

search in molecular epidemiology is currently expanding our knowledge of the natural history of TB. Access to the genome sequence has opened new avenues for research in drug development and new vaccines. However, we are still awaiting the impact of these efforts in the resource-poor TB endemic countries.

Reprints not available. Correspondence to: *Åse Bengård Andersen*, Epidemi-afdeling M5131, H:S Rigshospitalet, Blegdamsvej 9, DK-2100 København Ø. E-mail: bengaard@dadlnet.dk

Antaget den 19. december 2002.
H:S Rigshospitalet, Epidemiklinikken og Vævstypelaboratoriet, og Statens Serum Institut, Mykobakteriologisk Laboratorium.

Litteratur

1. Suffys PN, da Silva Rocha A, Oliveira M et al. Rapid identification of mycobacteria to the species level using INNO-LiPA Mycobacteria, a reverse hybridization assay. *J Clin Microbiol* 2001;39:4477-82.
2. Cole ST, Brosch R, Parkhill J et al. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature* 1998; 393:537-44.
3. Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R et al. Comparison of methods based on molecular epidemiological markers for typing of Mycobacterium tuberculosis complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J Clin Microbiol* 1999;37:2607-18.
4. Skjødt RLV, Agger EM, Andersen P. Antigen discovery and tuberculosis vaccine development in the post-genomic era. *Scand J Infect Dis* 2001; 33:643-7.

En supplerende referenceliste kan fås ved henvendelse til forfatterne.

Retsgenetik

STATUSARTIKEL

Niels Morling

Resumé

I denne oversigt gives der først en kort status over de molekylærbiologiske metoder, som i dag anvendes ved rets-genetiske undersøgelser i Danmark. I straffesager er der international konsensus om at undersøge *short tandem repeat* (STR)-regioner med polymerasekædereaktion (PCR)-baserede metoder, som er blevet standardiseret gennem internationalt samarbejde. I faderskabs- og familiesammenførings-sager undersøges både STR-regioner med PCR-baserede metoder og *variable number of tandem repeat*-regioner med restriktions-fragment-længde-polymorfi-teknik. Derefter redegøres der kort for nogle af de mest lovende rets-genetiske forsknings- og udviklingsområder, heriblandt undersøgelser af stadig mindre mængder DNA fra biologiske spor, *single nucleotide polymorphism* mhp. identifikation, påvisning af faktorer, som kan bidrage til signalementoplysninger og farmakogenetiske undersøgelser.

Udviklingen inden for molekylærbiologien har revolutioneret retsgenetikken, og i dag foretages stort set alle rets-genetiske undersøgelser med DNA-teknik. I denne oversigt gives der først en kort status over de molekylærbiologiske metoder, som i dag anvendes ved retsgenetiske undersøgelser i Danmark. Derefter redegøres der kort for nogle af de mest lovende retsgenetiske forsknings- og udviklingsområder.

DNA-undersøgelser i straffesager

I straffesager består den retsgenetiske opgave oftest i at afklare, hvorvidt DNA-undersøgelserne taler for eller imod, at biologisk materiale i et spor (f.eks. sæd, blod eller væv) hidrører fra en given person.

I straffesager er der for tiden international konsensus om

at undersøge repeteret DNA i mikrosatellitregioner – også kaldet *short tandem repeat* (STR). Undersøgelserne foretages med enzymatisk mangfoldiggørelse med *polymerase chain reaction* (PCR)-teknik af STR-regioner og efterfølgende analyse af længderne af STR-regionerne med DNA-sekvensanalysator (1). De undersøgte DNA-områder ligger mellem de kodende regioner i DNA'et og koder ikke for kendte egenskaber. Polymorfien inden for en STR-region består primært i forskelle i antal af repeterede DNA-sekvenser. Polymorfien betyder derfor også variation i den samlede længde af en STR-region fra person til person. PCR-baserede metoder kan anvendes på meget små mængder spormateriale, fordi man med PCR-teknikken kan opnå millioner til milliarder kopier af det DNA, som ønskes undersøgt. PCR-metoderne kræver imidlertid også, at der træffes en lang række særlige forholdsregler ved indsamling af spormaterialet og udførelsen af de PCR-baserede undersøgelser for at sikre mod forurening med uvedkommende DNA. Metoden er blevet standardiseret gennem internationalt samarbejde (1). Retsgenetisk Afdeling foretager for tiden undersøgelser af ti STR-systemer og det kønsspecifikke DNA-område amelogenin.

En velgennemført DNA-undersøgelse er meget effektiv til at udelukke personer, såfremt de ikke er nært beslægtede med den person, som afsatte sporet. Match mellem DNA-typer i spor og en undersøgt person efter en velgennemført DNA-undersøgelse er et meget vægtigt bevis for, at spormaterialet er afsat af den undersøgte person, frem for at sporet er afsat af en tilfældig person. Den præcise vægt af DNA-undersøgelserne beregnes i hvert enkelt tilfælde ud fra kendskab til fordelingen af de undersøgte DNA-egenskaber i befolkningen. DNA-undersøgelserne tillægges sædvanligvis en hertil svarende bevismæssig vægt i straffesager (2).

Det danske DNA-profil-register, som blev oprettet i 2000, består af den ovennævnte type DNA-profiler. Ved udgangen af 2002 indeholdt DNA-profil-registret lidt over 1.000 DNA-

profiler fra personer, og lidt over 2.000 DNA-profiler fra uidentificerede biologiske spor fra gerningssteder. DNA-profilerne omfatter bl.a. syv STR-systemer, som Interpol anbefaler anvendt mhp. internationalt samarbejde omkring DNA-profiler.

DNA-undersøgelser i faderskabssager

I faderskabssager undersøges for tiden 9-12 STR-regioner med PCR-baserede metoder, og hvis der ikke er opnået tilstrækkelig information, foretages typebestemmelse af op til syv *variable number of tandem repeat* (VNTR)-regioner med restriktions-fragment-længde-polymorfi (RFLP)-teknik (3, 4). Både STR- og VNTR-DNA-regioner arves som klassiske mendelske egenskaber, og der foretages sædvanlig genetisk analyse af resultaterne. Ud fra viden om fordelingen af de undersøgte egenskaber i befolkningen og viden om forekomsten af genetisk rekombination inden for de undersøgte DNA-systemer beregnes vægten for eller imod faderskab.

I Danmark tilrettelægges de retsgenetiske undersøgelser således, at hvis resultaterne af DNA-undersøgelserne er forenelige med mandens faderskab til barnet, opnås et faderskabsindeks på mindst 10.000. Derved opnås en positiv bevismæssig vægt på mindst 10.000 til 1 for, at den undersøgte mand er far til barnet, frem for at en tilfældig dansker er far til barnet. Hvis DNA-undersøgelserne taler imod den undersøgte mands faderskab til barnet, tilrettelægges undersøgelserne således, at sikkerheden af udelukkelsen er mindst 99,99%. Herved opnås en bevismæssig vægt på mindst 10.000 til 1 imod faderskab.

DNA-undersøgelser i familiesammenførings-sager

I familiesammenførings-sager foretages primært undersøgelse af VNTR-DNA-systemer med RFLP-teknik (5), fordi disse undersøgelser er de mest informative i familiesammenførings-sager. I særlige tilfælde foretages supplerende undersøgelser ved STR-DNA-typebestemmelse. I familiesammenførings-sager er den retsgenetiske opgave oftest at afklare, om de undersøgte personer er forældre og børn, eller om de er ubeslægtede. Undersøgelserne vil sædvanligvis munde ud i klare og meget vægtige resultater. Hvis spørgsmålet er, om der er tale om anden form for nært slægtskab, som f.eks. en onkel og en nevø, som udgiver sig for at være en far og en søn, er resultaterne af de tilgængelige retsgenetiske undersøgelser betydelig mindre vægtige.

Kvalitetssikring af retsgenetiske DNA-undersøgelser

Det er af afgørende betydning at sikre, at den samlede kvalitet af DNA-undersøgelserne står mål med DNA-undersøgelsernes meget høje informationsniveau. Retsgenetisk Afdelings analyser er akkrediteret af Dansk Akkreditering – (DANAK) efter den internationale laboratorienorm ISO 17025, som er en standard for laboratorier, der foretager målinger. Retsgenetisk Afdeling deltager endvidere i internationale samarbejder med henblik på international standardisering af nye retsgenetiske undersøgelser og løbende vurdering af kvaliteten af DNA-undersøgelser (6-8).

Forsknings- og udviklingsområder inden for retsgenetik

I retsgenetikken arbejdes der konstant med at udvikle stadig mere følsomme og nøjagtige metoder. I forbindelse med kortlægningen af menneskets genom har man fået værdifuld viden om nye polymorfier, som snart vil kunne anvendes i retsgenetik. I takt med at man får identificeret gener, som koder for fysiske egenskaber som f.eks. hår- og øjenfarve, vil det blive muligt at foretage undersøgelser af biologiske spor for disse egenskaber mhp. at bidrage til signalmentet af sporets ejermand. Farmakogenetiske undersøgelser kan også i særlige retsmedicinske situationer være afgørende. Nedenfor redegøres kort for udviklingen inden for de nævnte områder.

Undersøgelser af små mængder DNA fra biologiske spor

I straffesager arbejdes der på at udføre undersøgelser af stadig mindre mængder DNA fra biologiske spor, som f.eks. på cigaretskod, frimærker og hår. Ved den såkaldte *low copy number*-DNA teknik (9) undersøges ganske få DNA-molekyler, som mangfoldiggøres med ekstra kraftig PCR-amplifikation, hvorefter der udføres STR-typebestemmelse. Metoden er omdiskuteret, bl.a. fordi den er meget følsom for forurening med DNA. Undersøgelser af mitokondrie-DNA fra hårrødder, gammelt og delvist nedbrudt knoglevæv mv. har været anvendt i adskillige år. Metoden stiller imidlertid store krav til forholdsregler mod forurening med uvedkommende DNA, fordi der sædvanligvis kun findes en ringe mængde DNA tilgængeligt for undersøgelserne, og man kan opfatte metoden som en særlig form for *low copy number*-DNA-analyse. Metoden anvendes ofte til analyse af hårskafter, men der kan muligvis også opnås STR-typer, hvis der anvendes en kombination af en særlig DNA-ekstraktionsmetode og STR-undersøgelser, hvor der amplificeres korte DNA-STR-fragmenter (10).

I tilfælde med biologiske spor med blanding af en relativ stor mængde DNA fra en kvinde og en relativ mindre mængde DNA fra en mand kan det være vanskeligt at typebestemme mandens DNA-profil med sædvanlige metoder. I sådanne tilfælde kan det være en hjælp at foretage undersøgelser af STR-regioner på Y-kromosomet, fordi DNA'et fra kvinden kun i ringe grad forstyrrer analysen af mandens Y-kromosom STR-DNA (11).

Retsgenetiske undersøgelser af

»single nucleotide polymorphism«

I de seneste år er der påvist et meget stort antal systemer af typen *single nucleotide polymorphism* (SNP) i menneskets DNA (12). Der er oftest tale om, at der på et givet sted på en DNA-streng kan findes en af to DNA-baser. Der er således tale om genetisk polymorfi, som kan anvendes i retsgenetikken på samme måde som andre genetiske markører. SNP'er er imidlertid langt mindre polymorfe end STR- og VNTR-systemer, og der kræves derfor undersøgelse af et større antal SNP-systemer til praktisk retsgenetisk arbejde, end man er vant til med f.eks. STR-typebestemmelse. Ved undersøgelse af 50-100 udvalgte autosomale SNP'er vil det imidlertid være

muligt at opnå samme bevismæssige vægt som for de nu anvendte ti STR-systemer (13). Fordelene ved at anvende SNP-undersøgelser i straffesager er, at man kan undersøge DNA, som er nedbrudt til fragmenter på 40-50 bp. I faderskabs- og familiesammenføringsager har SNP-analyser den fordel, at man kan udvælge SNP-systemer med langt lavere mutationsrater end dem, man kender for STR- og VNTR-systemer. Herudover kan SNP-typebestemmelse lettere automatiseres.

Signalementoplysninger

I tilfælde, hvor der på et gerningssted efter en forbrydelse er efterladt biologisk spor fra en ukendt person, kan det have interesse at opnå information om fysiske træk hos ejermænd til det biologiske spor. Der er nu identificeret de første genetiske egenskaber, som kan hjælpe med denne type oplysninger. I relation til melanocortin-1-receptor (MC1R)-genet findes SNP-egenskaber, som er forbundet med rødt hår og i mindre grad lys, fregnet hud (14). SNP-egenskaber i regionen for Agouti signal protein (ASIP)-genet er muligvis forbundet med brune øjne og sort hår (15). Associationerne er svage med odds-ratioer mellem 1 og 10. Undersøgelserne har derfor i dag kun ringe vægt, men denne type undersøgelser vil utvivlsomt blive anvendt i løbet af få år i takt med, at man finder gener, der bestemmer fysiske karaktertræk som f.eks. farve af hår, hud, øjne mv.

Farmakogenetik

I tilfælde af dødelig lægemiddelforgiftning kan der opstå tvivl om, hvorledes forgiftningen er opstået. Lægemiddelforgiftninger med døden til følge er ikke nødvendigvis udtryk for en pludselig forgiftning med en stor dosis af lægemidlet. Der kan være tale om særlige forhold hos personen, hvad angår f.eks. følsomhed og evne til at omsætte lægemidlet (16).

Variationer i reaktion på lægemidler kan skyldes forskellige arvelige egenskaber i enzymaktivitet i f.eks. cytokrom P-450-generne CYP2D6 m.fl. og N-acetyl-transferase, lægemiddeltransportere, lægemiddelreceptorer (adrenoceptorer) mv. (16).

For eksempel er der fundet, at der er en sammenhæng mellem varianter af cytokrom P-450 CYP2C9 og hastigheden af omsætningen af warfarin (17). F.eks. er CYP2CP*3-varianten associeret med stærkt nedsat in vitro-hydroxylering (ca. 5%) af S-warfarin. Mutationer i genet, der koder for thiopurin-methyltransferase (TPMT), kan medføre dødelig forgiftning med standarddoser af cellegiftene 6-mercaptopurin og azathioprin (18). Ca. 1/300 personer har en stærkt nedsat TPMT-aktivitet, som skyldes en recessiv, arvelig defekt i TPMT-genet. TPMT-defekte gener kan identificeres ved SNP-analyser (18).

Mange farmakogenetiske egenskaber er forskellige fra befolkning til befolkning (19). I retsmedicinen er dette vigtigt, når årsagen til lægemiddelforgiftning skal afklares i en multi-etnisk befolkning. Der arbejdes derfor med at klarlægge en række farmakogenetiske egenskaber hos forskellige etniske grupper. Endvidere arbejdes der med at udvikle hurtige og effektive SNP-baserede metoder til at identificere de relevante farmakogenetiske egenskaber med.

Summary

Niels Morling: Forensic genetics.

Ugeskr Læger 2003;165:922-5.

The review first summarizes the molecular biology methods used in forensic genetics in Denmark. In criminal cases, there is international consensus about investigation of Short Tandem Repeat (STR)-regions with polymerase chain reaction (PCR) based methods that are standardised through international collaboration. In paternity and immigration cases, investigations are performed of both STR-regions with PCR-based methods and of variable number of tandem repeat (VNTR)-regions with restriction fragment length polymorphism (RFLP)-technique. Thereafter some of the most promising areas of research and development in forensic genetics are described, including investigations of still smaller amounts of DNA from biological traces, single nucleotide polymorphism (SNP) used for identification, identification of factors that can contribute to information about physical traits, and pharmacogenetic investigations.

Reprints: *Niels Morling*, Retsgenetisk Afdeling, Retsmedicinsk Institut, Københavns Universitet, Frederik V's Vej 11, DK-2100 København Ø.
E-mail: niels.morling@forensic.ku.dk

Antaget den 13. januar 2003.

Københavns Universitet, Retsmedicinsk Institut, Retsgenetisk Afdeling.

Litteratur

- Gill P, D'Aloja E, Andersen J et al. Report of the European DNA profiling group (EDNAP): an investigation of the complex STR loci D21S11 and HUMFIBRA (FGA). *Forensic Sci Int* 1997;86:25-33.
- Garde P. DNA i straffeprocessen. *Nord Tidsskr Strafferet* 1995;82:1-31.
- Morling N, Hansen HE. Paternity testing with VNTR DNA systems I. Matching criteria and population frequencies of the VNTR systems D2S44, D5S43, D7S21, D7S22, and D12S11 in Danes. *Int J Leg Med* 1993; 105:189-96.
- Hansen HE, Morling N. Paternity testing with VNTR DNA systems. II. Evaluation of 271 cases of disputed paternity with the VNTR systems D2S44, D5S43, D7S21, D7S22, and D12S11. *Int J Leg Med* 1993;105:197-202.
- Hansen HE, Morling N. Genetic investigations in immigration cases and frequencies of DNA fragments of the VNTR systems D2S44, D5S43, D7S21, D7S22, and D12S11 in Turks. *Forensic Sci Int* 1993;60:23-35.
- Morling N, Allen RW, Carracedo A et al. Paternity Testing Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on genetic investigations in paternity cases. *Forensic Sci Int* 2002;129:148-57.
- Hallenberg C, Morling N. A report of the 2000 and 2001 Paternity Testing Workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic Sci Int* 2002;129:43-50.
- Carracedo A, Bär W, Lincoln PJ et al. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic Sci Int* 2000;110:79-85.
- Whitaker JP, Cotton EA, Gill P. A comparison of the characteristics of profiles produced with the AMPFISTR SGM Plus multiplex system for both standard and low copy number (LCN) STR DNA analysis. *Forensic Sci Int* 2001;123:215-23.
- Hellmann A, Rohleder U, Schmitter H et al. STR typing of human telogen hairs - a new approach. *Int J Legal Med* 2001;114:269-73.
- Carracedo A, Beckmann A, Bengs A et al. Results of a collaborative study of the EDNAP group regarding the reproducibility and robustness of the Y-chromosome STRs DYS19, DYS 389 I and II, DYS390 and DYS393 in a PCR pentaplex format. *Forensic Sci Int* 2001;119:28-41.
- The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409:928-33.
- Gill P. An assessment of the utility of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for forensic purposes. *Int J Legal Med* 2001;114:204-10.

14. Grimes EA, Noake PJ, Dixon L et al. Sequence polymorphism in the human melanocortin 1 receptor gene as an indicator of the red hair phenotype. *Forensic Sci Int* 2001;122:124-9.
15. Kanetsky PA, Swoyer J, Panossian S et al. A polymorphism in the Agouti signaling proteingene is associated with human pigmentation. *Am J Hum Genet* 2002;70:770-5.
16. McLeod HL, Ewans WE. Pharmacogenomics: unlocking the human genome for better drug therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:101-21.
17. Aithal G, Day CP, Kesteven PJJ et al. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999;353:717-9.
18. McLeod HL, Siva C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus – implications for clinical pharmacogenetics. *Pharmacogenetics* 2002;3:89-98.
19. Wilson JF, Weale ME, Smith AC et al. Population genetic structure of variable drug response. *Nature Genetics* 2001;29:265-9.

Psykiatrisk genetik

STATUSARTIKEL

Henrik L. Ewald

I de første årtier af sidste århundrede blev formodningen om, at en prædisponering til visse psykiske lidelser nedarves, støttet af familie- og tvillingestudier. Imidlertid fokuserede ætiologisk psykiatrisk forskning i de følgende årtier især på udforskning af belastende livsbegivenheder og sociale forholds mulige betydning, idet man antog, at sådanne faktorer i modsætning til genetiske faktorer var relativt lette at undersøge og ændre ved oplysning og sociale forandringer. Siden omkring 1960 har der dog været en stadig stigning i såvel klassisk genetiske som molekylærgenetiske undersøgelser af psykiske lidelser, personligheds- og karaktertræk og forskellige andre fænotyper, der er relateret til adfærd.

Familie-, tvillinge- og adoptionstudier

Adskillige psykiske lidelser ses hyppigere blandt slægtninge til syge end i befolkningen som helhed og hyppigere hos begge tvillinger for enæggede end for toæggede tvillinger (Tabel 1). Dette sandsynliggør, at genvarianter er involveret i sygdommens fremkomst. For flere af lidelserne støttes dette af adoptionsundersøgelser. For forskellige undergrupper af flere af lidelserne er den genetiske komponent stærkere end for lidelsen som helhed. Undersøgelser har også peget på, at genetiske faktorer er af betydning for udvikling af generaliseret angst, anorexia nervosa, obsessiv-kompulsiv tilstand, enklæfobi og social fobi. Særlig bipolar affektiv sindslidelse ses ofte hos mange medlemmer i en familie og har relativt høje konkordansrater i tvillingestudier, således at den genetiske komponent formentlig er stærkere end for mange andre komplekse sygdomme. Nogle forskellige psykiske lidelser optræder hyppigere end forventet i de samme familier og hos enæggede tvillinger, hvilket peger på, at disse lidelser helt eller delvist deler risikogener.

Molekylærgenetisk forskning

Ætiologisk psykiatrisk forskning hæmmes af et utilstrækkeligt kendskab til risikogenerne, hvilke celletyper der er involveret, og manglen på gode dyremodeller. Der er store

Tabel 1. MZ og DZ er konkordansraten hos henholdsvis enæggede og toæggede tvillinger. λ_{MZ} er den relative risiko for udvikling af lidelsen hos den enæggede kotvilling til en person med lidelsen i forhold til baggrundsbefolkningens risiko. λ_1 er den relative risiko for udvikling af lidelsen hos førstegrads slægtninge til en person med lidelsen i forhold til baggrundsbefolkningens risiko. Estimaternes nøjagtighed og størrelse varierer bl.a. pga. forskelle i antallet af undersøgelser og antallet af patienter, der er undersøgt, samt i de metoder, der er anvendt, herunder forskellige fænotypiske afgrænsninger. Eventuelle kønsforskelle er ikke vist.

Psykisk lidelse	Prævalens %	Førstegrads-slægtning %	MZ/DZ	λ_{MZ}	λ_1
Skizofreni	1	11	48/12	48	11
Bipolar affektiv sindslidelse	0,8	4-9*	68/25	60	9
Depression	5-17	5-25	40/17	2	3
Alkoholafhængighed	2	15	50/25	25	7
Panikangst	2	14	25/10	12	7
Infantil autisme	0,05	4**	73/7	1.460	80
Hyperkinetiske forstyrrelser	3	25	60/30	20	8

*) Bipolare; 8-20% får depression.

**) Hos søskende.

forventninger om, at specielt molekylærgenetisk forskning vil kunne bidrage afgørende med ny og grundlæggende viden om psykiske lidelsers ætologi. Identificeringen af risikogenerne for skizofreni og bipolar affektiv sindslidelse betragtes i dag som noget af det mest vanskelige inden for genetisk forskning (1). Dette skyldes især problemer med at afgrænse fænotypen, vanskeligheder med at indsamle tilstrækkeligt store kliniske materialer, den multifaktorielle ætologi, hvor de formentlig mange forskellige enkelte risikogener kun til en vis grad øger risikoen, manglen på viden om lidelsernes biokemi og at hjernen også mht. antal af forskellige celletyper og det antal gener, der udtrykkes, er det mest komplicerede organ hos mennesket.

Af flere grunde er der dog grund til optimisme og til at intensivere eftersøgningen af risikogenerne. Det er specielt vigtigt, at størstedelen af den rå sekvens af menneskets arvemasse og arvemassen fra op mod 60 andre organismer nu kendes. Dette giver bl.a. mulighed for hurtigt at skaffe viden om genernes position, struktur og til en vis grad om deres mulige funktion og regulering.