til endelig DNA-profilering. Dersom det har skjedd, vil det kunne påvirke særlig hvilken undergruppe prøvene havnet i på figur 4 og 5. Hva gjelder mulig kontaminering under analysearbeidet, så er det en styrke for studien at analysene er gjort i et rettsmedisinsk laboratorium, som er innordnet for å bevare høyest mulig grad av rettssikkerhet. Prøvene fra de ulike parene er analysert hver for seg og med laboratoriets faste rutiner for bruk av utstyr og rom. I tillegg har vi ikke hos noen par fått opp alleler som ikke har matchet med referanseprøvene for tilhørende par, og vi kan derfor føle oss sikre på at prøvene i hvert fall ikke er forurenset med annet organisk materiale.

En tredje problemstilling som gjør det utfordrende å overføre resultatene fra denne studien til praktisk rettsmedisin er at prøver tatt etter faktiske mulig kriminelle forhold sjelden tas så kort

tid etter kontakt eller uten forstyrrelser som vask/dusj mellom kontakt og prøvetaking, slik forholdene er i vår studie. Prøvene vil derfor kunne vise mye mindre mengde eller andre forholdstall, noe som gjør vurderingen mer usikker. I det virkelige liv er det mange aspekter og variabler som spiller inn, som dusjing, kontakt med andre effekter og individer og ofte lengre tid fra kontakt til prøvetaking. Men i en studie som denne er det nødvendig med et standardisert opplegg for i det hele tatt å ha mulighet til å trekke konklusjoner ut fra resultatene. Det denne studien uansett kan bidra til, er å styrke vurderingsgrunnlaget for de sakkyndige i de tilfellene der man faktisk har gode prøver.

Så vil en studie med kun 11 deltakende par og der $N = 33$ for de ulike testforholdene kreve store forskjeller for å kunne vise statistisk signifikans. Nå var resultatene vi fikk som forventet ut fra den enkle hypotesen vi satt opp, men dersom man ønsker å studere de samme problemstillingene med flere variabler, både hva gjelder testforhold og tidsaspekt, så vil det kreve en mye større deltakelse og et større datagrunnlag for å kunne trekke interessante konklusjoner.

De tre parene som fikk utdelt men ikke leverte inn prøver, oppga alle praktiske forhold som ikke har noe med selve studien å gjøre som årsak til at de ikke leverte. Ettersom alle deltakerne utgjorde én gruppe som alle skulle utføre samme type intervensjon og prøvetaking, er det ingen grunn til å tro at dette frafallet på tre par vil utgjøre noen forskjell på resultatene, annet enn at $N = 33$ istedenfor $N = 42$ for de to studerte situasjonene, og at dermed resultatene krever tydeligere forskjeller for å ha statistisk signifikans. Som vi så av forskjellene mellom avsatt DNA i de to ulike situasjonene (figur 3), så var likevel resultatene tydelige nok til å vise klare forskjeller.

4.3 Oppsummering

Resultatene bekrefter langt på vei vår hovedhypotese. Kvinnelig DNA avsettes på penis i stor grad etter vaginalt samleie, men bare i liten eller ingen grad ved sekundær hudkontakt.

Man får noe større mengder DNA på prøver tatt fra sulcus coronarius og penisskaftet i forhold til prøver tatt fra glans penis, men mengdeforholdet er relativt lite.

Denne studien må betraktes som en pilotstudie, som styrker vår opprinnelige hypotese, men som på grunn av størrelse og gjennomføring ikke gir oss et sikkert grunnlag til å trekke andre konklusjoner enn de som er gitt over. Det er ønskelig med mer forskning, først og fremst større studier, med flere variabler og under mer kontrollerte forhold.

5 Egne synspunkter og takk

Det har vært veldig interessant og lærerikt å sette seg inn i rettsgenetiske analysemetoder og bidra til at en klinisk studie har ført fram til et resultat, om enn bare som en liten pilotstudie.

Da jeg tok kontakt med Åshild Vege i første omgang, så jeg for meg et prosjekt med obduksjoner og blod og diverse. Men etter å ha diskutert litt med veileder Per Hoff-Olsen, skjønnte jeg at det vi endte opp med kunne være vel så gøy å bidra til. Jeg innså at det er viktig ikke å lage en oppgave eller en studie som blir for stor og omfattende, da det fort kan føre til tidspress, løse tråder som ikke blir fulgt opp og avsluttet og en dårlig skrevet oppgave. Det vi endte opp med virket veldig gjennomførbart og konkret.

Veilederne mine, hovedsakelig Per Hoff-Olsen, skrev søknaden til regional etisk komité og fulgte opp bemerkningene fra komitéen. De to veilederne og jeg sammen diskuterte oss fram til hvordan studien skulle gjennomføres og hvilke variabler som skulle med.

Jeg har selv stått for vervingen av deltakere til prosjektet, noe som ikke krevde altfor mye overtalelsesevner. Deltakerne synes det var et spesielt, men morsomt prosjekt, særlig da de fikk høre at dette kunne føre fram til resultater som lar seg bruke i videre rettsmedisinsk arbeid. Mens vervingsprosessen pågikk, har Mariam Bouzga og jeg pakket vattpinner og sendt ut til deltakerne. Videre har jeg fulgt opp spørsmål fra deltakerne til prøvene var tatt og sendt tilbake til avdelingen.

Videre bearbeiding og analyser av prøvene er gjort av veilederne mine og andre medarbeidere på Avdeling for biologiske spor. Jeg har fått en innføring i hva som skjer, men på grunn av manglende sikkerhetsklarering og lite eller ingen erfaring med å håndtere prosedyrene, har jeg ikke bidratt noe mer direkte i analyseringen. Veilederne, i hovedsak Mariam Bouzga, har tatt seg av bearbeiding og tolking av resultatene.

Etter at resultatene var klare, har vi tre sammen gått gjennom dem og blitt enige om hvordan de skulle framstilles i denne oppgaven. De to veilederne mine har under skriveprosessen gitt gode og grundige tilbakemeldinger på ulike deler av oppgaven.

Hele prosessen har i alt gitt meg et interessant innblikk i rettsgenetiske metoder. Jeg har lært en del om utfordringer ved prøvetaking, hvordan de jobber videre med prøvene, og samtidig lært hvor usikkert et spor/resultat kan være når man ikke kjenner historien foran.

Jeg ønsker å takke de to veilederne mine, dr.med. Per Hoff-Olsen og senioringeniør og sakyndig Mariam Bouzga, ved Avdeling for biologiske spor for alt samarbeid, uvurderlig hjelp, gode råd i skriveprosessen og tålmodighet med studenten, altså meg. Jeg håper studien kan brukes til noe.

6 Referanser

- (1) Collins KA, Cina MSJ, Pettenati MJ, Fitts M. Identification of Female Cells in Postcoital Penile Swabs Using Fluorescence In Situ Hybridization. *Arch Pathol Lab Med* – Vol 124, July 2000.
- (2) Lowe A, Murray C, Whitaker J, Tully G, Gill P. The Propensity of Individuals to Deposit DNA from Individuals to Inert Surfaces. *Forensic Sci Int* 2002; 129: 25-34.
- (3) Phipps M, Petricevic S. The Tendency of Individuals to transfer DNA to Handled Items. *Forensic Sci Int* 168 (2007) 162-168.
- (4) Lee HC, Ladd C. Preservation and Collection of Biological Evidence. *Croat Med J* 2001; 42: 225-228.
- (5) Goray M, Mitchell RJ, van Oorschot RAH. Investigation of Secondary DNA Transfer of Skin Cells under Controlled Test Conditions. *Legal medicine* 12 (2010) 117-120.
- (6) Goray M, Eken E, Mitchell RJ, van Oorschot RAH. Secondary DNA Transfer of Biological Substances under Varying Test Conditions. *Forensic Sci Int: Genetics* 4 (2010) 62-67.
- (7) Wickenheiser RA. Trace DNA: A Review, Discussion of Theory, and Application of the Transfer of Trace Quantities of DNA through Skin Contact. *J Forensic Sci* 2002; 47 (3): 442-450.
- (8) Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-based Typing from Forensic Material. *Biotechniques* 1991 Apr; 10 (4): 506-13.
- (9) Barbisin M, Fang R, O'Shea CE, Calandro LM, Furtado MR, Shewale JG. Developmental Validation of the Quantifiler® Duo DNA Quantification Kit for Simultaneous Quantification of Total Human and Human Male DNA and Detection of PCR Inhibitors in Biological Samples. *J Forensic Sci*, March 2009, Vol. 54, No. 2.
- (10) Butler JM. *Forensic DNA Typing*, 2nd edn. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.
- (11) [Http://marketing.appliedbiosystems.com](http://marketing.appliedbiosystems.com). AmpFISTR® NGM™ PCR Amplification Kit: The Perfect Union of Data Quality and Data Sharing. 3.6.2010.

7 Appendiks 1 og 2