

VASTSTELLING VAN VERWANTSCHAPPEN VIA MODERNE DNA-TECHNIEKEN

Drie jaar geleden werd in een populair wetenschappelijk Vlaams televisieprogramma een bijdrage gebracht (1) over een pas gestart DNA-onderzoek door het Belgische Centrum voor Menselijke Erfelijkheid van de K.U. Leuven. Dergelijke onderzoeken behoren tot een deel van de dagelijkse bezigheden van het Centrum. Weinig ophefmakend, ware het niet dat de stalen die ditmaal het voorwerp zouden uitmaken van het onderzoek, afkomstig waren van wel niet-alledaagse personen. Of hoe noemt U anders enkele dochters van keizerin Maria-Theresia en de obscure figuur Naundorff, die zich voor Lodewijk XVII uitgaf? Resultaten — zo werd aan het einde van de uitzending gezegd — werden verwacht voor na de zomer . . . Maar dat was toch wel iets te voortvarend ingeschat. Er zouden nog drie zomers en een winter overheen gaan vooraleer een eerste aankondiging (2) te horen was dat de resultaten eindelijk wereldkundig zouden gemaakt worden op 2 juni 1998 (3).

In dit artikel willen wij het hele verhaal daarrond, die we reeds voorbereid hadden in 1995 en dus noodgedwongen een hele tijd in de schuif hebben moeten laten liggen, voorstellen. Op dit ogenblik kennen we weliswaar nog niet de uitkomst van het DNA onderzoek, maar welke uitkomst er ook is, het blijft zeker een boeiend verhaal voor genealogen.

De zaak Naundorff is een beroemd geval, dat inmiddels reeds 200 jaar historici of amateur-historici bezighoudt. De kampen zijn duidelijk verdeeld in *believers* en *non-believers*, diegenen die Naundorffs beweringen voor waar aannemen en diegenen die in hem een ordinaire handige oplichter zien. Naundorffs bewering in de vroege 19de eeuw was dan ook niet niets: hij zou niemand minder dan Lodewijk XVII van Frankrijk zijn!

De zaak Naundorff is zeker niet het enige of eerste beroemde geval waarbij voor identificatie van personen op DNA technieken beroep gedaan werd. Andere beroemde gevallen uit het recente verleden worden verder in dit artikel als voorbeeld gegeven.

Maar laten we eerst Naundorff en zijn opponenten hun verhaal doen.

DE ZAAK NAUNDORFF

Op 21 januari 1793 werd te Parijs Lodewijk XVI, koning van Frankrijk terechtgesteld. Zijn enige zoon Louis Charles, geboren 27 maart 1785, was sinds het overlijden van zijn oudere broer in 1789, *dauphin* of troonopvolger. Na de mislukte vlucht van de koninklijke familie, was de koning, samen met de koningin, Marie-Antoinette van

(1) BRTN, Dienst Wetenschappen, programma *Alle Vijf*, uitzending van dinsdag 9 mei 1995. Zie ook: 'Leuvens geneticus test haren van "Lodewijk XVII"', in *De Standaard*, dagblad, maandag 19 juni 1995 en 'Antoinette, wie heeft de bal' in *Knack Magazine* van 11 september 1996.

(2) VRT, televisie uitzending op het net TV1, *De Zevende Dag* van zondag 19 april 1998 en idem, uitzending *Jan Publiek* van donderdag 30 april 1998.

(3) VRT, op het net 'Canvas', programma *Overleven* op dinsdag 2 juni 1998.

Oostenrijk en hun twee kinderen in de Parijse Temple opgesloten geworden. Na de terechtstelling van zijn vader werd de 8-jarige dauphin door de royalisten tot wettige koning van Frankrijk uitgeroepen onder de naam Lodewijk XVII. Marie-Antoinette werd onthoofd op 16 oktober 1793. De twee koningskinderen Louis Charles en Marie Thérèse Charlotte bleven opgesloten in de Temple.

Op 8 juni 1795 stierf in de Temple een kind aan tuberculose, dat in de overlijdensakte aangeduid werd als Charles Louis Capet. Capet was de naam van de stichter van het Franse koningshuis Hugues Capet en onder die naam werden de leden van de koninklijke familie door de Franse revolutionairen aangeduid. Het werd begraven op het kerkhof Sainte-Marguerite. Maar hij was nog niet goed en wel begraven of er ontstond reeds twijfel of het overleden kind wel Lodewijk XVII was: er was sprake dat royalisten er eerder in geslaagd waren de jonge koning te laten ontsnappen (door de revolutionaire wachten om te kopen) en een ander ziek kind in zijn plaats achter te laten. De twijfel was zo groot dat niet minder dan een 40-tal personen zich in de loop der jaren kwamen uitgeven voor de zoon van Lodewijk XVI en Marie-Antoinette. Een opgraving van het kinderlijkje in 1846, in een poging om de controverse te stoppen, gaf geen uitsluitsel.

De meest bekende onder degene die aanspraak maakten op de identiteit van Lodewijk XVII, was een Pruisische horlogemaker Karl Wilhelm Naundorff. Hij dook op in 1810 te Berlijn waar hij met de verkoop van uurwerken in zijn levensonderhoud trachtte te voorzien (slotenmaken was in betere tijden ooit een hobby geweest van Lodewijk XVI, dus op dat punt leek er wel wat overeenkomst). Om zich in Berlijn als horlogemaker te kunnen vestigen was het burgerrecht nodig, en hiervoor was ondermeer een geboorteakte nodig. Hoewel hij geen geboorteakte kon voorleggen, verkreeg hij toch het burgerrecht, nadat de chef van de Berlijnse politie voor hem was tussengekomen. (De politiechef Paul Louis Le Cocq was een functionaris van Franse afkomst).

In 1812 trekt hij naar Spandau, waar hij huwt en in 1822 naar Brandenburg. In 1824 wordt hij er beschuldigd van brandstichting maar snel terug vrijgelaten. Het jaar daarop wordt hij gearresteerd voor valsmunterij. Alle nasporingen om zijn anteceden-ten te achterhalen bleven vruchteloos, in geen enkele stad was zijn geboorteakte te vinden. Tot grote verbazing van zijn rechters vertelde de gevangene toen dat hij niemand minder dan Lodewijk XVII was. De beschuldiging van valsmunterij kon niet hard gemaakt worden, maar omdat hij zijn fantastische verhaal niet wilde intrekken, bleef hij drie jaar in een tuchthuis opgesloten. In die periode kreeg hij een grote schare aanhangers.

Vijf jaar later trok hij naar Parijs, waar hij in mei 1833 aankwam en contact zocht met personen die de dauphin van zeer nabij gekend hadden. Onder hen was Madame de Rambaud, de vroegere kamenierster van de dauphin, die het kind lange tijd onder haar hoede had gehad. Zij stelde hem herhaaldelijk op de proef, maar gaf zich uiteindelijk gewonnen en verklaarde zeker te zijn Lodewijk XVII voor zich te hebben. De Pruisische horlogemaker bleek zeer goed geïnformeerd te zijn. Madame de Rambaud ondernam zelfs een reis naar Praag om Marie Thérèse Charlotte, enige dochter van Lodewijk XVI, te bewegen Naundorff te ontmoeten. Maar deze laatste weigerde categoriek elke confrontatie, wat heel wat geruchten deed ontstaan, niet in het minst dat

deze vrouw, die als de overlevende dochter van Lodewijk XVI werd aanzien, misschien zelf ook niet was wie zij beweerde. . . Toen Naundorff haar door een deurwaarder liet sommeren om voor een Parijse rechtbank te verschijnen kreeg de Parijse politie genoeg van de zaak. Op 12 juli 1836 werd Naundorff het land uitgewezen en op een boot naar Engeland gezet.

Naundorff gaf in Engeland enkele zeer tot de verbeelding sprekende boeken uit, en stichtte zelfs een religieuze sekte. Toch waren zijn activiteiten niet allemaal even fantastisch. Hij had een onloochenbare technische begaafdheid en in 1841 vond hij een nieuw oorlogsprojectiel uit dat ophief maakte in de Engelse pers en dat veel belangstelling genoot van de militairen. Hij vreesde echter dat men zijn uitvinding wilde ontfutselen en verliet in januari 1845 Engeland met einddoel Zwitserland.

Na het kanaal overgestoken te hebben richting Nederland, gaf hij nog overtuigende demonstraties van zijn uitvindingen te Breda en werd daarop zelfs aangesteld bij de Artillerie Inrichtingen te Delft. In juli werd hij echter zwaar ziek. Hij overleed er op 10 augustus 1845 en werd te Delft begraven (4). Maar in die enkele maanden dat hij in Nederland was, is hij er toch nog in geslaagd zich door koning Willem I te laten erkennen als Lodewijk XVII en het recht te verkrijgen zich 'de Bourbon' te noemen, een naam die zijn afstammelingen tot op heden nog steeds dragen (5).

Aldoende bewijzen of tegenbewijzen voor de vereenzelviging van Naundorff met Lodewijk XVII zijn er nooit geweest. In 1943 werd wel door een Parijse politie-deskundige haarlokken onderzocht van de dauphin Louis Charles, en van Karl Wilhelm Naundorff. Volgens Dr. Lotard zouden beide éénzelfde afwijking vertonen, die uiterst zelden

(4) In het Kalverbos te Delft draagt zijn graf het opschrift: ICI REPOSE LOUIS XVII, CHARLES LOUIS DUC DE NORMANDIE, ROI DE FRANCE ET DE NAVARRE, NE A VERSAILLES LE 27 MARS 1785, DECEDE A DELFT LE 10 AOUT 1845.

(5) OOSTERMAN D.P., (gemeentearchivaris Delft) *Het Naundorff Mysterie*, Meulenhoff, Amsterdam, 1951. Dit werk concentreert zich vooral op de laatste 7 maanden in het leven van Naundorff welke hij te Delft doorbracht. Het standpunt van de auteur helt over naar Naundorff als een geniale oplichter.

In de geromanceerde biografie, van AMMERS-KÜLLER J., *De kolibrie op het gouden nest. De levens-geschiedenis van Naundorff, zoon van Lodewijk XVI en dauphin van Frankrijk*, Amsterdam 1951, 480 pp., wordt het standpunt ingenomen dat Naundorff Lodewijk XVII is. Belangrijk in dit boek is vooral het, in kleine druk op pp. 462-477, toegevoegde deel 'Biografische nota's'. Hierin wordt een overzicht met toelichtingen gegeven van vroeger geschreven biografieën van voor- en tegenstanders, en wordt het leven van Naundorff nogmaals overlopen teneinde overal aan te duiden welke gedeelten van de roman op welke historische bronnen berusten en welke gedeelten ten behoeve van het romanverhaal door de schrijfster zelf ingevuld werden. Op de pp. 478-479 vindt men ook een handige historische chronologie. Als romanschrijfster neemt de auteur het standpunt in dat Naundorff werkelijk Lodewijk XVII was, en zegt ze daar ook nooit aan getwijfeld te hebben, maar schrijft tevens *Ik zou evenveel of nog meer materiaal gevonden hebben, indien ik een boek had willen schrijven over de bedrieger Naundorff. . . doch dat onderwerp zou voor mij niet de minste aantrekkelijkheid hebben gehad.* (de auteur blijkt volgens enkele andere titels van haar boeken inderdaad vooral het genre van de historische familieromans te beoefenen). Haar ingenomen standpunt verklaart zij zelf wanneer ze meedeelt dat zij als 12 of 13-jarig kind (geboren in 1884) van haar grootmoeder (geboren in 1814, Delft) vaak verhalen te horen heeft gekregen over Naundorff die deze laatste in 1845 nog persoonlijk had gekend te Delft.

Nog vele anderen hebben over Naundorff geschreven, zoals bv. WARREN R., *Les prétendants au trône de France*, Parijs 1947 en ook de bekende Franse historicus André Castelot, gespecialiseerd in 'la petite histoire' — anecdoten, mysteries e.d.m. — uit de Franse geschiedenis. Zie ook: BEGEER C.J.A., *Généalogie de Bourbon, Louis XVIII et sa descendance*, Den Haag, 1954.

voorkomt. Die afwijking werd bovendien niet gevonden in haar van het kind dat op 8 juni 1795 in de Temple overleed. Genoeg voor de Franse historicus Castelot om Naundorff prompt voor Lodewijk XVII te verklaren.

In het najaar van 1950 werd echter te Delft het graf opengemaakt van Naundorff en een lok van de schedel naar Dr. Lotard te Parijs gestuurd. Toen bleek dat dit haar helemaal niet overeenstemde met het in 1943 onderzochte staal dat aan Naundorff toegeschreven was . . . Een maat voor niets dus.

HET HUIDIGE ONDERZOEK

Het huidige onderzoek kwam er op vraag van de historicus Johan Petrie van de universiteit van Groningen. In een proefschrift, waarbij evenwel niet de resultaten van het DNA onderzoek werden afgewacht, wijst hij zelf de thesis dat Naundorff, Lodewijk XVII zou zijn, af (6).

Bij het Leuvense onderzoek werd gebruik gemaakt van haren en beenderstukken uit het Delftse graf van Naundorff. Een dergelijk onderzoek stelt van het aangetroffen DNA een profiel op en vergelijkt dit dan met het DNA van (vermeende) familieleden.

Van zijn vermeende moeder, Marie-Antoinette, de echtgenote van Lodewijk XVI van Frankrijk, waren geen haren of beenderresten beschikbaar. Dit was wel het geval met twee van haar zusters. Hun moeder was keizerin Maria-Theresia van Oostenrijk, ook in onze geschiedenisboekjes een welbekende figuur uit de 18de eeuw. Deze *landesmutter* had een rozenkrans, waarin in medaillons haarlokjes bewaard werden van haar 16 kinderen. Van deze 16 overleden er 10 zonder nakomelingen, terwijl van nog twee andere de kinderen zelf kinderloos waren. Enkel Leopold II, Ferdinand van Milaan, Amalia van Parma en Carolina van Napels hadden nageslacht. Enkele haartjes uit twee van deze medaillons werden aan het Leuvense team ter beschikking gesteld.

Omdat van de haren enkel de haarschachten bewaard bleven, en deze geen kern-DNA bevat, onderzocht het Centrum voor Menselijke Erfelijkheid, het DNA van de mitochondrieën (7). Dit zijn celorganen die alleen via de moeder overgeërfd worden. Het mitochondriaal DNA van de drie harengroepen moet voor een positieve identificatie van Naundorff met Lodewijk XVII dus telkens hetzelfde zijn, gezien het om kinderen en een vermeend kleinkind van dezelfde voormoeder gaat. Ook werd vanaf september 1996 gezocht naar nog levende afstammelingen langs vrouwelijke lijn van Maria-Theresia die hun medewerking wilden verlenen.

Teneinde de methode van identificatie beter te begrijpen is het echter noodzakelijk enige basisbegrippen uit de celbiologie te verduidelijken.

(6) Inmiddels is van J. Petrie over dit historisch onderzoek naar de persoon van Naundorff ook een boek verschenen.

(7) Volgens Prof. J.J. Cassiman is de gebruikte methode: onderzoek van mtDNA, door "volledige sequencerij van de D-loop 800bp" (e-mail van 10 juni 1995).

ELEMENTAIRE CELBIOLOGIE EN MOLECULAIRE BIOLOGIE

Levende wezens bestaan uit orgaanstelsels, waarvan de organen zelf weer opgebouwd zijn uit weefsels. Weefsels worden gevormd door groepen gespecialiseerde cellen. Er zijn talrijke soorten cellen, bv. huidcellen, zenuwcellen, witte bloedlichaampjes, zaadcellen, eicellen, enz. De cellen vormen de echte bouwstoffen van het leven. De cel bevat een celkern, duidelijk afgescheiden van het celplasma. In de *celkern* bevinden zich de zgn. *chromosomen*, kluwens van dunne, kronkelende draadjes. De menselijke soort heeft steeds 46 chromosomen die in 23 paren voorkomen en die onder een microscoop zichtbaar zijn. Neemt men een foto ervan, en knipt men de chromosomen uit, dan kan men de paren naast elkaar leggen: ieder chromosoom heeft een eigen specifieke vorm.

De chromosomen zelf bestaan uit een enorm lange draad, opgebouwd uit aaneengereigde moleculen, die een paar keer gespiraliseerd is. De draad die eigenlijk zelf een reuzenmolecule is noemt men het DNA (= DEXORYIBO NUCLEID ACID). Sterk uitvergroot ziet de DNA-draad eruit als twee spiralen om elkaar gewenteld, of ook als twee in elkaar geschroefde kurketrekkers. Op elk van de spiralen bevinden zich moleculen. Er bestaan slechts 4 soorten moleculen (de zgn. *nucleotiden*) en deze spiralen, die aangeduid worden door de eerste letter van de moleculenaam: A, C, T en G. Tussen de moleculen van de ene spiraal en de tegenoverliggende op de andere spiraal bestaan er (zwakke) chemische bruggen. Zo kan men het DNA ook zien als een wenteltrap met treden. Een A op de ene kant van de trede heeft altijd een T op de andere kant van de trede, en een C een G. Aan de beide randen van de trede bevinden zich suikermoleculen. De suikermoleculen van opeenvolgende tredes zijn met elkaar verbonden door fosformoleculen (8).

Men kan het DNA ook bekijken als een boek, geschreven in een taal waarvan het alfabet slechts 4 letters bevat. Alle eigenschappen van levende wezens zijn in dit boek gecodeerd. In elke cel bevindt zich een exacte kopie van dit DNA, dus van het boek 'mens'. Groepen van opeenvolgende letters uit het alfabet — woorden zouden we ze kunnen noemen — zijn verantwoordelijk voor een bepaalde eigenschap, zoals oogkleur, haartype, bloedgroep, enz. Welke oogkleur men heeft volgt uit de combinatie van de waarden die op de corresponderende (men spreekt van '*homologe*') plaatsen in de chromosomen uit een chromosomenpaar gecodeerd zijn. Oogkleur kan waarden bruin of blauw hebben, maar omdat bruin *dominant* is t.o.v. blauw, zal enkel een blauw-blauw combinatie ook blauwe ogen opleveren (9). Zo'n gecodeerde eigenschap, een soort streepjescode, wordt een *gen* genoemd.

(8) Over genetica en DNA in het algemeen werden vooral geraadpleegd: de *Encyclopaedia Britannica* (1987 editie) en *Microsoft Encarta 95*, multimedia encyclopedie op CD ROM. Heel praktisch en overzichtelijk was ook: *Beknopte Biologie*, door CLAEYS R. en VANDONINCK W. (Lier, 1969) (i.h.b. de hoofdstukken Celleer en Erfelijkheidslcer). Voor een breed populair wetenschappelijk overzicht van de verworvenheden van de moleculaire biologie en de tegenwoordige genterchnologie, zie: VAN DOOREN P., *De genetische revolutie*, Davidsfonds / Leuven, 1994, 128 pp.

(9) Voor de eigenschap bloedgroep bestaan 3 waarden A, B en o. A en B domineren over o. tegenover elkaar zijn ze 'codominant' d.w.z. A domineert niet over B en omgekeerd. Er zijn 6 mogelijke combinaties voor de samenstelling van een paar uit drie mogelijke waarden: AA, AB (of BA), Ao (of oA), BB, Bo (of oB) en oo. Rekening houdend met de dominantie van A en B tegenover o, levert dit 4 zichtbare bloedgroepen op: A (= AA of Ao), B (= BB of Bo), AB (= AB) en O (= oo). Het ABO bloedgroepsysteem is al bij al nog overzichtelijk. Meestal wordt een zichtbare eigenschap niet op één plaats op het DNA bepaald, maar door een aantal verschillende genen. Bv. ons weefseltype wordt bepaald op 6 plaatsen. Voor de eerste plaats kan gekozen worden uit 6 waarden, voor de 5 andere is dit resp. 9, 20, 41, 11 en 20. Dit levert miljoenen mogelijke combinaties op. De kans dat twee mensen hetzelfde weefseltype hebben is dus bijzonder klein. Vandaar ook problemen zoals afstotingsverschijnselen bij orgaantransplantaties.

Een gen is al gauw een paar duizend tot tienduizenden van die opeenvolgende letters groot. Eén chromosoom bevat zo'n 2.000 genen. Met 23 chromosomenparen heeft een mens ongeveer een 100.000 verschillende genen in zijn DNA opgeslagen. Het aflezen van alle (in totaal zo'n 4,5 miljard) letters op het menselijk DNA is in een gecoördineerde inspanning, gestart in 1990, het zgn. *Menselijk Genoom Project*, op dit ogenblik nog wereldwijd gaande.

Het zijn de genen die de erfelijke eigenschappen bepalen. De wetten van erfelijkheid werden reeds experimenteel door Gregor Mendel in 1865 ontdekt. Elk chromosomenpaar bestaat uit een chromosoom geërfd van de moeder en één geërfd van de vader. Daardoor erven we eigenschappen van onze beide ouders. Het 23ste chromosoom is enkel bij de vrouw een perfect paar (2 X chromosomen), bij de man is er één X chromosoom en een veel korter Y chromosoom.

Door vergelijking van bepaalde stukken DNA kan men vaststellen of personen nauw verwant zijn: er moet een grote overeenstemming zijn.

MITOCHONDRIAAL DNA (mtDNA) en MATRIARCHALE STAMREEKSEN

In de cel bevinden zich buiten de celkern in het plasma kleine lichaampjes die als energiecentrales fungeren en die men de mitochondrieën noemt (10). In de jaren 1960 ontdekte men dat zich hierin ook DNA bevindt. Sindsdien is dit mitochondriaal DNA het onderwerp geweest van een zeer intensieve studie. Daar waar het menselijk DNA in de celkern zo'n geschatte 100.000 genen bevat en 4,5 miljard 'letters', bestaat het menselijk mitochondriaal DNA uit amper 37 genen welke samen 16.569 'letters' lang zijn. Reeds in 1981 werd de volledige lettersekwentie van het menselijk mitochondriaal DNA afgelezen en gepubliceerd (hierna afgekort tot mtDNA).

Het mtDNA heeft de zeer bijzondere eigenschap dat het enkel overgeërfd wordt van de moeder. Bij de versmelting van een zaad- en een eicel, wordt het mtDNA van de zaadcel niet gebruikt. Dit betekent dus dat voor elke mens op aarde, het mtDNA in al zijn cellen gelijk is aan dat van zijn moeder, maar ook aan dat van al zijn voormoeders op de matriarchale stamreeks. Onderzoek op gelijkheid van het mtDNA van twee personen maakt het daarom mogelijk vast te stellen of zij een zelfde moeder hadden of indien er een relatie kind-moeder, kind-maternelle grootmoeder, enz. bestaat.

Trekken we de logica verder, dan zou het mitochondriaal DNA van elke mens ook dit moeten zijn van de eerste vrouw. Toch is dit niet zo. Dit komt doordat in de loop der millenia, af en toe mutaties opgetreden zijn, die kleine wijzigingen aanbrachten.

(10) Men vermoedt dat de mitochondrieën zo'n anderhalf tot twee biljoen jaar geleden ontstaan zijn toen een primitieve bacterie een kleinere cel opnam, die op één of andere manier in staat bleek te ademen, een proces waarbij heel wat energie kan geproduceerd worden. Zie: GRIVELL L.A., Mitochondrial DNA, in: *Scientific American*, maart 1983, pp. 60-66. Hiermee verwierf de cel een zeer gewaardeerde krachtbron, die op haar beurt van de beschutte omgeving profiteerde.

De verschillende menselijke rassen en subrassen hebben lichtjes verschillend mitochondriaal DNA. Deze kleine verschillen zijn het onderwerp geweest van zeer boeiend onderzoek naar het opstellen van een 'stamboom' van de menselijke bevolkingsgroepen (11). Het toont o.a. aan dat de afstamming van alle huidige aardbewoners kan teruggevoerd worden langs vrouwelijke lijn tot één enkele vrouw die ongeveer 200.000 per jaar geleden leefde, ergens in Afrika (12).

mtDNA heeft voor het laboratoriumonderzoeker belangrijke voordelen t.o.v. chromosomaal DNA: het komt immers in grote aantallen kopieën in de cel voor en het is ook veel meer overlevensbestendig. Stukken mtDNA werd reeds gevonden in 7.000 jaar oud menselijk hersenweefsel en in 5.500 jaar oude beenderen (13).

DNA ANALYSETECHNIEKEN VOOR DE IDENTIFICATIE VAN INDIVIDUËN

Voor analyse van DNA heeft men veel meer nodig dan de fracties uit enkele haren. In 1985 werd een revolutionaire techniek ontwikkeld, de zgn. PCR-techniek (Polymerase Chain Reaction) afgekeken van het celdelingsmechanisme zelf. Bij verwarmen splitsen de complementaire DNA ketens. Om nu DNA te dupliceren, maakt men synthetisch twee kleine DNA fragmentjes, overeenstemmend met de uiteinden van de te vermenigvuldigen sekwentie. Losgemaakte DNA ketens beginnen dan mits toevoegen van de nodige bouwstoffen, zichzelf te vermenigvuldigen. Met deze polymerase kettingreactie worden tegenwoordig in minder dan twee uur tot 1 miljard kopieën gemaakt van één enkele originele DNA molecule. Op die manier bekomt men onderzoeksmateriaal in elke gewenste hoeveelheid.

Met een chromosomale DNA analyse kan men het geslacht van het individu bepalen.

- (11) Hieruit blijkt dat de 'genetische afstand' tussen Afrikaanse en niet-Afrikaanse bevolking grofweg tweemaal zo groot is als tussen Europeanen / Aziaten. Tot het Euraziatische type behoren enerzijds het Kaukasische ras en het Noordoost Aziatische (Arctische volkeren en oorspronkelijke bewoners van Amerika), en anderzijds het Australische en Nieuw-Zeelandse ras, naast het Zuidoostaziatische en dit der bewoners van de Stille Oceaan. Deze 'stamboom' der volkeren (die heel wat gedetailleerder is dan wat hierboven geschetst werd) op basis van genenonderzoek stemt erg goed overeen met een stamboom die taalkundigen op basis van linguïstische overeenkomsten en verschillen hebben opgemaakt. Zie bv.: CAVALLI-SFORZA, L.L., Genes, Peoples and Language, in: *Scientific American*, november 1991, pp. 72-78. Uiteraard kan dergelijk onderzoek ook in de dierenwereld of plantenwereld gedaan worden, en soms zelfs ook op basis van DNA van uitgestorven dieren (gevonden in beenderen, gefossiliseerde planten, insecten ingesloten in amber, mammoeten bewaard in Arctisch ijs, enz.). Over oud DNA in het algemeen zie: PÄÄBO S., Ancient DNA, in: *Scientific American*, november 1993, pp. 60-66.
- (12) WILSON A.C. & CANN R.L., The Recent African Genesis of Humans, in: *Scientific American*, april 1992, pp. 22-27. In de pers werd die voormoeder, al gauw 'Eva' gedoopt, wat echter een verkeerde voorstelling van zaken is. In de bijbelse betekenis wordt onder Eva de allereerste vrouw verstaan. Hier gaat het om de meest recente gemeenschappelijke voormoeder van alle mensen, en dit is lang niet de allereerste vrouw. In haar generatie leefden nog talrijke andere vrouwen, alleen is de afstamming van al die andere vrouwen in de loop der tijden uitgestorven.
- (13) Gevonden in een kalksteenholte in Little Salt Springs, Florida en onderzocht door PÄÄBO S., GIFFORD J.A. & WILSON A.C., Mitochondrial DNA sequences from 7.000 year old brain, in: *Nucleic Acids Research*, 16, pp. 9775-9785 (1988).

Met een analyse van het mitochondriale DNA kan een verwantschap via vrouwelijke lijn tussen individuen aangetoond worden. Indien U bv. zou willen bewijzen dat U in rechte vrouwelijke lijn afstamt van bv. Catharina de Medici, zou dit, wanneer een bruikbaar mtDNA staal van deze historische figuur voorhanden is, door vergelijking met Uw mtDNA kunnen uitgemaakt worden. De verwantschapsvaststelling tussen twee stalen mtDNA zegt wel niet hoeveel generaties beide stalen gescheiden zijn.

De bepaling van nauwe verwantschap, zoals broer-zuster, moeder-kind is een stuk moeilijker. Hiervoor wordt gebruikt gemaakt van korte, repeterende stukjes die over het hele DNA voorkomen, maar bij iedereen anders verspreid zijn, (zgn. STR reeksen (Short Tandem Repeats)). Er komt nog heel wat statistische analyse van de resultaten aan te pas om een voldoende waarschijnlijkheid van verwantschap, grenzend aan volstreekte zekerheid aan te tonen.

In 1991 werd voor de eerste maal door Alec Jeffreys en Erika Hagelberg, STR analyse op chromosomaal DNA gebruikt om een vermoord kind in verband te brengen met zijn vermoedelijke ouders, door vergelijking van DNA uit het skelet met dit van beide nog levende ouders (14). Dit onderzoek was pionierswerk en werd in de rechtszaal als overtuigend bewijsmateriaal aangenomen.

Dezelfde wetenschappers slaagden het jaar daarop erin een eveneens overtuigende identificatie te doen van de stoffelijke beenderresten van de nazi-misdadiger dr. Jozef Mengele, door vergelijking van het beender-DNA met dit van zijn nog levende vrouw en zoon (15). Sindsdien zijn deze technieken in Engeland in februari 1994 door de rechtbanken reeds als volwaardige identificatietechnieken geaccepteerd.

Voor het bekomen van DNA als vergelijkingsmateriaal met nog levende personen maakt men meestal gebruik van een bloedstaal. DNA in beenderen vertoont echter steeds een relatief hoge graad van degradatie. Indien voorhanden blijkt DNA uit de tandpulp in het inwendige van de tand van veel betere kwaliteit (6). Het tandglazuur vormt immers een goede bescherming tegen omgevingsinvloeden en biologische afbraak.

Het zijn dezelfde DNA analyse technieken die door een team van het Instituut voor Forensische Wetenschappen (UK) in samenwerking met opnieuw E. Hagelberg van de Universiteit van Cambridge (UK) werden gedaan voor een opzienbarend onderzoek in 1993 betreffende de stoffelijke resten van de Russische Tsarenfamilie (17).

(14) HAGELBERG E., GRAY I.C. & JEFFREYS A.J., Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis, in: *Nature*, 352, pp. 427-429 (1991).

(15) JEFFREYS A.J., ALLEN M.J., HAGELBERG E. & SONNBERG A., Identification of the skeletal remains of Josef Mengele by DNA analysis, in: *Forensic Sciences Int.*, 56, pp. 65-76 (1992).

(16) GINTHER C., ISSEL-TARVER L., KING M.-C., Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth, in: *Nature Genetics*, Vol. 2, oktober 1992, pp. 135-138.

(17) DEBENHAM P.G., Genetics leaves no bones unturned, in: *Nature Genetics*, Vol. 6, februari 1994, pp. 113-114; GILL P. IVANOV P.L., KIMPTON C., PIERCY R., BENSON N., TULLY G., EVETT L., HAGELBERG E. & SULLIVAN K., Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis, in: *Nature Genetics*, Vol. 6, februari 1994, pp. 130-152.

DE IDENTIFICATIE VAN DE STOFFELIJKE RESTEN

VAN DE TSARENFAMILIE

Volgens de Russische geschiedschrijving werden tsaar Nikolaas II, zijn vrouw Alexandra en hun kinderen Alexei, Olga, Tatiana, Maria en Anastasia op 16 juli 1918 door een bolsjeviëks vuurpeloton ter dood gebracht. Over de preciese omstandigheden is weinig met zekerheid geweten. Wel staat vast dat de tsaar en zijn familieleden de dagen voor hun dood in het Ipatiev-huis in Jekaterinenburg in de Oeral, zaten opgesloten. Volgens de "officiële" versie van de gebeurtenissen, in 1919 neergeschreven door een WitRussische onderzoeker Sokolov, zouden zij in de kelder neergeschoten zijn, van hun kleren ontdaan en op een kar geladen, met de bedoeling de lijken in een mijnschacht te doen verdwijnen. Onderweg raakte de kar echter vast en omdat het licht begon te worden, legden de bolsjevieken de lichamen in een inderhaast gedolven graf langs de kant van de weg. Om ze onherkenbaar te maken, werd zwavelzuur in het graf gegoten.

Omdat er geen bewijzen voor de Sokolov versie waren, ontstond er een stroom van geruchten. De tsaar zou niet neergeschoten zijn, maar in Polen ondergedoken, of de tsarina en haar dochters zouden aan de slachting ontsnapt zijn. Geregeld doken vrouwen op die beweerden Anastasia, de jongste dochter van de tsaar te zijn. De meest bekende is de Amerikaanse inwijkelinge Anna Anderson, die in 1984 overleed en tot haar dood staande hield dat zij Anastasia Romanov was.

Dat ook de lichamen nooit werden teruggevonden droeg bij tot de verwarring. Pas in 1979 vonden twee Russische amateurhistorici dertig kilometer buiten Jekaterinenburg een ondiep graf dat met de beschrijving van Sokolov overeenkwam. In 1991 werden negen skeletten opgegraven, die allemaal sporen van mishandeling vertoonden.

Doordat sommige skeletten gebitten met gouden, platina of porseleinen vullingen hadden, had men zeker te doen met minstens enkele aristokraten. Om zekerheid te hebben over de identiteit besloot de Russische regering in 1993 de skeletten over te dragen aan de Britse universiteit van Cambridge.

Men slaagde erin uit alle negen skeletten DNA te voorschijn te halen. Door een chromosomale DNA analyse kon het geslacht van alle betrokkenen bepaald worden en aangetoond worden dat vijf ervan aan elkaar verwant waren: een vader, een moeder en drie dochters. Dat dit gezin wel degelijk dit van tsaar Nicolaas II was, werd aangetoond door een mitochondriale DNA analyse: hierbij werd een vergelijking gemaakt met het genetisch materiaal van prins Philip, de Hertog van Edinburgh en gemaal van koningin Elisabeth van Engeland, wiens moeder Alice von Battenberg een nicht was van tsarina Alexandra. Hij had hiervoor een (blauw?) bloedstaal voor onderzoek afgestaan. Het DNA van de prins, was voor het fragment dat vergeleken werd, precies hetzelfde als dit van de vier vrouwenlichamen, wat op sterke verwantschap wijst. Bovendien lijkt het DNA uit de vermoedelijke restanten van de tsaar sterk op dit van twee levende verwanten van de Romanov familie.

Maar de Russische Orthodoxe Kerk vroeg naar nog meer bewijs. Er was immers een zeer kleine afwijking geweest op één der nucleotiden die niet werd teruggevonden in de levende verwanten. Daarom werd in juli 1994 ook het lijk opgegraven van Groothertog Gregorius Romanov, de broer van de tsaar, om vergelijking mogelijk te maken met een veel dichtere verwante. Het DNA onderzoek toonde aan dat de tsaar op precies dezelfde nucleotide, dezelfde afwijking had, waardoor een mogelijk twijfelpunt in een zeer sterk argument pro veranderde en de waarschijnlijkheid van identificatie van 98,5 % op nog veel grotere waarden bracht (18).

Zoals hoger vermeld had het onderzoek van de beenderresten van het graf in Jekaterinenburg, de tsaar, de tsarina, drie van hun dochters, en vier andere niet-verwante personen, vermoedelijk de lijfarts en drie bedienden aangetoond. Geen resten werden gevonden van de vierde en jongste dochter Anastasia en van de tsarevitch Alexei, wat in overeenstemming kon zijn met verhalen over verbranding van twee lijken of een begraafing op een andere plaats, of ook nog dat deze de slachting overleefd hadden . . .

WAS ANNA ANDERSON, ANASTASIA ROMANOV?

Toen in 1984, een Amerikaanse immigrante, Anna Anderson Manahan, overleed had zij haar hele leven, 60 jaar lang, volgehouden dat zij Anastasia Romanov was en als enig lid van de tsarenfamilie aan de kogels van de bolsjevieken had weten te ontsnappen. Aangespoord door het openbare succes bij de identificatie van de tsarenfamilie, wilde de andere kant van de oceaan zich niet onbetuigd laten, en werd in de loop van 1994 een nieuw identificatieprobleem m.b.v. DNA analyse aangepakt (19).

Drie instituten werden betrokken bij het onderzoek. Chromosomale (Short Tandem Repeats) en mitochondriale DNA analyses werden uitgevoerd, terug door het Britse Instituut voor Forensische Wetenschappen (FSS). Een andere mitochondriale DNA analyse werd uitgevoerd door het Amerikaans Armed Forces DNA Identification Laboratory (AFIP), terwijl onderzoek op haar uitgevoerd werd door de Pennsylvania State University (departement anthropologie), volgens de methode van Stoneking en Melton.

Hierbij werd gebruik gemaakt van kleine stalen darmweefsel van Anna Anderson, welke na een chirurgische ingreep in 1979 geconserveerd gebleven waren. Onafhankelijk van elkaar werd het DNA onderzocht door het FSS en het AFIP. Zes haren toegeschreven aan Anna Anderson werden ook onderzocht.

Het resultaat van de vergelijkende testen was vernietigend: er was geen enkele overeenkomst in het chromosomaal of het mitochondriaal DNA met dit van leden van de tsarenfamilie.

(18) IVANOV P., WADHAMS M., ROBY R., HOLLAND M., WEEDN V., PARSONS T., Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in the Grand Duke of Russia Georgij Romanov establishes the authenticity of the remains of Tsar Nicholas II, in: *Nature Genetics*, Vol. 12, april 1996, pp. 417-420, alsook het editoriaal: Romanovs find closure in DNA.

(19) GILL P., KIMPTON C., ALISTON GREINER R., SULLIVAN K., STONEKING M., MELTON T., NOTT J., BARRIT S., ROBY R., HOLLAND M. & WEEDN, LTC V., Establishing the identity of Anna Anderson Manahan, in: *Nature Genetics*, Vol. 9, januari 1995, pp. 9-10.

Reeds in 1920-er jaren was door een privé-detective van de Groothertog van Hesse, naar voor gebracht dat Anna Anderson, eigenlijk de Pools-Duitse vrouw Franzisca Schanzkowska zou zijn, geboren rond 1896. Tijdens de eerste wereldoorlog werkte zij in een munitiefabriek, waar ze zwaar gewond werd in een explosie. Zij werd opgenomen in twee verschillende psychiatrische instellingen, maar verdween in 1920. Rond dezelfde tijd dook Anna Anderson op, die beweerde Anastasia Romanov te zijn.

Daarom werd ook nog een vergelijkende DNA analyse uitgevoerd met een bloedstaal van een zeker Carl Maucher, die beweerde een achterneef langs vrouwelijke lijn van Franzisca Schanzkowska te zijn. De mitochondriale DNA analyse bleek ditmaal wel een goede overeenstemming te geven. Om nog grotere zekerheid te bekomen werd het DNA profiel nog vergeleken met meer dan 300 gepubliceerde of ongepubliceerde DNA profielen van personen behorend tot het Kaukasische ras. Er was geen overeenstemming, wat erop wijst dat het onderzochte DNA stuk erg zeldzaam is en dus dat de kans dat Anna Anderson en Franzisca Schanzkowska niet één en dezelfde persoon zijn, kleiner is dan 1 op 300. De mythe van Anna Anderson is hiermee nu wel definitief ontluisd.

BESLUIT

Op dit ogenblik leveren dus DNA analyse technieken overtuigend bewijsmateriaal voor nauwe verwantschappen of verdere verwantschappen langs vrouwelijke lijn. Dit onderzoek is nog zeer specialistisch en zeer arbeidsintensief.

Wie DNA analyse zou willen aanwenden voor zijn genealogisch onderzoek, zou er vandaag wel nog een heel fortuin moeten voor overhebben. Maar de techniek is nog jong (amper 8 jaar) en de evolutie in de gentechnologie gaat toch wel bijzonder snel.

Wie zijn identiteit absoluut verborgen wil houden in de toekomst, ook na zijn dood en nooit het voorwerp van DNA analyse wil worden, kan dus maar best kiezen voor crematie met verspreiding van de asse door de wind . . . (maar daar had de franse zanger Yves Montand helaas niet aan gedacht, wat zijn natuurlijke dochter nu de kans geeft om gerechtelijk een ultieme bewijstest te laten uitvoeren).

Wie daarentegen geen kansen wil laten verloren gaan om zijn verwantschap met zijn naaste familieleden ook in (verre) toekomst nog mogelijk te maken, kan nu misschien al beginnen met het aanleggen van een kleine verzameling van haarlokjes, melktandjes en dies meer . . .

En als de DNA analysetechnieken ooit op een snelle en eenvoudige manier zouden kunnen uitgevoerd worden, maken we misschien wel een tijd mee van geboorteregisters waarin naast de door de ouders medegedeelde gegevens ook een haarstaal van de pasgeborene bewaard wordt, zodat ten allen tijde iemands identiteit tijdens zijn leven (en na zijn dood bij bewaring van één of ander weefselstaal) kan getoetst worden aan zijn geboorteakte.

En of Naundorff nu wel een geniale oplichter dan wel Lodewijk XVII is, weten we over enkele dagen. De officiële troonpretendent (de graaf van Parijs) en de Nederlandse familie de Bourbon kunnen daarna, indien gewenst de gerechtelijke procedure-slag starten . . .

P. DONCHE