

## Vzdělávání v oblasti forenzní genetiky reg. č. CZ.1.07/2.3.00/09.0080

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

## Interpretation of Low Threshold DNA

James M. Curran,  
John Buckleton, Peter Gill  
Department of Statistics  
University of Auckland  
curran@stat.auckland.ac.nz

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

## Outline

- Introduction.
- LT-DNA and artifacts associated with PCR.
- Interpretation when drop out is an issue.
- Software solutions.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

## What is LT-DNA?

- Improvements in PCR ⇒ profiles from small amounts of DNA.
- May or may not involve increased PCR cycles.
- In general: any case where a small number of template molecules are available for amplification.

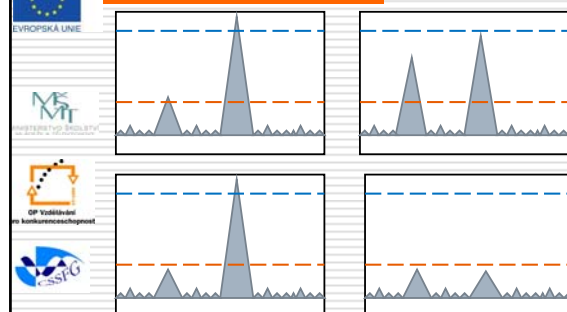
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

## Stochastic phenomena

- **All** DNA profiles are subject to the following:
  1. Contamination (Drop-in).
  2. Allelic dropout.
  3. Stutter.
- All three mean we may not be able to exclude a contributor simply because the profiles do not match.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

## There is drop out and then there is drop out



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf  
EVROPSKA UNIE

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf  
EVROPSKA UNIE

## Controversial

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf  
EVROPSKA UNIE

## Budowle et al.

1. Cannot exclude.
2. Dilution of samples contra to previous practice.
3. No minimum threshold for guidance and confidence in interpretation.
4. Contamination is a greater problem.
5. Enhanced sensitivity means alternative explanations more viable.
6. Heterozygous peak imbalance is augmented.
7. The relative proportion of stutter can be increased.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf  
EVROPSKA UNIE

## Budowle (cont.)

8. Not possible to separate contributors in a mixture.
9. Kits and reagents (may ) not be QC'd under the conditions they are being used.
10. Statistical interpretations should be modified to better represent the uncertainty associated with LCN typing.
11. Tissue source of the DNA cannot be inferred.
12. Lastly, one can only evaluate the results within the context of each case, which problematically increases the interpretation or speculation on events by the analyst.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf  
EVROPSKA UNIE

## Interpretation options

- Both alleles dropped out
  - Do nothing – “evidence is treated as neutral.”
- One allele has dropped out
  - 2p rule.
  - RMNE.
  - Something else?


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

esf  
EVROPSKA UNIE

## “Double drop out” Interpretation Options

- Doing nothing could be quite unfair to the defendant.
- May not have contributed so missing alleles exculpatory.
- On other hand, if no allelic information is present then drop out is plausible.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



## Consensus profiles "Biological approach"

- Whitaker suggested a consensus approach.
- Analyze replicate samples.
- Allele is "called" only if it appears in a majority of the replicates.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




## Consensus approach (cont.)

Rep. 1	15,16	Rep. 1	15,16
Rep. 2	15,16	Rep. 2	15
Consensus	15,16	Consensus	15,F

- Two cases (assume suspect is 15,16)
  - Case 1:  $LR = 1/2p_{15}p_{16}$
  - Case 2:  $LR = 1/2p_{15}$
- Question: Why is replicate 2 more plausible than replicate 1?


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



## The 2p-rule

- 2p-rule not conservative when drop out probability is low  
J. Buckleton, C.M. Triggs, Is the 2p rule always conservative? Forensic Science International 159 (2006) 206-209.
- Ignores information.


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



## RMNE

- Approach – calculate RMNE when crime scene profile contains both (or sometimes at least one) of the suspect's alleles.
- *"this approach may produce apparently strong evidence against a surprisingly large fraction of noncontributors."* – Curran and Buckleton (JFS – online and will appear in Sept, 2010).


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



## General RMNE complaints

- Wastes genetic information.
- Has no evidential value until a "match" with defendant's genotype is declared.
- Strongly smacks of "providing a number for the sake of providing one." – Completely pointless!

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



## Three Principles of Evidence Interpretation

Evtett and Weir (1998) put forward three principles of evidence interpretation.

*"To evaluate the uncertainty of any given proposition it is necessary to consider at least one alternative proposition."*

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Principle 2**

Scientific interpretation is based on questions of the kind "What is the probability of the evidence given the proposition?"

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Principle 3**

Scientific interpretation is conditioned not only by the competing propositions, but also by the framework of circumstances within which they are to be evaluated

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Bayes' Theorem**

A mathematical representation of these principles.

$$\frac{\Pr(H_p | \text{Evidence})}{\Pr(H_d | \text{Evidence})} = \frac{\Pr(\text{Evidence} | H_p)}{\Pr(\text{Evidence} | H_d)} \times \frac{\Pr(H_p)}{\Pr(H_d)}$$

Posterior Odds = Likelihood Ratio × Prior Odds


Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**The Gill/Buckleton Model**

- Peter Gill and John Buckleton said "Why not model contamination and dropout probabilistically?"
- That is, include:
  - probability of drop out
  - probability of contamination in our calculations.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Warning – some math ahead!**




Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**A simple mixture**




- Crime scene stain:  $C = a, c, d$
- Victim:  $V = c, d$
- Suspect:  $S = a, b$
- Alleged rape:
  - $H_p: V + S$
  - $H_d: V + U$

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




## LR

- If drop out is not possible then  $S$  is excluded, and  $LR = 0$
- If drop out and contamination are possible then LR is more complicated.




Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




## Prosecution

- $S$  and  $V$  only contributors.
- Therefore,  $a, b, c, d$  alleles in mix, but  $b$  has dropped out.
- There is no contamination.

$$\begin{aligned} \Pr(E | H_p) &= \Pr(R_i | H_p) \\ &= \Pr(R_i = acd | abcd) \\ &= \bar{D} \times D \times \bar{D} \times \bar{D} \times \bar{C} = \bar{D}^3 D \bar{C} \end{aligned}$$








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




## Defence

- If  $S$  did not contribute, then we need to specify "putative" contributors.
- Defence postulate:  $U = \{aa, aQ\}$ .
- $Q$  means "any allele but  $a$ ."
- No contamination.








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




## Defence (cont.)

$$\begin{aligned} \Pr(E | H_d) &= \Pr(acd | aacd) \Pr(aacd) \\ &+ \Pr(acd | aQcd) \Pr(aQcd) \\ &= (1 - D^2) \bar{D}^2 \bar{C} \times p_a^2 \\ &+ \bar{D}^3 D \bar{C} \times 2 p_a (1 - p_a) \end{aligned}$$








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.




## Weights

- Terms like  $\bar{D}^3 D \bar{C}$  are weights on the evidence.
- If  $D = 0.2$ , and  $C = 0.01$  then then  $\bar{D}^3 D \bar{C} = 0.101376$ .
- That is we down weight this explanation of the evidence.
- Buckleton/Gill method weights the putative genotypes.








Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



## Complex mixtures

- I have only shown you the simplest of cases and already the math is pretty hard.
- Gets much worse in cases with two or more contributors.
- Further complicated by population substructure.
- Need a computer!

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Two cases**

Bates and Garside  
 (covered in Balding and Buckleton, FSI Gen. (2009) 4, p.1-10)

	D3	VWA	D16	D2	AME	D8
Stain	13,16	15,16,17	11,12	20,22	X,Y	8,12,13
GARSDIE	16,16	15,17	11,12	20,20	X,X	12,13
BATES	13,16	16,16	11,12	19,22	X,Y	8,13

	D21	D18	D19	THO	FGA
Stain	30,31,2,32,2	14	12,14,15	7,9,3	21,23,25
GARSDIE	30,32,2	14,14	12,14	9,3,9,3	23,25
BATES	30,31,2	12,15	12,15	7,7	21,21

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Bates and Garside**

Standard two person mix:
 

- Hp: V + S
- Hd: S + U

But.. we need to factor dropout

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**"Hammer case"**

Two victims attacked by man with a hammer  
 DNA is a mixture  
 Gill, Kirkham, Curran: Forensic Sci Int. 2007 Mar 2;166(2-3):128-38  
 Much more complicated case
 

- Hp: V1+ V2 + S
- Hd: V1+ V2+U

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**"Hammer case"**

	D3	VWA	D16	D2	AMELO
REP1	14,16	15,16,19	11,13,14	20,23,24,25	X,Y
REP2	14,16	15,16,17,19	11,13,14	20,24,25	X,Y
VICTIM1	16,16	15,16	13,13	20,20	X,X
VICTIM2	15,17	16,19	12,13	18,25	X,X
SUSPECT1	14,16	15,19	11,14	24,25	X,Y

	D8	D21	D18	D19	THO	FGA
REP1	11,12,13,15	28,31	F	12,14,15,2,17,2	6,8,9,9,3	22
REP2	11,12,13,15	28,29,30,31,31,2	13,14,16,17	12,13,14,15,2,17,2	6,8,9,9,3	22,23,25
VICTIM1	11,15	29,30	17,17	12,14	6,8	22,25
VICTIM2	11,13	29,30	15,17	14,14	6,7	20,22
SUSPECT1	12,13	28,31	14,17	15,2,17,2	9,9,3	22,23

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

**Software and conclusions**

The algorithms and the software exist.  
 Garbage in = Garbage out.  
 We need to recognise that some cases require expert interpretation.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.