



# DNA-Profilanalyse

EINHEIT  
2

*European Initiative for Biotechnology Education*

---

**Verfasser dieser Einheit**

**Dorte Hammelev (Koordinatorin dieser Einheit)**

**Dean Madden, Søren Nørby, Jill Turner**



**Die Europäische Initiative für den Unterricht (EIBE) hat sich die Aufgabe gestellt, durch einen neuartigen Unterricht in Schule und Lehrerbildung das Verständnis der Biotechnik zu fördern sowie Beiträge zu einer fundierten öffentlichen Debatte über dieses Gebiet zu liefern.**

## EIBE



### BELGIË/BELGIQUE

Prof. Dr. Vic DAMEN/ Marleen van STRYDONCK, Universitaire Instelling Antwerpen (U.I.A.), Department Didactiek en Critiek, Universitätsplein 1, 2610 Antwerpen, email mvstryd@uia.ua.ac.be  
Dr. Maurice LEX, EC, GD XII E-1, SDME 9/38, Rue de la Loi 200, 1049 Bruxelles, Fax 0032/2/299-1860



### BULGARIA

Prof. Raytcho DIMKOV, University of Sofia 'St. Kliment Ohridski', Faculty of Biology, Dr. Tzankov blvd. No. 8, 1421 Sofia, email ray@biofac.uni-sofia.bg



### CZESKÁ REPUBLIKA

Dr. Hana NOVÁKOVÁ, Pedagogprogram co-op Pedagogická Fakulta UK, Konevova 241, 1300 Praha 3. Fax +420/2/684 5071



### DANMARK

Dr. Dorte HAMMELEV, Association of Danish Biologists, Sønderjyllands Alle 2, 2000 Frederiksberg, email dorte@centrum.dk  
Mrs Lisbet MARCUSSEN, Association of Danish Biologists, Skolebakken 13, 5800 Nyborg, email lisbetma@post2.tele.dk



### DEUTSCHLAND

Prof. Dr. Horst BAYRHUBER/ Dr. Eckhard R. LUCIUS/ Mrs Renate GLAWE, Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften (IPN) an der Universität Kiel, Olshausenstr. 62, 24098 Kiel, email bayrhuber@ipn.uni-kiel.de, lucius@ipn.uni-kiel.de; glawe@ipn.uni-kiel.de  
Dr. Ognian SERAFIMOV, INCS-Centre of UNESCO, c/o Jörg-Zürn-Gewerbeschule, Rauensteinstr. 17, 88662 Überlingen, email joergzuern.os@t-online.de, ognian.serafimov@t-online.de  
Prof. Dr. Eberhardt TODT, Universität Giessen, FB Psychologie, Otto-Behagel Str. 10, 35394 Giessen, email Eberhard.Todt@psychol.uni-giessen.de  
Prof. Dr. Michael SCHALLIES, Pädagogische Hochschule, Heidelberg, FB Chemie, Im Neuenheimer Feld 561, 69120 Heidelberg, email schallie@ph-heidelberg.de



### EESTI

Prof. Dr. Tago SARAPUU, Science Didactics, Dept., University of Tartu, Vanemuise 46-211, Tartu 51014, email tago@ut.ee.



### EIRE

Dr. Catherine ADLEY, University of Limerick, Biotechnology Awareness Centre, Dept. of Chemical and Environmental Sciences, Limerick, email Catherine.Adley@ul.ie  
Mrs. Cecily LEONARD, University of Limerick, Dept. of Life Sciences, Limerick, email cecily.leonard@ul.ie



### ELLADA

Prof. Vasilis KOULALDIS/ Ass. Prof. Vasiliki ZOGZA-DIMITRIADI, University of Patras, Dept. of Education, Rion, 26500 Patras, email zogza@upatras.gr, Koulaidi@upatras.gr



### ESPAÑA

Dr. María J. SÁEZ, Dr. Angela GÓMEZ-NIÑO/ Rosa VILLAMANAN, Universidad de Valladolid, Dept. de Biología Celular y Farmacología, Geologo Hernandez Pacheco 1, Valladolid 47014, email mariaj@redestb.es, Angela@biocel.uva.es, rvillama@dce.uva.es



### FRANCE

Prof. Gérard COUTOULY, LEGPT Jean Rostand, 18, Boulevard de la Victoire, 67084 Strasbourg Cedex, email coutouly@cybercable.tm.fr  
Prof. Laurence SIMONNEAUX, ENFA, Toulouse, Boîte Postale 87, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, email laurence.simonneaux@educagri.fr



### ITALIA

Prof. A. BARGELLESI-SEVERI/ Dr. Stefania UCCELLI/ Dr. ssa. A. CORDA-MANNINO, Centro di Biotecnologie Avanzate, Largo Rosanna Benzi 10, 16132 Genova., email dcs@ist.unige.it, ste@ist.unige.it



### LUXEMBOURG

Mr. John WATSON/ Mr. Laurent KIEFFER, European School, 23 BLVD Konrad Adenauer, 1115 Luxembourg, email krit@eursc.org, john.watson@ci.educ.lu



### NEDERLAND

Dr. David J. BENNETT, European Federation of Biotechnology Working Party on Education, Cambridge Biomedical Consultants, Oude Delft 60, NL-2611 CD Delfte, email efb.cbc@stm.tudelft.nl  
Dr. Fred BRINKMAN, Hogeschool Holland, Communication Project, P.O. Box 261, 1110 AG Diemen, email f.brinkman@hsholland.nl  
Drs. Liesbeth van de GRINT, email e.m.j.grint@student.utwente.nl  
Dr. Jan F.J. FRINGS, Pr. Marijkelaan 10, 7204 AA Zutphen, email j.frings@hccnet.nl  
Dr. Ana-Maria BRAVO-ANGEL, Secretariat of the Task Group on Public Perceptions of Biotechnology, Oude Delft 60, NL-2611 CD Delfte, email efb.cbc@stm.tudelft.nl



### RZECZPOSPOLITA POLSKA

Dr. Anna STERNICKA, University of Gdansk, Dept. of Biology, AL. Legionow 9, 80952 Gdansk, email bioas@univ.gda.pl



### SCHWEIZ

Dr. Kirsten SCHLÜTER, Höheres Lehramt Mittelschulen der Universität Zürich, Winterthurerstr. 30, CH-8033 Zürich, email kschluet@hlm.unizh.ch



### SVERIGE

Mrs. Margareta JOHANSSON, Föreningen Gensyn, P.O. Box 37, 26821 Svalöv, email henrik.johansson@mbox372.swipnet.net  
Dr. Elisabeth STRÖMBERG, Östrabogymnasiet, Kämpegatan 36, 451 81 Uddevalla, email es@ostrabo.uddevalla.se



### THE UNITED KINGDOM

Dr. John GRAINGER/ Mr. John SCHOLLAR/ Dr. Caroline SHEARER, National Centre for Biotechnology Education, The University of Reading, Whiteknights, P.O. Box 228, Reading RG6 6AJ, email j.m.grainger@rdg.ac.uk, j.w.schollar@rdg.ac.uk, c.shearer@rdg.ac.uk  
Mr. Wilbert GARVIN, email wilbert@leagland.fsnet.co.uk  
Dr. Jill TURNER, The Medical Biology Centre, The Queen's University of Belfast, 97 Lisburn Road, Belfast BT9 7BL, email jill.turner@queens-belfast.ac.uk  
Dr. Paul WYMER, 6 Park Way, Whetstone London N20 0XP, email paul.wymer@virgin.net  
Dr. Jenny LEWIS, University of Leeds, Centre for Studies in Science and Mathematics Education, Leeds LS2 9JT, email j.m.lewis@education.leeds.ac.uk  
Mr. Adam HEDGECOE, University College London, Dept. of Science and Technology Studies, Gower Street, London WC1E 6BT, email a.hedgecoe@ucl.ac.uk

## EIBE co-ordinator

Prof. Dr. Horst BAYRHUBER, Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften (IPN) an der Universität Kiel, Olshausenstr. 62, 24098 Kiel, Deutschland.  
Tel.: ++49-431-880-3129, Fax: +49-431-880-3132 email: bayrhuber@ipn.uni-kiel.de.

## EIBE secretariat

Renate GLAWE, Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften (IPN) an der Universität Kiel, Olshausenstr. 62, 24098 Kiel, Deutschland.  
Tel.: +49-431-880 3132, Fax +49-431-880 3132, email: glawe@ipn.uni-kiel.de.



# DNA-Profilanalyse

EINHEIT  
2

*European Initiative for Biotechnology Education*

MATERIALIEN

## Inhalt

★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★

I	Entwicklungsgruppe, Urheberrechte, Sicherheit	4
I	Die DNA-Profilanalyse der Hintergrund die Technologie	6 10
I	Die klassische DNA-Profilanalyse Beispiele	12 14
I	Die moderne Profilanalyse	16
I	Zuverlässigkeit	20
I	Diskussion	24
I	Literaturhinweise	25
I	Praktische Übungen Simulation	26

## World Wide Web

★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★ ★

Es gibt nur wenig Bereiche, in denen so schnelle Fortschritte verzeichnet werden wie in der Biotechnik. Um die Informationen in diesen EIBE-Einheit bei möglichst geringen Kosten auf einen guten Stand zu halten, werden sie in elektronischer Form veröffentlicht. Diese Seiten (wie die anderen EIBE-Einheiten) sind weltweit über das World-Wide-Web zugänglich, zu finden unter

[www.eibe.org](http://www.eibe.org)

Alle EIBE-Einheiten im World-Wide-Web sind in Form von PDF-Dateien (PDF = Portable Document Format). PDF-Dateien ermöglichen bei jedem Computersystem (Macintosh einschließlich Power PC, Windows, DOS oder Unix-Plattformen) die Übertragung qualitativ hochwertiger Illustrationen, sowie die Erhaltung der Farben, der Schriftarten und des Layouts des ursprünglichen Dokuments.

PDF-Dateien sind auch weniger umfangreich als die ursprünglichen Dateien und sind somit schneller herunterzuladen. Um die EIBE-Einheiten lesen zu können, muss allerdings ein *Adobe Acrobat Reader*® als Programm in Ihrem System installiert sein.

Das neuste *Acrobat Reader*® kann kostenlos bezogen werden. Es kann von der EIBE-Website oder von

<http://www.adobe.com/>

heruntergeladen werden.

Mit dieser Software können Sie die EIBE-Einheiten lesen oder drucken. Sie können sich auch in den Dokumenten bequem bewegen und sie durchsuchen.

HINWEIS: *Adobe* und *Acrobat* sind Markenzeichen von Adobe Systems Incorporated. *Macintosh* ist ein eingetragenes Markenzeichen von Apple Computer Incorporated.

## Autorinnen und Autoren dieser Einheit

- Dorte Hammelev (Koordinatorin)  
Frederiksberg HF kursus  
Kopenhagen, Dänemark
- Dean Madden  
NCBE, The University of Reading  
Großbritannien
- Søren Nørby  
Lab of Biological Anthropology  
Institute of Forensic Medicine  
Copenhagen University, Dänemark
- Jill Turner  
The Medical Biology Centre,  
The Queen's University of Belfast,  
Großbritannien

Layout, Illustration, Satz: Dean Madden und Caroline Shearer, NCBE, The University of Reading, RG6 6AJ, Großbritannien

## Dank

Unser Dank gilt Niels Morling, Hanna Hansen und Birthe Eriksen, Abteilung Forensische Genetik der Universität Kopenhagen, besonders für die Bereitstellung von Bildmaterial und von Forschungsergebnissen.

Der Schulversuch in dieser Einheit wurde von John Schollar am NCBE entwickelt.

Dorte Hammelev (Frederiksberg HF Kursus, Kopenhagen), Wilbert Garvin (Northern Ireland Centre for School Biosciences, The Queen's University of Belfast) John Schollar (National Centre for Biotechnology Education, The University of Reading) und Jill Turner (University College, London) planten und veranstalteten einen multinationalen Workshop, in dessen Rahmen die Materialien dieser Einheit erprobt wurden. EIBE möchte sich hierfür bei ihnen und bei den Lehrkräften aus Dänemark, Irland und Deutschland bedanken, die daran teilnahmen und viele hilfreiche Rückmeldungen

zu den Probematerialien gaben.

Am Workshop teilgenommen haben  
**aus Dänemark:** Lisbet Leonard; Lene Tidemann, Mario Bro Hassenfeldt, Greta Grønqvist, Jytte Jørgensen, Tine Bing, Per Vollmond, Anker Steffensen;  
**aus Irland:** John Lucey, Michael O'Leary, Bruno Mulcahey, Tim O'Meara, Tom Moloney, Brendan Worsfold, Frank Killelea;  
**aus Deutschland:** Ulrike Schnack, Werner Bährs, Jürgen Samland, Cristel Ahlf-Christiani, Erhard Lipkow, Hubert Thoma;  
**vom EIBE-Team:** Eckhard R. Lucius, Catherine Adley, Jan Frings, Wilbert Garvin, Jill Turner, Dean Madden, John Schollar, Dorte Hammelev.

## © Urheberrechte

Diese EIBE-Einheit ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte vorbehalten.

**Zum Schulgebrauch.** Elektronische und gedruckte Kopien dieser EIBE-Einheit oder einzelner Seiten dürfen im Unterricht eingesetzt werden, vorausgesetzt, dass die Kopien kostenlos oder zum Vervielfältigungspreis zur Verfügung gestellt werden, und dass die Autorinnen und Autoren der Einheit als solche genannt und gekennzeichnet werden.

**Zum anderweitigen Gebrauch.** Die Einheit darf von Einzelpersonen an Einzelpersonen zu nicht-kommerziellen Zwecken weitergegeben werden. Untersagt ist die Verbreitung über elektronische Verteilerlisten, Mail-(Listserv)-Listen, Nachrichtengruppen, Schwarzes-Brett- oder nicht autorisierte World-Wide-Web-Postings, oder über andere Mechanismen der Massenvervielfältigung, des Zugangs oder der Reproduktion, die ein Abonnement oder den autorisierten Zugang ersetzen, oder auf eine Weise, die nicht als gutgläubiger Versuch der Einhaltung dieser Einschränkungen anzusehen ist.

**Kommerzielle Nutzung.** Im Fall, dass Sie diese Einheit ganz oder auszugsweise zu kommerziellen Zwecken nutzen oder sie in jeder Form neu veröffentlichen möchten, wenden Sie sich an das

Sekretariat EIBE  
c/o Institut für die Pädagogik der  
Naturwissenschaften (IPN) an der  
Universität Kiel  
Olshausenstraße 62  
D-24098 Kiel

Telefon: 0431/880 3132  
Fax: 0431/880 3132  
Email: glawe@ipn.uni-kiel.de

## Zu dieser Einheit

Diese Materialien sind von Lehrerinnen und Lehrern im aktiven Schuldienst und von Erziehungswissenschaftlern aus mehreren europäischen Ländern entwickelt worden. Ermöglicht wurde diese Zusammenarbeit durch die finanzielle Unterstützung wie auch die Ermutigung des DGXII der Europäischen Kommission, unter der Schirmherrschaft von EIBE, der Europäischen Initiative für Biotechnologie im Unterricht.

Die EIBE-Materialien sind im Rahmen von Workshops, an denen Lehrkräfte aus mehreren europäischen Ländern teilnahmen, ausführlich erprobt worden.

Die Ansichten, die in dieser Einheit Ausdruck finden, sowie die hier vorgeschlagenen Aktivitäten, sind die der Autorinnen und Autoren und nicht die der Europäischen Kommission.

Insbesondere sollten die allgemeinen Sicherheitsregeln am Anfang dieser Einheit sowie die spezifischen Regeln im Text Beachtung finden.

## Sicherheit

In allen EIBE-Einheiten wurde versucht, alle bekannten Risiken zu identifizieren und entsprechende Sicherheitsvorkehrungen vorzuschlagen.

Nach Möglichkeit entsprechen die vorgeschlagenen Verfahrensweisen allgemein anerkannten Risikoanalysen. Falls eine gesonderte Risikoanalyse notwendig erscheint, wurde eine entsprechende Empfehlung vermerkt.

Nutzer der Einheit sollten trotzdem bedenken, dass Fehler und Unterlassungen möglich sind und dass in der Industrie und im Bildungsbereich unterschiedliche Standards gelten. Folglich sollte vor jeder praktischen Arbeit eine eigene Risikoanalyse durchgeführt werden. Insbesondere müssen lokale Regeln, die von Arbeitgeber- oder Behördenseite stammen, ungeachtet der Empfehlungen in dieser EIBE-Einheit, befolgt werden.

Soweit nicht anders angeordnet wird angenommen,

- dass die praktischen Arbeiten in einem richtig ausgestatteten und instand gehaltenen Labor durchgeführt werden;
- dass sämtliche Geräte mit Netzanschluss richtig instand gehalten werden;
- dass bei üblichen Laborvorgängen wie der Erhitzung von Substanzen sorgfältig vorgegangen wird;
- dass eine gute Laborpraxis geübt wird, wenn Chemikalien oder lebende Organismen verwendet werden;
- dass bei bekanntem Risiko für die Augen stets Augenschutz getragen wird;
- dass Schülerinnen und Schülern/Studentinnen und Studenten für alle Aktivitäten wie zum Beispiel den Umgang mit Chemikalien und Mikroorganismen sichere Vorgehensweisen vermittelt werden.

# DNA-Profilanalyse - der Hintergrund



## Einleitung

Die Analyse der menschlichen DNA findet – jenseits der reinen Forschung – vorwiegend in zwei Bereichen statt.

- 1 Im Gesundheitswesen: u.a. Diagnose von Erbkrankheiten, Anomalien der Chromosomen und Krebs.
- 2 In der Gerichtsmedizin: Identifizierung von Verdächtigen in Kriminalfällen (insbesondere Mord, Vergewaltigung und andere Gewaltverbrechen) und Analyse von Verwandtschaftsverhältnissen in Vaterschafts- und Immigrationsprozessen.

Das Unterrichtsmaterial in dieser Einheit setzt sich vorwiegend mit der Anwendung der DNA-Profilanalyse in der Gerichtsmedizin auseinander.

Jede DNA-Analyse, die zwecks Aufklärung einer gerichtlichen Frage durchgeführt wird, ob es sich um einen Kriminalfall oder eine Auseinandersetzung über ein Verwandtschaftsverhältnis handelt, setzt sich lediglich mit einem verschwindend kleinen Bereich des menschlichen Genoms auseinander. Im Wesentlichen beinhaltet die gängigste Analyse die Bestimmung der Länge von vier oder fünf ausgewählten Abschnitten der chromosomalen DNA. Das Ergebnis ist eine individuelle Kombination von Buchstaben und Ziffern, das sogenannte DNA-Profil. Dieses DNA-Profil ist gelegentlich mit einem Strichcode verglichen worden. Tatsächlich stellte das ursprüngliche, für die Gerichtsmedizin entwickelte Verfahren das Ergebnis als eine Reihe dunkler Striche auf einem Röntgenbild dar, den sogenannten „genetischen Fingerabdruck“. Diese frühere Methode unterscheidet sich jedoch vom heute eingesetzten Verfahren, der sogenannten DNA-Profilanalyse.

## Die Anwendung der DNA-Profilanalyse

Täglich kann man in der Presse von Mord und Vergewaltigung lesen, und die DNA-Profilanalyse wird mittlerweile routinemäßig eingesetzt, um solche Fälle aufzuklären. DNA-Profile, die anhand der am Tatort hinterlassenen Blut- oder Samenspuren erstellt wurden, werden mit den Profilen möglicher

Verdächtiger verglichen.

In Vaterschaftsprozessen weist ein erster Vergleich zwischen den DNA-Profilanalysen einer Mutter und ihres Kindes auf diejenigen Bereiche des Profils des Kindes hin, die vom Vater stammen dürfen. Die DNA-Profilanalyse des vermeintlichen Vaters ermöglicht somit die Entscheidung, ob der fragliche Mann Vater des Kindes sein könnte oder auch nicht, mit anderen Worten, ob sein DNA-Profil mit dem Bereich des Profils beim Kind, der nicht von der Mutter stammt, kompatibel ist. Das Gleiche gilt für Immigrationsprozesse, wenn die verwandtschaftliche Beziehung zwischen einem Staatsbürger oder einer Staatsbürgerin und einem Asylbewerber oder einer Asylbewerberin, der oder die aufgrund einer verwandtschaftlichen Beziehung die Staatsbürgerschaft beantragt, festgestellt oder verneint werden kann.

Die DNA-Profilanalyse kann auch eingesetzt werden, um Tote zu identifizieren, indem ein Vergleich mit möglichen Verwandten gemacht wird. Diese Methode hat sich als wertvoll erwiesen, wenn die Opfer von See- und Luftfahrtunfällen sonst wegen Unkenntlichkeit nicht zu identifizieren gewesen wären (1). Sie ist auch eingesetzt worden, um Opfer terroristischer Anschläge in Israel und im ehemaligen Jugoslawien zu identifizieren, sowie Kriegsoffer, wie geschehen im Golfkrieg vom 1990.

Die Identifizierung anhand der Überreste längst verstorbener Menschen ist heute ebenfalls möglich, dank der Entwicklung von Methoden, die es erlauben, DNA aus Knochen, oder auch aus Zähnen zu gewinnen. So konnten die Opfer älterer Verbrechen identifiziert werden, und so konnten bekannte Fälle geklärt werden, wie zum Beispiel der des Nazi-Arzt Mengele und der letzten russischen Zarenfamilie (2,3).

Im Falle des russischen Zaren gelang es, circa 75 Jahre nach der Hinrichtung der Familie unter den im Massengrab gefundenen neun Skeletten das des Zaren und das seiner Frau zu identifizieren. Weitere Skelette konnten drei Kindern des Zarenpaares zugeordnet werden. Auf ähnliche Weise diente die DNA-Analyse

der Beweisführung, dass eine Frau, die als Erwachsene stets darauf bestand, Anastasie, jüngste Tochter des Zarenehepaars, zu sein, eine Hochstaplerin war (siehe S. 23)(4).

Archäologen und Anthropologen haben ebenfalls für die DNA-Profilanalyse Anwendungen gefunden. Ein überaus erfolgreiches Beispiel dafür ist die jüngste Analyse der DNA aus dem prähistorischen menschlichen Skelett, das 1856 in Neanderthal, in der Nähe von Düsseldorf, gefunden wurde. Dieses Skelett ist schätzungsweise zwischen 30.000 und 100.000 Jahre alt und entstammt einer ausgestorbenen Gruppe Hominiden. Die Ergebnisse der DNA-Analyse deuten darauf hin, dass der Neanderthaler und der moderne Mensch, die über mehrere tausend Jahre in Europa und anderswo koexistierten, zwei unterschiedliche Arten darstellen, deren früheste gemeinsame Vorfahren vor ca. 500.000 bis 700.000 Jahren lebten (5).

Die DNA-Analyse wird auch in der Wissenschaft eingesetzt, um Viren, Bakterien, Pflanzen und Tiere zu untersuchen. Die Verfahren haben sich sowohl in der reinen Forschung (d.h. um Beziehungen unter den Arten zu klären) wie auch in eher praktischen, angewandten Bereichen als wertvoll erwiesen. Zu Letzteren gehören zum Beispiel die Diagnose von Ansteckungskrankheiten, die Fahndung nach gestohlenen oder illegal transportierten Tieren und die Überwachung gentechnisch manipulierter Pflanzen.

## Das menschliche Genom

Das menschliche Genom ist im jeweiligen Zellkern (Kern-DNA) enthalten. Ein kleiner aber wichtiger Teil befindet sich in den Mitochondrien (Mitochondrien-DNA). Letzteres wird unten separat behandelt.

## Kern-DNA

Die DNA des Menschen setzt sich aus 46 langen Molekülen zusammen, die „das genetische Rückgrad“ eines Chromosoms bilden. Die 46 Chromosomen jeder Zelle bestehen aus 23 Paaren, von denen jeweils ein Chromosom von der Mutter und ein Chromosom vom Vater des Individuums stammen. Dies ist die Grundlage des ersten Mendelschen Gesetzes zur Vererbung und bedeutet, dass es mittels DNA-Analyse möglich ist, die biologischen Beziehungen innerhalb

einer Familie aufzuspüren, einschließlich der Isolierung von Krankheitsgenen.

Ein Paar der 23 Chromosomenpaare, nämlich die Geschlechtschromosomen, unterscheidet sich je nach Geschlecht: zwei X-Chromosome (XX) in der Frau, ein X-Chromosom mit einem Y-Chromosom (XY) im Mann. Die Untersuchung von Blutspuren und Gewebeproben auf Y-chromosomaler DNA kann folglich dazu dienen, das Geschlecht der Person zu identifizieren. Die übrigen 22 Paare werden Autosomen genannt.

Das Genom des menschlichen Zellkerns hat schätzungsweise zwischen 50.000 und 100.000 Gene, die die vielen unterschiedlichen Proteine des Organismus verschlüsseln. Lediglich ein kleiner Teil der Kern-DNA enthält jedoch solche Proteincodes. Die Abschnitte, die keine Information zum Bau von Proteinen enthalten, befinden sich entweder in einzelnen Genen, wo sie sogenannte Introns oder Zwischenfolgen bilden, oder zwischen den Genen. Die DNA-Sequenzen, die in der Profilanalyse verwendet werden, entstammen diesen Abschnitten. Dank der Komplexität des menschlichen Erbguts und seiner vielen Variationsmöglichkeiten hat jeder Mensch – mit Ausnahme von Mehrlingen, die aus einem befruchteten Ei stammen - ein einzigartiges Genom und somit ein persönliches DNA-Profil.

## Mutationen

DNA ist stabil, jedoch nicht statisch. Gelegentlich entstehen Mutationen, die eine Veränderung der Basenpaare in ihrer Abfolge bedeuten. Eine Mutation kann ernsthafte Folgen haben, wenn sie die Synthese oder die Funktion eines wichtigen Proteins verändert. Die allermeisten Mutationen haben aber keine unmittelbaren Folgen für den Organismus, da sie in Sequenzen innerhalb oder außerhalb des Gens stattfinden, die keine Proteincodes speichern. Solche harmlosen, neutralen Mutationen bilden die Grundlage der meisten Unterschiede im Erbgut der Einzelnen.

## Hochvariable Regionen

Beim gängigen gerichtsmedizinischen Verfahren der DNA-Profilanalyse werden Abschnitte des Genoms, die sogenannten VNTR-Regionen – nach dem englischen Begriff *variable number of tandem repeats* – analysiert. In diesen Abschnitten wiederholt

**Abbildung 1. Eine VNTR-Region in einem Chromosomenpaar:** die Chromosome weisen 10 bzw. 18 Wiederholungen auf.

väterliches Chromosom:



mütterliches Chromosom:



sich kontinuierlich eine bestimmte Abfolge der Basenpaare unterschiedlich oft (Abb. 1).

Die Länge einer bestimmten VNTR-Region eines bestimmten Chromosoms hängt daher von der Anzahl der Basenpaare in der Wiederholungssequenz sowie von der Anzahl der Wiederholungen ab. In der DNA-Profilanalyse sind die Längen verschiedener VNTR-Regionen bekannt. Das DNA-Profil ist somit lediglich eine Kombination dieser Längen, dargestellt in einem Format, auf das sich die internationale gerichtsmedizinische Forschung geeinigt hat.

### Die Entdeckung der VNTR-Regionen

Diese besonders variablen Regionen des Genoms wurden von Professor Alec Jeffreys und seinem Team an der Universität Leicester, Großbritannien, entdeckt. Sie untersuchten den genetischen Code für Myoglobin, das rote, sauerstoffbindende Protein in den Muskelzellen. Während dieser Arbeit stellten sie fest, dass ein Intron dieses Gens eine Basenpaarsequenz enthält, die sich mehrfach nacheinander wiederholt, und dass die Anzahl der Wiederholungen von Person zu Person unterschiedlich ausfallen kann. Jeffreys und seine Gruppe wollten diesen veränderlichen Abschnitt nutzen, um jeweils das Myoglobin-Gen auf dem Chromosom zu orten. Zu diesem Zweck isolierten sie einen DNA-Abschnitt, der diese Region enthielt, und setzten ihn als Sonde in der DNA-Analyse ein.

Eine Sonde ist ein einzelsträngiges DNA-Molekül, das sich mit den Basen eines DNA-Einzelstranges im anvisierten Gen paaren bzw. hybridisieren kann. Die Sonde wird entweder chemisch oder radioaktiv markiert, damit sie anschließend in der Analyse erkennbar ist, z.B.

mittels eines empfindlichen Fotofilms (siehe Abb. 5).

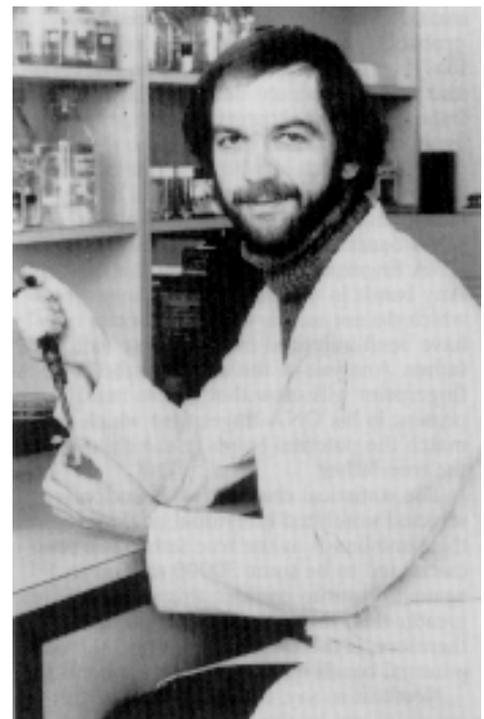
Als Jeffreys und seine Gruppe die Sonde verwendeten, stellten sie zu ihrer Überraschung fest, dass jede analysierte Probe zu zahlreichen 'Banden' auf dem Film führte, da die Probe sich mit mehreren DNA-Regionen pro Person verbunden hatte. Das Bandenmuster stellte sich als jeweils individuell heraus, und somit war 'der genetische Fingerabdruck' entdeckt. Später konnten die verschiedenen VNTR-Regionen, die die vielen Banden verursachen, identifiziert bzw. beschrieben und in einem weiteren Schritt separat analysiert werden. Diese separate Analyse ist das Prinzip hinter den heutigen Verfahren der DNA-Profilanalyse.

Alec Jeffreys erhielt viel Anerkennung für seine Entdeckung und ihre Weiterentwicklung, die die Grundlage für forensische DNA-Analysen legte. Seine Arbeit ist eines der vielen Beispiele einer bedeutenden Entdeckung, die während eines Vorhabens mit ganz anderer Zielsetzung gemacht wurde. Sie zeigt ebenfalls, wie die Grundlagenforschung Entdeckungen machen kann, die schnell zu wertvollen Anwendungen in der Praxis führen können.

### Mitochondrien-DNA

Mitochondrien-DNA (mtDNA) ist ein kleines, ringförmiges DNA-Molekül mit ungefähr

**Abbildung 2. Sir Alec Jeffreys**



## Mehr zu den VNTR-Regionen

Viele der zuerst entdeckten VNTR-Regionen wiesen eine ziemlich große Anzahl (typischerweise 20-50) Basenpaare pro Wiederholung auf, sowie eine Variation in der Anzahl der Wiederholungen von 50 bis mehreren Hundert. Eine solche Region kann also aus 1.000 bis über 10.000 Basenpaaren bestehen. Die Anzahl der Wiederholungen und somit die Länge der VNTR-Region ist ein Merkmal, das nach dem Mendelschen Gesetz der Spaltung vererbt wird. Genetisch gesprochen ist eine VNTR-Region ein Genort mit einer Anzahl Allele, die jeweils durch eine bestimmte Länge gekennzeichnet sind. Ein solcher Ort mit unterschiedlichen, relativ häufigen Allelen wird als genetisch polymorph (polymorph = viel-, verschiedengestaltig) bezeichnet. Bei über 95% der Menschen sind die Allele einer VNTR-Region unterschiedlich lang und sind somit heterozygot an diesem Ort. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei nicht verwandte Personen die gleiche Allelkombination in einer gegebenen VNTR-Region haben, ist oft viel geringer als 1%.

In letzter Zeit sind sehr viele VNTR-Regionen identifiziert worden, die Repetitivsequenzen von nur 2-4 Basenpaaren haben, die eine Variation von beispielsweise 5 bis 15 Wiederholungen aufweisen. Einige dieser sogenannten STR-Regionen (*short tandem repeats*) bilden die Grundlage der modernen, fortgeschrittenen DNA-Profilanalyse.

16.600 Basenpaaren. Im Vergleich besteht die Kern-DNA aus etwa 6 Millionen Basenpaaren oder circa zwei Metern DNA! Da jedes Mitochondrium 5-10 mtDNA-Moleküle enthält und eine Zelle Hunderte oder sogar Tausende Mitochondrien haben kann, enthalten die Zellen einer Person durchschnittlich Tausende mtDNA-Moleküle, die eine identische Anordnung der Basenpaare aufweisen. Diese hohe Kopiezahl pro Zelle erklärt, warum mtDNA der Bestandteil des Erbmaterials ist, der am wahrscheinlichsten aus alten Überresten und aus biologischen Spuren gewonnen werden kann.

Da sich Mitochondrien und mtDNA außerhalb des Zellkerns befinden, wird mtDNA ausschließlich von der Mutter vererbt. Das Spermium trägt lediglich Kern-DNA bei. Dies hat zur Folge, dass eine Frau die gleiche mtDNA-Sequenz aufweist wie ihre Kinder, ihre Mutter, ihre Großmutter mütterlicherseits sowie alle anderen Familienmitglieder, die durch eine ungebrochene weibliche Linie mit ihr verwandt sind. Die Analyse der Mitochondrien-DNA ist somit ein hilfreiches Verfahren, um biologische Verwandtschaftsbeziehungen bei ungebrochener weiblicher Erbfolge über viele Generationen festzustellen.

Wie bei Kern-DNA können auch bei mtDNA Mutationen auftreten, und pro Basenpaar kommen sie sogar häufiger vor. Die mtDNA ist weniger geschützt und hat keinen Zugang zu den Reparaturmechanismen, die im Zellkern

vorhanden sind. Über Jahrtausende hat sich somit eine große Vielfalt in der mtDNA-Sequenz des Menschen entwickelt. Etwa die Hälfte dieser Variationen befindet sich in zwei nicht-codierenden Nebenregionen des Moleküls, und die Analyse der Abfolge dieser hochvariablen Regionen ist zu einem wichtigen Instrument sowohl in der Gerichtsmedizin als auch in der anthropologischen Forschung geworden. Es waren Analysen der mtDNA, die es ermöglichten, die Skelette des letzten russischen Zaren und seiner Familie zu identifizieren (2,3) und die Identität der „falschen Anastasia“ aufzudecken (4). Ebenfalls war es die mtDNA, die uns die ersten wichtigen Informationen zum Erbmaterial des Neanderthalers lieferte. Diese Analysen zeigten, dass es sich um einen Hominiden handelte, die mit dem heutigen Menschen nur entfernt verwandt war (5).

# DNA-Profilanalyse – die Technologie



Zwei Verfahren werden hier beschrieben: die klassische und die moderne DNA-Analyse. Da in beiden Verfahren die Elektrophorese eine grundsätzliche Rolle spielt und somit ein klares Verständnis dieser Technik unabdingbar ist, wird zuerst die Elektrophorese behandelt.

## Elektrophorese

Elektrophorese ist die Wanderung geladener Teilchen in einem elektrischen Feld. Da die DNA-Moleküle zahlreiche Phosphatreste enthalten, sind sie in alkalischer Lösung negativ geladen. In einem elektrischen Feld wandern sie zum Pluspol, zur Anode. Wenn diese Wanderung sich in einem Gel abspielt, werden die DNA-Moleküle gleichzeitig der Größe nach aufgetrennt, da sich die kleinen Moleküle schneller durch das netzartige Gel bewegen. Das Gel funktioniert also wie ein molekulares Sieb. Die Gelelektrophorese ist eine gute, einfache Technik zur Auftrennung der DNA-Moleküle nach Größe, und sie wird in vielen Methoden der DNA-Analyse eingesetzt.

## Die klassische DNA-Profilanalyse

Bevor Sie weiterlesen, sehen Sie sich bitte auf den Seiten 12-13 die Übersicht der klassischen DNA-Profilanalyse an.

Die klassische DNA-Profilanalyse behandelt größere VNTR-Regionen und wird als RFLP-Analyse (RFLP = Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus) durchgeführt. Dieser Begriff entstand in den 70er Jahren, als festgestellt wurde, dass menschliche DNA unter der Einwirkung von Restriktionsenzymen in kleinere Moleküle, die sogenannten Restriktionsfragmente, aufgeschnitten wird.

Nach der Behandlung mit einem Restriktionsenzym ergeben sich aus einer bestimmten autosomalen VNTR-Region eines Individuums normalerweise Restriktionsfragmente in zwei unterschiedlichen Größen, die vom Chromosom der Mutter bzw. vom dem des Vaters stammen (Abb. 3).

**Abbildung 3. Zwei VNTR-Allele** (siehe Abb. 1) **die auf die Wirkungsstellen eines Restriktionsenzym hinweisen:** die Länge der daraus resultierenden DNA-Fragmente wird anhand der Entfernung zwischen den Schnittstellen ermittelt (Pfeile).

väterliches Chromosom:



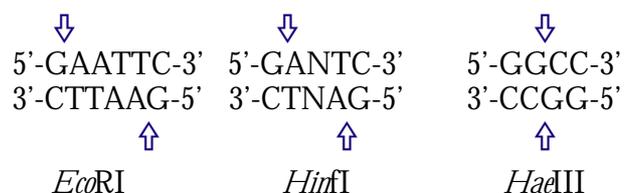
mütterliches Chromosom:



Es ist schon oben erwähnt worden, dass die Allele eines VNTR-Ortes Bestandteile eines polymorphen Merkmalsystems sind. Da die polymorphen Allele, die in der klassischen DNA-Profilanalyse verwendet werden, durch die Längen der entsprechenden Restriktionsfragmente bestimmt werden, wird hier der Begriff Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) verwendet.

## Restriktionsenzyme – Grundwerkzeug der DNA-Analyse

Restriktionsenzyme sind in Bakterien vorhanden. Sie zeichnen sich durch ihre Fähigkeit aus, ein spezifisches Basenmuster von gewöhnlich 4-6 Paaren in einem DNA-Molekül zu erkennen und den Doppelstrang entweder innerhalb oder in der Nähe der Erkennungssequenz zu "schneiden". Restriktionsenzyme sind sequenzspezifische DNA-Endonukleasen. Folglich ermöglichen sie das wiederholte "Schneiden" langer DNA-Moleküle in klar definierte Fragmente. Sie sind daher zu biochemischen Hilfsmitteln geworden, die sowohl in der Gentechnik als auch in der DNA-Analyse von grundsätzlicher Bedeutung sind.



**Abbildung 4. Erkennungssequenzen und 'Schnittmuster' von drei Restriktionsenzymen:** die meisten Enzyme haben symmetrische Erkennungssequenzen (Palindromsequenzen)

## Mehr über Restriktionsenzyme

Bakterien schützen sich vor Viren (Bakteriophagen oder schlicht: Phagen) durch Restriktionsenzyme. Die Enzyme zerschneiden die DNA eines eingedrungenen Phagen, der somit harmlos wird. Auf diese Weise wird das Virenspektrum, das ein bestimmtes Bakterium infizieren kann, eingeschränkt. Daher der Name: Restriktionsenzyme. (Das Bakterium schützt die eigene DNA gegen das Restriktionsenzym, indem ein weiteres Enzym dem entsprechenden Basenmuster eine Methylgruppe hinzufügt, falls die Erkennungssequenz im Genom des Bakteriums vorkommt. Diese Modifikation verhindert, dass die Sequenz vom Restriktionsenzym erkannt wird.)

Mehrere hundert Restriktionsenzyme, jedes mit eigener Erkennungssequenz, sind heute bekannt und im Fachhandel erhältlich. Die Enzyme werden durch kursivgeschriebene „Namen“ gekennzeichnet, die jeweils aus drei Buchstaben bestehen und auf die Bezeichnung des jeweiligen Bakteriums hinweisen. Zum Beispiel wurde *EcoRI* ursprünglich im Bakterium *Escherichia coli* oder *E. coli* entdeckt, das im Darm vorkommt. Andere Beispiele (Abb. 4) sind *HinfI* aus *Haemophilus influenzae* und *HaeIII* aus *Haemophilus aegypti*. In Europa wird *HinfI* in der Regel in der klassischen DNA-Profilanalyse eingesetzt, während in den USA *HaeIII* verwendet wird.

## Mehrfache VNTR-Regionen

Bei guter Qualität des Bandenmusters im Autoradiogramm (d.h. im durch die radioaktive Strahlung eingesetzter Sonden belichteten Film) wird die Membran zur Hybridisation mit einer weiteren Sonde verwendet, die eine weitere VNTR-Region erkennt. Die erste Sonde wird entfernt, was normalerweise mittels Aufkochen der Membran erreicht wird. Dieses Verfahren verändert weder das Muster der gebundenen einzelsträngigen Restriktionsfragmente noch deren Fähigkeit, sich mit den Basen einer neuen Sonde zu paaren. Die Schritte 5 bis 7 können unter Verwendung einer Sonde wiederholt werden, die sich an eine weitere VNTR-Region bindet. Die Membran wird gewöhnlich zur Erkundung von vier oder fünf VNTR-Regionen in einer DNA-Profilanalyse eingesetzt. Es ist natürlich ein großer Vorteil sowohl für die Handhabung als auch für die Genauigkeit, wenn alle Regionen in einem Elektrophorese-Durchgang analysiert werden können.

### Möglichkeiten und Grenzen

Der größte Vorteil der DNA-Profilanalyse auf der Grundlage von RFLP ist der hohe Grad an Variabilität in den klassischen VNTR-Regionen. Mit anderen Worten existiert für jeden Ort eine große Anzahl Allele. Folglich ist es höchst unwahrscheinlich, dass zwei nicht verwandte Individuen identische Profile aufweisen. Die Analyse birgt jedoch eine Schwäche: da die Restriktionsfragmente ziemlich groß sind, zeigen sie nach der Elektrophorese eine relativ kontinuierliche Größenverteilung (d.h. die Banden sind eventuell nicht klar zu

unterscheiden). Dadurch ist es schwierig, zwischen Fragmenten ähnlicher aber doch unterschiedlicher Länge zu unterscheiden, besonders wenn die betreffenden Proben nicht im gleichen Gel untersucht werden. Zwei Gele können bei gleicher Behandlung leicht unterschiedliche Ergebnisse aufzeigen, wenn sie in unterschiedlichen Kammern oder zwar in der gleichen Kammer aber zu unterschiedlichen Zeitpunkten benutzt werden.

Mindestens 20 Nanogramm gereinigter und ziemlich intakter DNA werden für die DNA-Profilanalyse auf RFLP-Basis benötigt. Diese Menge schränkt die Verwendbarkeit der Methode in kriminalistischen Fällen ein, bei denen unter Umständen nur wenig, dazu schon abgebaute DNA aus dem Blut oder von Samenspuren gewonnen werden kann. Weitere Probleme können durch Verunreinigungen der Spuren verursacht werden, zum Beispiel durch Farbstoffe aus Textilien wie Jeans, die an der DNA kleben, die Wegstrecken der Fragmente während der Elektrophorese beeinflussen und somit irreführende Ergebnisse hervorbringen können. Solche Ergebnisse könnten zur Folge haben, dass das DNA-Profil einer Spur sich von dem einer Blutprobe unterscheidet, obwohl es sich um eine und dieselbe Person handelt, die auf diese Weise zu Unrecht aus dem Kreis der Verdächtigen ausgeschlossen wird. Eine erfahrene wissenschaftliche Kraft wird jedoch diese Frage beachten, wenn stetige kleine Unterschiede in den Wanderungstrecken der Fragmente aus allen analysierten VNTR-Regionen zu beobachten sind.

# Die klassische DNA-Profilanalyse



## Die Schritte einer RFLP-Analyse

1

Die Proben werden geliefert. Die DNA wird extrahiert und gereinigt. Im Blut enthalten ausschließlich die weißen Blutkörperchen Kern-DNA und mtDNA. (Im Menschen wie bei allen anderen Säugetieren enthalten die roten Blutkörperchen keine DNA; die Blutplättchen enthalten nur mtDNA).

2

Die DNA-Proben werden mit dem Restriktionsenzym *HinfI* behandelt, das die DNA an mehreren Stellen einschließlich an beiden Enden der gewünschten VNTR-Regionen schneidet.

3

Die Proben, die die Restriktionsfragmente aus dem Schritt 2 enthalten, werden in einzelne Taschen in einem Agarosegel pipettiert, das in einer Elektrophoresekammer angesetzt und von einer alkalischen Pufferlösung bedeckt ist. Die Elektrophorese wird gestartet.

4

Nach der Elektrophorese wird das Gel aus der Kammer entfernt. DNA-Fragmente werden vom Gel auf eine Membran aus Nylon übertragen, indem die Membran auf das Gel gelegt wird und durch saugfähige Papiertücher abgedeckt wird. Dieses Verfahren wird 'Southern Blotting' genannt (nach dem Biochemiker Ed Southern). Das Gel wird mit einer stark alkalischen Lösung behandelt (NaOH), um die DNA-Fragmente zu denaturieren (d.h. um die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den DNA-Strängen zu lösen), damit die Fragmente sich als Einzelstränge an die Membran binden.

5

Die Nylon-Membran mit dem unsichtbaren Muster der gebundenen DNA wird in eine Lösung eingetaucht, die eine radioaktive, einzelsträngige DNA-Sonde enthält. Die Nukleotide der Sonde sind komplementär zu einer Teilsequenz der anvisierten VNTR-Region angeordnet. Die Stränge der Sonde hybridisieren mit den an die Membran gebundenen, einzelsträngigen Fragmenten, in denen sich die entsprechende VNTR-Region befindet.

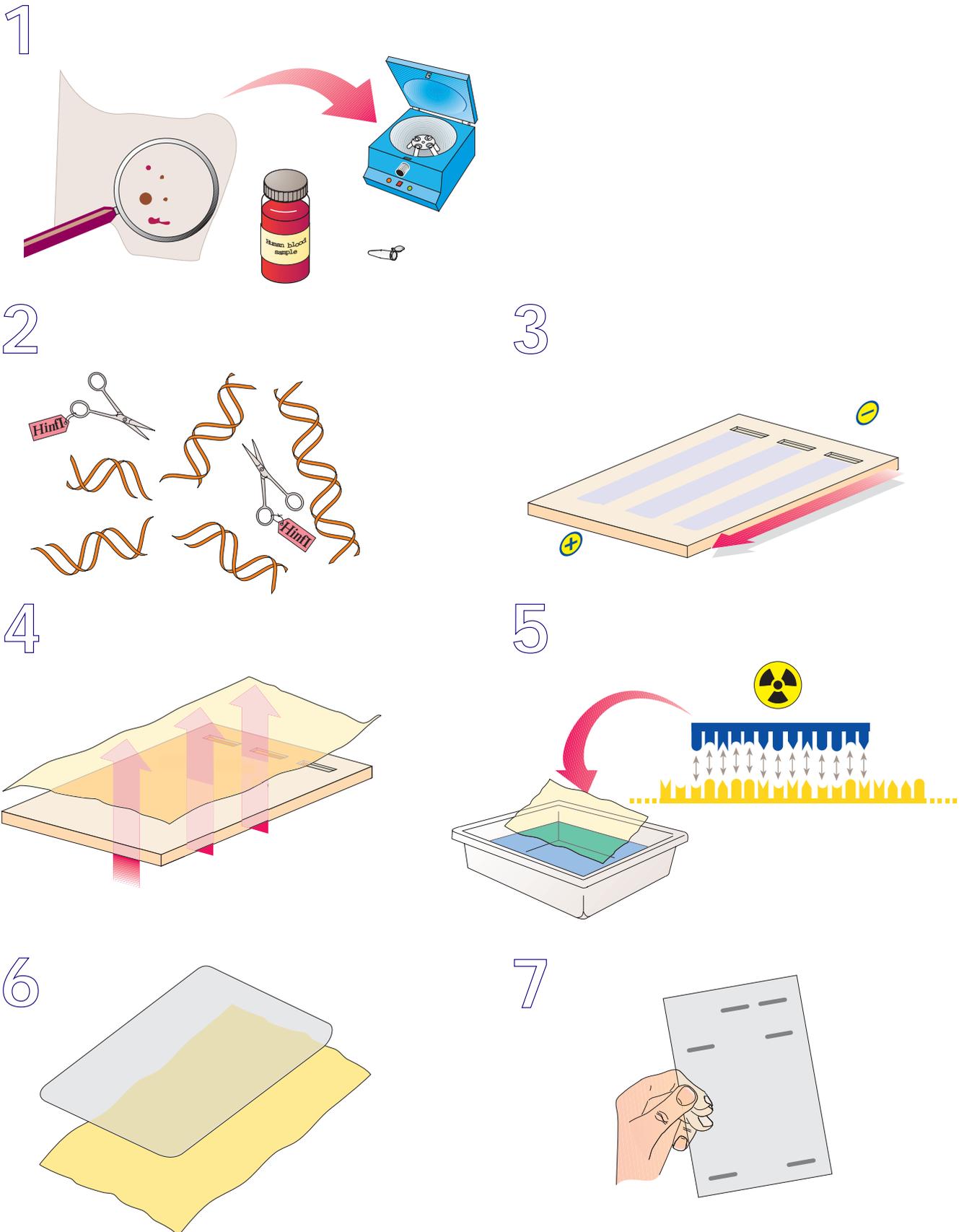
6

Die Nylon-Membran wird aus der Hybridisierungslösung herausgezogen, nicht-gebundenes Sondenmaterial wird durch Waschen entfernt, und die Membran wird getrocknet. Anschließend wird sie mit empfindlichem fotografischem Film in Kontakt gebracht, der die Stellen aufzeigen wird, an die die radioaktive Sonden-DNA gebunden ist, und somit die Positionen der zu beobachtenden Fragmente.

7

Der Film wird entwickelt, und „Banden“, die den Restriktionsfragmenten entsprechen, werden sichtbar. Die ungefähre Größe der Fragmente kann dann anhand der jeweiligen Wanderungstrecke während der Elektrophorese bestimmt werden, indem sie mit Molekülen verglichen werden, deren Größe bekannt ist und die im gleichen Gel elektrophoretisch aufgetrennt werden.

Abbildung 5. Die klassische DNA-Profilanalyse - die Schritte einer RFLP-Analyse



# Fallbezogene Beispiele



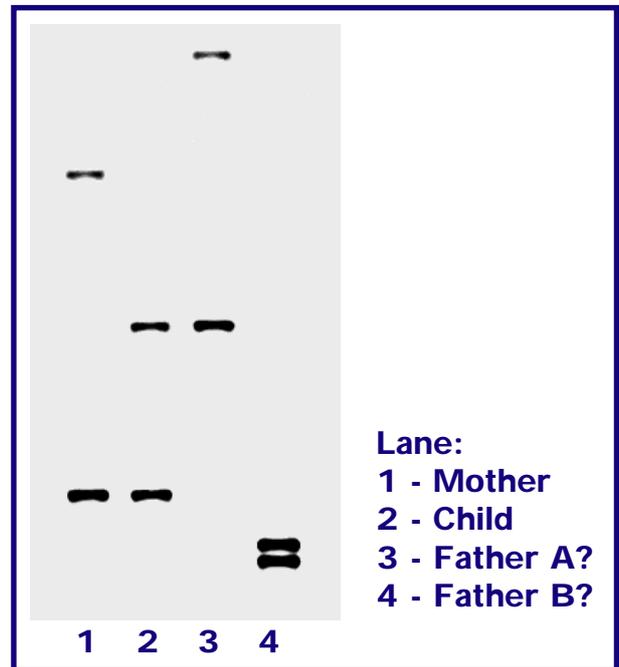
## BEISPIELE

### Problem 1: Vaterschaftsklage

Abbildung 6 zeigt das Ergebnis einer DNA-Profilanalyse auf RFLP-Basis in einem Fall bestrittener Vaterschaft. Bei der Interpretation des Ergebnis sollten genetische Grundsätze berücksichtigt werden: eine VNTR-Region wurde untersucht, die bei jedem einzelnen Menschen aus zwei Allelen besteht, von denen je eins vom Vater bzw. von der Mutter stammt.

- In diesem Fall wurden zwei mögliche Väter untersucht. Welche der folgenden beiden Fragen kann mit der höchsten Sicherheit beantwortet werden? (Antwort begründen.)
  - Welcher Mann ist der Vater des Kindes?
  - Welcher Mann kann nicht Vater des Kindes sein?
- Warum werden bei Vaterschaftsprozessen routinemäßig bis zu fünf VNTR-Regionen analysiert?

Abbildung 6

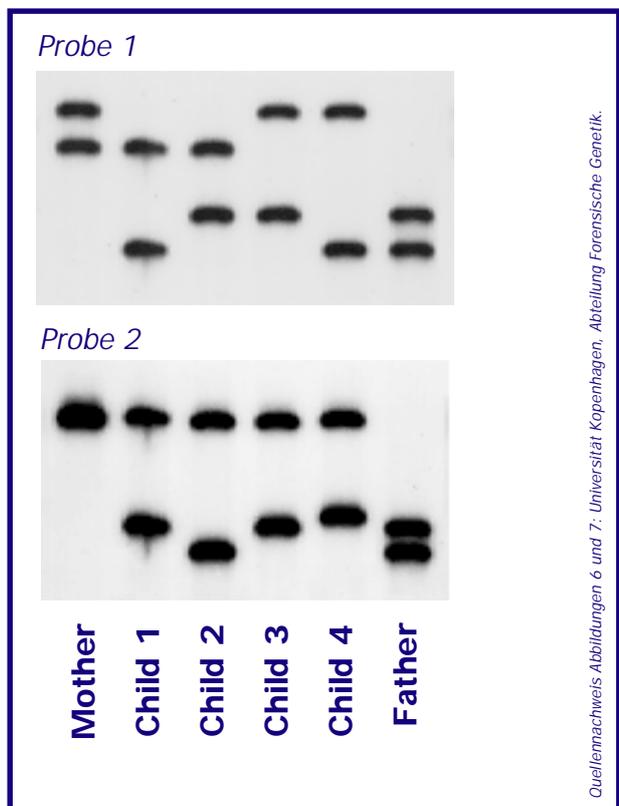


### Problem 2: Immigration

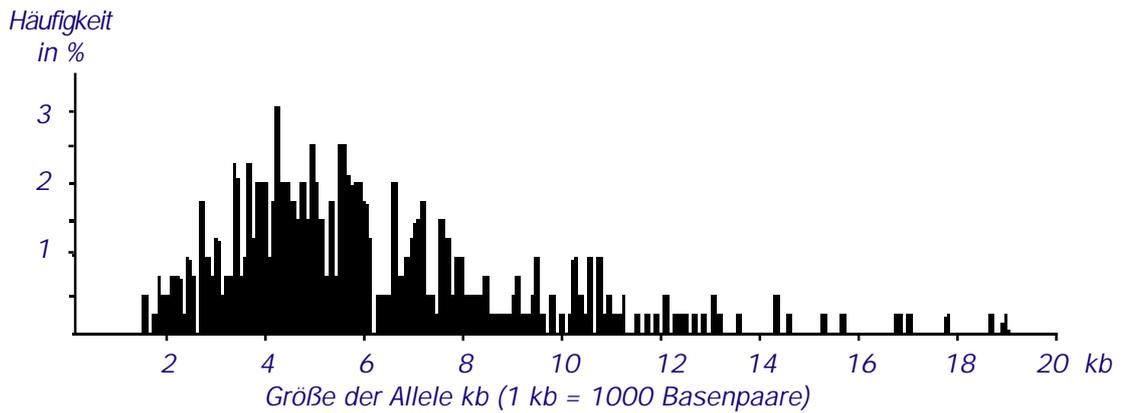
Abbildung 7 zeigt die DNA-Profilanalyse zweier VNTR-Regionen einer Familie. Der Hintergrund war, dass einer Flüchtlingsfamilie mit drei Kindern Asyl gewährt wurde. Später kam ein Heranwachsender und beantragte ebenfalls eine Aufenthaltserlaubnis. Sowohl er wie auch die Familie behaupteten, er sei das vierte Kind der Familie. Die Behörden baten um die DNA-Profilanalyse, um die biologischen Verwandtschaftsverhältnisse zu klären.

- Können die Erwachsenen die Eltern der Kinder 1, 2 und 3 sein? (Antwort begründen.)
- Können die Erwachsenen die Eltern des vierten Kindes sein? (Antwort begründen.)
- Äußern Sie auf der Basis der Antworten zu den ersten beiden Fragen, Ihre Meinung zu der Frage, ob das vierte Kind aufgrund seiner Verwandtschaft zur Familie das Aufenthaltsrecht bekommen sollte. (Siehe auch die Diskussionsfrage auf S. 24.)

Abbildung 7

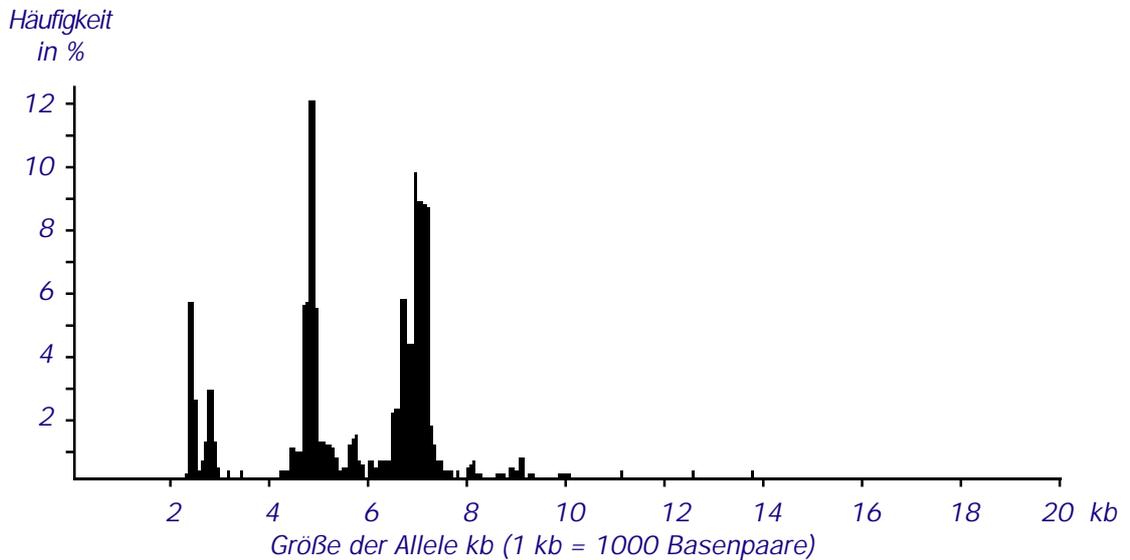


**Abbildung 8. VNTR-Ort D1S7 (Sonde MS1)**



Die Abszisse gibt die Allelgröße an; die Ordinate zeigt die Häufigkeit der Allele als Prozentsatz der analysierten Allele. Die Wiederholungssequenz besteht aus neun Basenpaaren. Die kleinsten Allele weisen wenig mehr als 130 Wiederholungen auf, die größten über 2000. Die Mutationsrate dieses Ortes beträgt ca. 5%, was auch für VNTR-Regionen als relativ hoch gilt. D1S7 befindet sich auf Chromosom 1q, d.h. auf dem langen Arm des Chromosoms 1. (Quellennachweis: Cellmark Verkaufskatalog).

**Abbildung 9. VNTR-Ort D5S43 (Sonde: MS8)**



Die Abszisse gibt die Allelgröße an; die Ordinate zeigt die Häufigkeit der Allele als Prozentsatz der analysierten Allele. Diese Wiederholungssequenz besteht aus 30 Basenpaaren. Die kleinsten Allele weisen ca. 80 Wiederholungen auf, die größten einige Hundert. (Quellennachweis: Cellmark Verkaufskatalog)

### Problem 3:

Die Abbildungen 8 und 9 zeigen die Allelverteilung der beiden VNTR-Orte D1S7 und D5S43 in einer europäischen Population.

1. Beschreiben Sie in Worten die Information, die jeweils in der Tabelle enthalten ist.
2. Welches Allel ist auf jedem der beiden Orte am häufigsten?
3. Sind diese zwei VNTR-Regionen in gleicher Weise hilfreich bei der DNA-Analyse in
  - a) einem Mordfall,
  - b) einem Vaterschaftsprozess und
  - c) einem Immigrationsfall? (Begründen Sie die Antwort)

# Die moderne Profilanalyse

Die moderne forensische DNA-Profilanalyse bedient sich der Analyse von STR-Regionen (*short tandem repeats*, siehe Informationskasten auf S.9), wobei die Wiederholungssequenzen aus vier Basenpaaren bestehen (siehe Abb. 11). Vor jeglicher Längenbestimmung der Allele werden die betreffenden Regionen in größerer Menge hergestellt (amplifiziert). Die dafür verwendete PCR-Technik (*polymerase chain reaction*, Polymerase-Kettenreaktion) ist eine wirkungsvolle Methode zur In-Vitro-Replikation von DNA. Unter geeigneten Bedingungen ermöglicht diese Technik die millionenfache Vervielfältigung einer gewünschten DNA-Sequenz innerhalb weniger Stunden.

**Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**  
Um DNA mittels dieser Methode zu amplifizieren wird folgendes benötigt: DNA aus der zu untersuchenden Probe, DNA-Polymerase (ein Enzym, das die vorhandene DNA kopiert und damit vervielfältigt) sowie die vier Desoxyribonucleosidtriphosphate, d.h. die „Bausteine“ der neuen DNA-Moleküle. Zwei kleine, einzelsträngige DNA-Moleküle, je 20-30

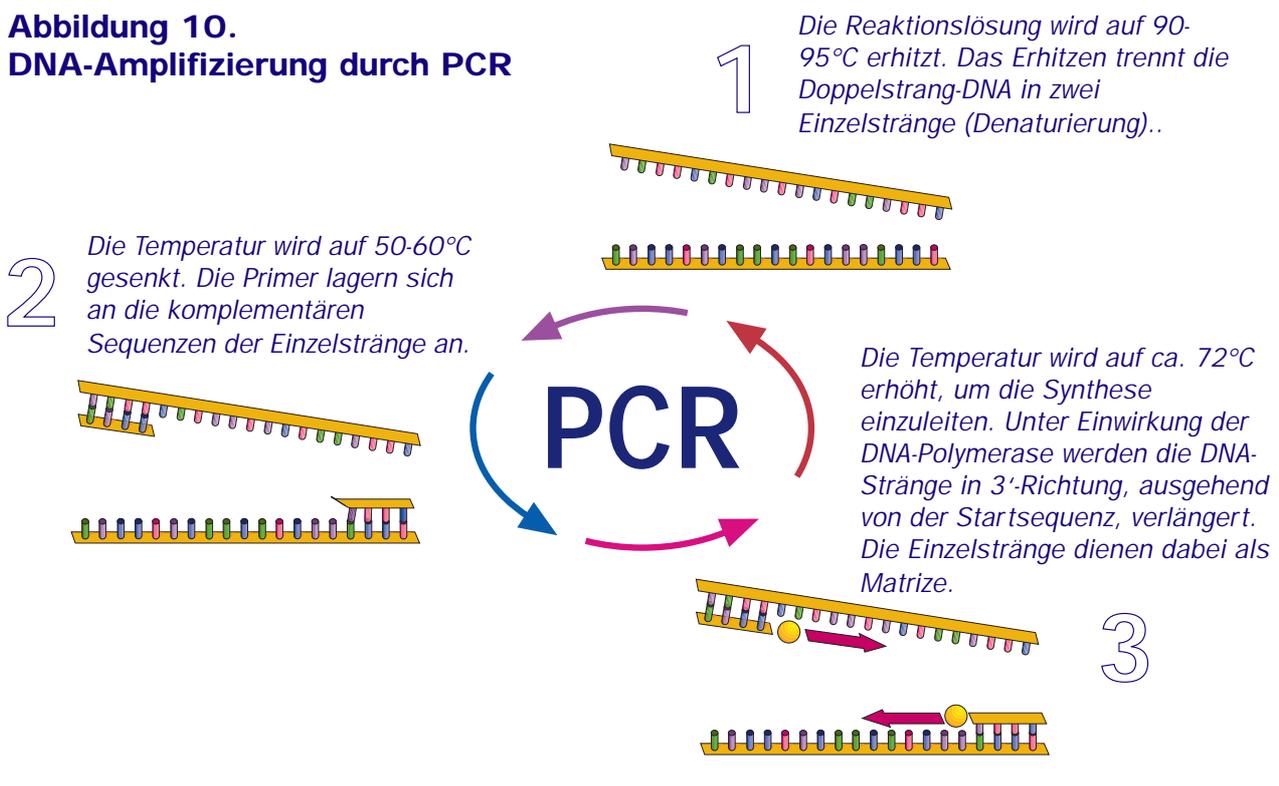
Nukleotide lang, werden ebenfalls benötigt. Diese Oligonukleotide dienen der Hybridisierung mit der DNA, d.h. sie binden an die komplementären Basen an beiden Enden der zu amplifizierenden Region (siehe Abb. 10). Diese Oligonukleotide, die sogenannten Primer, bilden den Ausgangspunkt für die Synthese neuer DNA-Stränge. Sie initiieren also die Polymerisierung. Das Verfahren besteht aus den folgenden Schritten, die in 25 bis 35 Zyklen wiederholt werden (siehe auch Abb. 10).

## A. Allgemeine Vorbereitung

Die zwei benötigten Primer, die die komplementären Sequenzen zu den beiden Enden des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts aufweisen, müssen beschafft, d.h. gekauft oder mittels Synthese hergestellt werden.

Die reine DNA wird aus der zu analysierenden Probe gewonnen. Beim Startmaterial kann es sich beispielsweise um eine Blutprobe oder eine Schleimhautprobe handeln, wobei eine Zellenprobe der Mundschleimhaut per Mundspülung oder Abstrich entnommen wird.

**Abbildung 10.**  
**DNA-Amplifizierung durch PCR**



Haare sowie Blut- oder Samenspuren können ebenfalls dazu herangezogen werden. (Unter geeigneten Umständen kann die PCR-Technik bei nicht-reiner DNA verwendet werden, z.B. bei einem Tropfen Vollblutes.)

### B. Vorbereitung der Reagenzien

Eine geeignete Menge DNA-Probe wird mit den zwei Primern und den vier Desoxyribonukleosidtriphosphaten (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), sowie Reaktionspuffer und DNA-Polymerase angesetzt.

### C. Durchführung – die PCR-Maschine

Das PCR-Gerät wird entsprechend programmiert, damit eine geeignete Anzahl

Zyklen zur jeweils gewünschten Temperatur durchgeführt wird, um die Auftrennung der DNA, das Anlagern der Primer und die Synthese neuer DNA-Stränge zu bewirken.

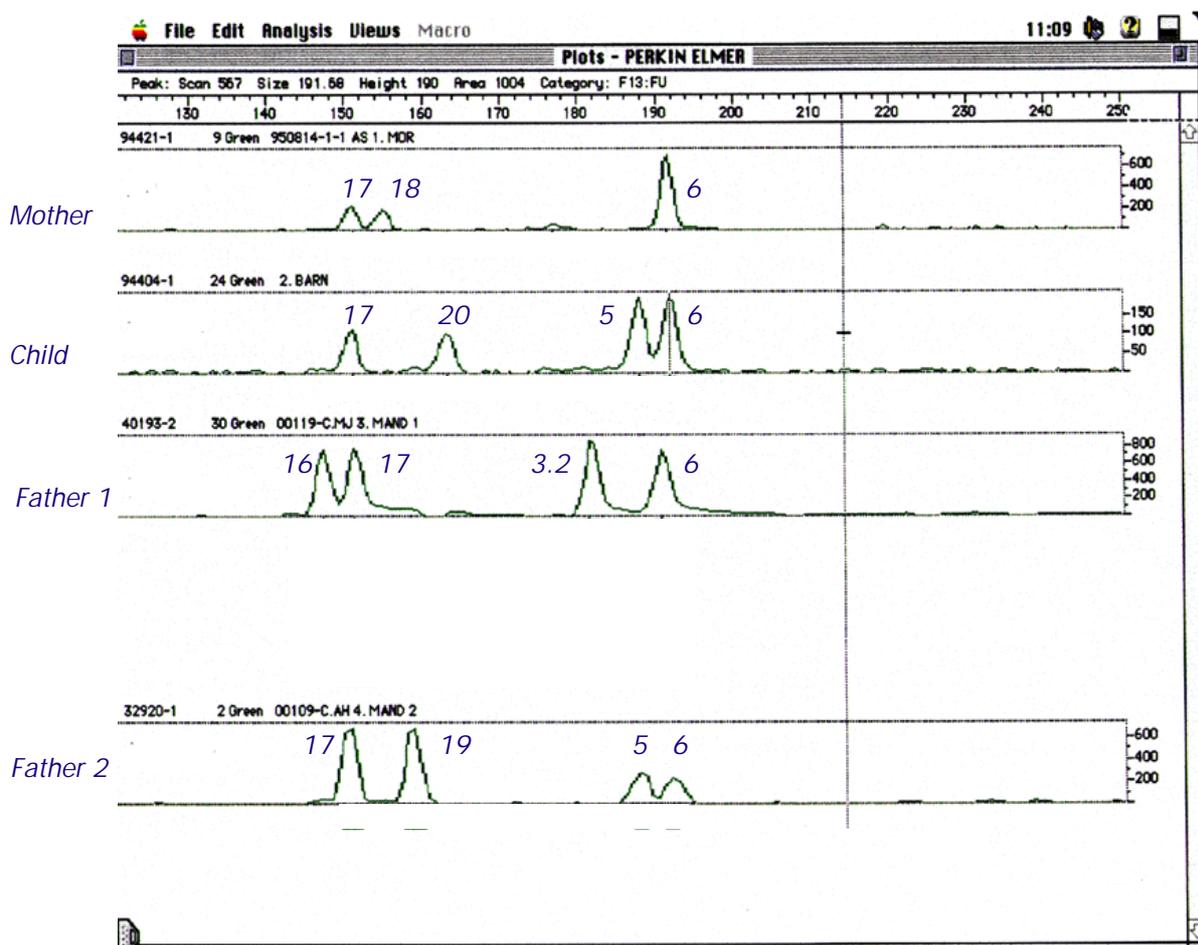
Die Reaktion wird eingeleitet, indem das Programm gestartet wird. Ein Zyklus, d.h. ein Durchgang der drei Temperatur-Schritte dauert normalerweise drei bis vier Minuten. Jeder Zyklus verdoppelt prinzipiell die Menge an Ziel-DNA.

### Analyse der Amplifikate

Die Größen der STR-Allele werden durch elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte bestimmt. Hochentwickelte,

**Abbildung 11. Ergebnisse einer DNA-Profilanalyse auf der Grundlage der PCR-Technik in einem Vaterschaftsprozess.**

Die zwei untersuchten Orte: HUMvWA (Scheitelpunkte 16, 17, 18, 19, 20) und HUMF13 (Scheitelpunkte 3.2, 5, 6) weisen beide eine Wiederholungssequenz aus vier Basenpaaren auf. Jeder Scheitelpunkt stellt ein Allel des betreffenden Ortes dar; die Zahl deutet auf die Anzahl der Wiederholungen. Primer werden ausgewählt, die PCR-Produkte bestimmter Größen erzielen, damit mehrere Orte innerhalb des gleichen Systems ohne Überschneidung analysiert werden können. Somit erklärt sich die Größe der PCR-Produkte, die die kleineren HUMF13-Allele (3-6 Wiederholungen) darstellen, im Vergleich zu den PCR-Produkten der HUMvWA-Allele (16-20 Wiederholungen). Der Scheitelpunkt 3.2 ist ein verbreitetes Allel (Häufigkeit 10%), das drei Wiederholungen und zwei zusätzliche Basenpaare aufweist.



Picture courtesy of Dept. of Forensic Genetics, University of Copenhagen.

computergesteuerte Lasergeräte werden heute eingesetzt, um die Laufstrecken der PCR-Produkte zu untersuchen. Sie werden mit den Laufstrecken der DNA-Moleküle verglichen, die von bekannter Größe sind und auf dem gleichen Gel im gleichen Elektrophorese-Durchgang aufgetrennt werden. Abbildung 11 zeigt einen Computerausdruck einer solchen Analyse.

#### **Problem 4:**

Besprechen Sie die Ergebnisse der in Abbildung 11 gezeigten Analyse und sagen Sie, welches Urteil Sie anhand dieser Ergebnisse erwarten.

#### **Vor- und Nachteile der PCR**

Die PCR-Technik hat die DNA-Analyse revolutioniert, und DNA-Profilanalyse auf der Grundlage dieser Technik wird die RFLP-Analyse bald ersetzen. Die moderne DNA-Profilanalyse ist sowohl schneller als auch weniger arbeitsintensiv, da viele der Schritte automatisiert werden können. In einer einzigen Reaktion kann DNA von 4-6 STR-Regionen amplifiziert werden.

Ferner ermöglicht die PCR-Technik eine Analyse bei Proben, die sehr wenig DNA enthalten. Zur klassischen DNA-Analyse werden mindestens 20 Nanogramm intakter DNA benötigt. Zu einer Routineanalyse auf PCR-Basis genügt hingegen ein Nanogramm,

und unter Umständen reicht sogar eine einzelne Zelle (weniger als 10 Picogramm) aus (9). Diese Entwicklung ist von besonderer Bedeutung in kriminalistischen Untersuchungen, die eventuell nur solche Proben zur Verfügung haben, die nicht nur sehr klein sondern auch so weit degradiert sind, dass auch nach der In-Vitro-Amplifikation lediglich STR-Orte lokalisiert werden können. Falls nur kleinste Mengen DNA, beispielsweise aus wenigen Zellen, gewonnen werden können, kann die Amplifikation einiger Allele misslingen. In diesem Fall spricht man von Allel-Ausfall (9).

Spuren unbekannter Substanzen können die Wirkung der DNA-Polymerase behindern und somit die PCR-Amplifikation beeinflussen. In Kriminalfällen stellt die Reinigung der DNA oft eine mühsame Aufgabe dar, die allerdings bewältigt werden muss, damit die PCR-Amplifikation gelingen kann.

Die hohe Empfindlichkeit der PCR ist gleichzeitig ihre Schwäche: die Verunreinigung durch DNA anderer Personen kann zu irreführenden Ergebnissen und falschen Schlüssen führen. Labors, die die PCR-Technik auf kleinste Mengen Startmaterial anwenden, mussten strenge Richtlinien zur Handhabung der Proben entwickeln. Das Risiko der Kontamination durch Fremd-DNA z.B. des Laborpersonals darf nur minimal sein.

### **Die Erfindung und Entwicklung der PCR-Technik**

Der erste internationale Bericht, der eine Beschreibung der PCR-Technik enthielt, erschien 1985 (6), aber erst ab 1988 fand die Methode breite Anwendung, nachdem eine hitzestabile DNA-Polymerase entdeckt und isoliert wurde und das Verfahren automatisiert werden konnte (7). Die PCR wird inzwischen auf einem computergesteuerten Thermoblock durchgeführt. Viele „PCR-Maschinen“ sowie verschiedene hitzestabile DNA-Polymerasen, manche genetisch modifiziert, sind auf dem Markt erhältlich. Die zuerst entdeckte und immer noch am häufigsten verwendete DNA-Polymerase ist Taq-Polymerase, die ihren Namen dem in heißen Quellen lebenden Bakterium *Thermus aquaticus* verdankt, in dem sie gefunden wurde. Solche Enzyme können wiederholte Erhitzungsvorgänge bis 90°C unbeschadet überstehen. Somit erübrigt sich eine zusätzliche Enzymzufuhr während des Verfahrens. Als die PCR-Technik 1985 zuerst ausprobiert wurde, war es notwendig, nach jedem Zyklus DNA-Polymerase hinzuzufügen, da das verwendete Enzym aus *E. coli*, das einzige, das damals zur Verfügung stand, hitzeempfindlich ist.

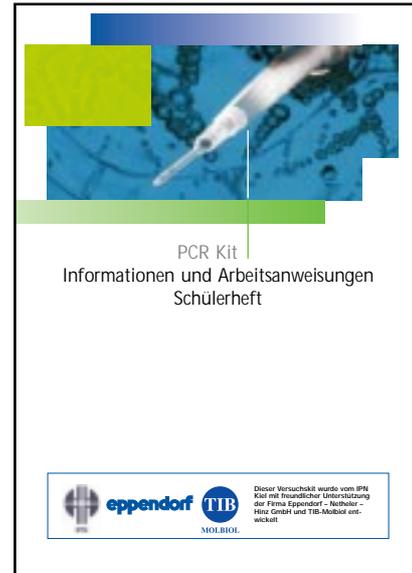
Die PCR-Technik wurde 1983 von Kary Mullis erfunden. Die Idee kam ihm während einer Fahrt zu seinem Ferienhaus in den Bergen Kaliforniens (8). Von seinem Arbeitgeber bekam Mullis einen Bonus in Höhe von 10.000 US\$. Später verkaufte die Firma das Patentrecht für 300 Millionen US\$. Kary Mullis erhielt 1993 den Nobelpreis für Chemie.

Amplifizierte DNA aus anderen Proben stellte eine weitere offensichtliche Verunreinigungsquelle dar. In den Labors herrscht deswegen eine klare räumliche Trennung zwischen den Bereichen, in denen DNA gewonnen und gereinigt wird, und den Bereichen, in denen die Amplifikation und die anschließende Analyse stattfinden. Ferner ist die Vernichtung amplifizierter DNA mit großer Vorsicht vorzunehmen. Das Risiko, dass Amplifikate außerhalb des Labors gelangen, ist ebenfalls zu minimieren.

### Anwendung in der Praxis

Aus naheliegenden Gründen versuchen forensische (gerichtsmedizinische) Labors sich auf die zu analysierenden VNTR-Regionen zu einigen. Vor der Entscheidung wird untersucht, welche Allele vorhanden sind und in welcher Häufigkeit sie in der Population vorkommen. Diese Information ist notwendig, damit die Nützlichkeit der Orte für die DNA-Profilanalyse, entweder in Kriminalfällen oder in Vaterschaftsklagen, festgestellt werden kann. Abbildungen 8 und 9 zeigen Beispiele der Allelverteilung in zwei VNTR-Regionen bei Europäern. Bei jedem fraglichen Ort wird auch die Mutationsrate analysiert und berücksichtigt. Diese Kenntnisse sind unabdingbar, wenn die DNA-Profilanalyse zur Feststellung einer Vaterschaft oder von anderen Verwandtschaftsverhältnissen eingesetzt wird.

Hinweis: Durchführung der Polymerase-Kettenreaktion in der Schule vom Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften an der Universität Kiel (IPN) wurde in Kooperation mit der Firma Eppendorf, Hamburg, ein PCR-Experimentierkasten für den Unterricht in der Schule entwickelt und in der Schulpraxis erprobt. Er kann zum Preis von DM 450,00 bei der Firma Eydam, Holzkoppelweg 101, D-24119 Kronshagen, bestellt werden.



# Wie zuverlässig sind die Schlüsse, die aus der DNA-Profilanalyse gezogen werden?



## Kriminalfälle

Bei Gewalttaten (Mord, Vergewaltigung) gilt es herauszufinden, von welchen Personen bestimmte biologische Spuren stammen, die beim Opfer oder am Tatort gefunden wurden. Hierbei handelt es sich zum Beispiel um Blut- und Samenflecke oder andere Spuren wie Haare. Wenn das DNA-Profil des Fleckes sich von dem DNA-Profil des oder der Verdächtigen unterscheidet, kann diese Person in der Regel aus dem Kreise der Verdächtigen ausgeschlossen werden. Andererseits darf, falls die DNA-Profile sich ähneln, nicht automatisch angenommen werden, dass die betreffende Person die schuldige ist. Die Möglichkeit, dass mehr als eine Person zu einem bestimmten DNA-Profil passt, kann nicht ausgeschlossen werden. Wie oben erwähnt dürften eineiige Zwillinge identische DNA-Profile aufweisen, aber auch Geschwister haben mit einiger Wahrscheinlichkeit ähnliche Profile, so lange nur wenig Orte analysiert werden. Die Wahrscheinlichkeit, dass Allele unter Geschwistern identisch sind, beträgt für jeden Genort mindestens 25%. Wenn vier Orte analysiert werden, beträgt die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Geschwister identische Profile aufweisen, mindestens 0.4 % (die Mindestwerte gelten für die häufigsten Situationen, bei denen beide Eltern heterozygotes Erbgut und keine gemeinsamen Allele haben.) Der Nutzen der DNA-Profilanalyse kann also beeinträchtigt sein, wenn es sich bei den Verdächtigen in einem Mord- oder Vergewaltigungsfall um zwei eng verwandte Personen wie zwei Brüder handelt. Gleiches gilt, wenn zwei solche Personen in einen Vaterschaftsprozess verwickelt sind. Durch das Heranziehen weiterer Genorte erhöht sich allerdings zunehmend die Wahrscheinlichkeit, dass aussagekräftige DNA-Profile auch für Geschwister erzielt werden können, solange es sich nicht um eineiige Mehrlinge handelt.

## Problem 5:

1. Begründen Sie, warum eine 25-prozentige oder größere Wahrscheinlichkeit dafür besteht, dass zwei Geschwister an einem gegebenen VNTR-Ort identische Allele haben.
2. Begründen Sie, warum die Wahrscheinlichkeit, identische DNA-Profile bei zwei Geschwistern zu erhalten, bei mindestens 0.4% liegt, wenn vier VNTR-Orte analysiert werden.

In einem typischen Kriminalfall lautet die kritische Frage folgendermaßen:

*Wenn das DNA-Profil des/der Verdächtigen mit dem Profil aus der Spur übereinstimmt, wie wahrscheinlich ist es dann, dass der/die Verdächtige die Spur verursacht hat?*

Die Bedeutung, die einer Übereinstimmung zweier DNA-Profile beigemessen werden kann, hängt vom Grad der Wahrscheinlichkeit ab, dass eine zufällig aus der Bevölkerung gewählte Person das gleiche Profil aufweist. Zur Berechnung dieser Wahrscheinlichkeit, d.h. der zu erwartenden Häufigkeit eines bestimmten DNA-Profils, müssen die Häufigkeiten der gegebenen Allele in der Bevölkerung bekannt sein. Zu diesem Zweck sind schon viele Personen in mehreren Ländern analysiert worden, um Daten zur Allelhäufigkeit zu erheben. Wenn das DNA-Profil auf der Grundlage der vier am häufigsten auf RFLP untersuchten VNTR-Orte erstellt wird, bewegt sich die Wahrscheinlichkeit, dass eine zufällig aus der Bevölkerung gewählte Person das gleiche DNA-Profil wie eine Spur an einem Tatort aufweist, zwischen 1 zu 100.000 und 1 zu 100.000.000 (10).

In einem Bericht über eine genetische Analyse zu einem Kriminalfall, die auf eine Übereinstimmung zwischen dem DNA-Profil einer Spur und dem eines/einer Verdächtigen hindeutet, würde die Routineaussage etwa so lauten: *Die Wahrscheinlichkeit, dass eine zufällig aus der Bevölkerung gewählte Person das gleiche DNA-*

*Profil wie die Spur aufweist, liegt unter 1 zu 100.000, vorausgesetzt, dass dieses Individuum nicht in einem engen Verwandtschaftsgrad zum Täter/zur Täterin steht.*

STR-Orte haben weniger Allele als die klassischen VNTR-Orte. Es ist deswegen notwendig, mehr STR-Regionen zu analysieren, um die gleiche niedrige Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Übereinstimmung der DNA-Profile zu erreichen. Zur Zeit werden fünf STR-Orte routinemäßig untersucht, vier davon in einer einzigen PCR-Amplifikation mit anschließender Gel-Elektrophorese. Eine Technik, die die Analyse von sechs Regionen in einer Reaktion ermöglicht, befindet sich in der Entwicklung.

### **Verwandtschaftsanalyse**

In Vaterschaftsprozessen gilt es, eine Übereinstimmung bei denjenigen Allelen des Kindes zu finden, die nicht mit denen der Mutter übereinstimmen. Selbstverständlich können viele unterschiedliche DNA-Profile gewisse Allelkombinationen gemeinsam haben, da jede Person an jedem autosomalen Ort zwei Allele hat.

Berechnungen für klassische DNA-Profilanalysen auf RFLP-Basis weisen auf Folgendes hin: die Wahrscheinlichkeit, dass ein zufällig ausgewählter Mann ein DNA-Profil mit einer gewissen Allelkombination aufweist, die der Kombination des Vaters eines bestimmten Kindes entspräche, liegt in den meisten Fällen weit unter 1 zu 10.000. Das heißt, dass die Wahrscheinlichkeit, per Zufall einen Mann zu bestimmen, dessen DNA-Profil die Kriterien einer Vaterschaft erfüllt, der jedoch nicht der Vater ist, unter 1 zu 10.000 liegt. Es sei allerdings auf die üblichen Einschränkungen hingewiesen, die bei engen männlichen Verwandten des Vaters gelten.

Folglich kann argumentiert werden, dass im Falle eines Mannes mit einem DNA-Profil, das ihn aus der möglichen Vaterschaft nicht ausschließt, die Ergebnisse der Analyse mit einer Gewichtung von über 10.000 zu 1 für eine Vaterschaft sprechen. Oder prozentual ausgedrückt liegt die Wahrscheinlichkeit, dass der fragliche Mann der Vater ist, über 99,99% (10).

Die Klärung von Verwandtschaftsverhältnissen in Immigrationsverhandlungen kann

komplizierter sein. Es hängt von den Fragen ab, die zu beantworten sind, und von den praktischen Gegebenheiten, wie dem Zugang zu Blutproben von den entsprechenden Personen.

### **Mutationen als Fehlerquelle**

VNTR-Allele, wie alle DNA, weisen gelegentlich Mutationen auf. Diese Tatsache muss bei jeder Auswertung der Ergebnisse einer Verwandtschaftsanalyse berücksichtigt werden. Somatische Mutationen, d.h. Mutationen in Körperzellen, nicht in Zellen der Keimbahn, beeinflussen die DNA-Profilanalyse nicht, da sie einen verschwindend geringen Teil der analysierten DNA (mit Ausnahme der Mitochondrien-DNA, siehe unten) betreffen.

In seltenen Fällen erfahren VNTR-Regionen eine Änderung in der Anzahl der Wiederholungen von einer Generation zur nächsten. Diese Veränderung kann während der DNA-Replikation in den Vorläufern der Keimzellen sowie während der Meiose durch ungleiche Übertragung erfolgen. In einem solchen Fall kann das Kind ein Allel erben, das in keinem der beiden Elternteile vorhanden ist (siehe Abb. 11).

Die VNTR-Orte, die in der Verwandtschaftsanalyse herangezogen werden, sind aus den stabileren Regionen ausgewählt, aber Mutationsraten von 0.1-0.5% sind verbreitet. Das heißt, dass jede 1.000ste bis jede 200ste Keimzelle eine Mutationen in der gegebenen VNTR-Region aufweist. Folglich ist es in einem Vaterschaftsprozess nicht möglich, einen Mann mit 100%iger Sicherheit auszuschließen, wenn eine Nicht-Übereinstimmung nur eine der Regionen betrifft, die in der DNA-Profilanalyse untersucht werden.

In solchen Fällen kann eine Klärung fast immer dann erfolgen, wenn drei weitere VNTR-Orte herangezogen werden. Die Berechnungen zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit einer Nicht-Übereinstimmung in mindestens einem der drei neu herangezogenen Orte sehr hoch ist (99.9%), wenn der Mann kein Verwandter ist. Die Wahrscheinlichkeit, dass Mutationen an zwei von acht Stellen auftreten, liegt unter 1 zu 100.000 (10).

**Tabelle 1. Die Verteilung von HUMTH01-Allelen in verschiedenen Populationen.**

	Zahl der Allele (Anzahl der Wiederholungen)						
	5	6	7	8	9	10	11
Dänen			24.6	20.1	12.4	9.5	0.3
Grönland/Eskimo		10.9	68.7	5.1	3.7		
Weißer Amerikaner	0.5	22.6	15.9	11.0	14.3	0.5	
Schwarzer Amerikaner		13.5	37.0	21.1	14.6		
Hispano-Amerikaner		20.8	33.3	6.8	14.3		
Asiaten		10.4	26.0	5.2	44.2	4.6	0.7

## STR-Analysen und ethnische Gruppen

HUMTH01 (humane Tyrosin-Hydrogenase) ist eines der STR-loci, die bei der PCR-basierten DNA-Profilanalyse untersucht werden. Es ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 11 im ersten Intron (daher die Nummer 01) lokalisiert, und zwar des Genes, das für das Enzym Tyrosin-Hydrogenase codiert. Die repetitive Sequenz enthält vier Basenpaare und maximal sechs Allele, die bei nicht miteinander verwandten Dänen, und fünf Allele, die bei einer Gruppe nicht verwandter grönländischer Eskimos gefunden wurden. Die Häufigkeiten der verschiedenen Allele sind in beiden Populationen sehr unterschiedlich verteilt.

Tabelle 1 zeigt die unterschiedlichen Muster der Verteilung der Allele in verschiedenen Populationen. Die Kenntnis aller Häufigkeiten ist für die Grundlage von Berechnungen bedeutsam, die in einem Kriminalfall oder einer Vaterschaftsanalyse die kritische Frage beantwortet: Wie groß ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person mit einem zutreffenden DNA-Profil nichts mit dem betreffenden Fall zu tun hat, und nur zufällig ein übereinstimmendes DNA-Profil zeigt?

### Problem 6:

1. Zeichnen Sie die in Tabelle 1 enthaltenen Daten als Histogramm, vgl. Abb. 8 und 9.
2. Beschreiben Sie die Ähnlichkeiten und Unterschiede bei der Allelverteilung unter diesen Populationen.
3. Begutachten Sie die Stichhaltigkeit eines Beschlusses, dass ein gegebener Verdächtiger der Schuldige (bzw. der Vater) ist, wenn
  - a) in einem Mordfall und
  - b) in einem Vaterschaftsprozess eine vollständige HUMTH01-Übereinstimmung aufgezeigt wird. (Nehmen Sie an, dass zu diesem Zeitpunkt keine weiteren Genorte untersucht worden sind.)
4. Wenn ein Gerichtssystem seine Beschlüsse auf eine solche Übereinstimmung gründete (Frage 3), was wären die Auswirkungen bei unterschiedlichen Populationen?

## Die Analyse der Mitochondrien-DNA

Die Analyse von Mitochondrien-DNA (mtDNA) gewinnt rapide an Bedeutung, und zwar sowohl in der Justiz – zur Identifizierung – wie auch in anthropologischen und archäologischen Untersuchungen. Der Vorteil liegt zum Teil in den vielen Variationen, die in den Sequenzen der mtDNA vorkommen. Diese Variationsvielfalt führt dazu, dass zwei Individuen, solange sie nicht über eine ununterbrochene weibliche Linie miteinander verwandt sind, einen oder mehr Unterschiede in ihrer mtDNA-Sequenz aufweisen. Ungefähr die Hälfte der Variation findet auf zwei hochvariablen nichtcodierenden Regionen statt, die lediglich um die 750 Basenpaare enthalten. Diese sind somit die interessantesten Regionen bei einer mtDNA-Analyse.

Bei mtDNA liegt die Mutationsrate höher als bei der Zellkern-DNA. Nichtsdestoweniger kommt es relativ selten vor, dass mehr als eine mtDNA-Sequenz in einem Individuum vorkommt. Anhand der vielen Daten, die inzwischen vorliegen, ist allerdings festgestellt worden, dass bestimmte Basenpaare in der mtDNA so oft mutieren, dass das Vorkommen eines „alten“ Basenpaares in Verbindung mit mutierter mtDNA doch nicht als extreme Seltenheit gelten kann. Folglich kann die mtDNA-Sequenz, in einer Gewebeprobe (z.B. Haare), von der mtDNA-Sequenz einer Blutprobe unterscheiden, wenn es sich um eine dieser hochmutierenden Basenpaare handelt, auch wenn beide Proben von der gleichen Person stammen.

Bedenken Sie die folgende Situation. An einem Tatort gefundene Haare sind auf mtDNA untersucht worden. Ein Vergleich mit der mtDNA aus der Blutprobe eines Verdächtigen zeigt eine Diskrepanz in einem Basenpaar, das bekanntlich häufig Mutationen aufweist. Dieser Tatbestand gilt heute nicht mehr als ausreichende Beweislage, um den Verdächtigen aus den weiteren Ermittlungen auszuschließen.

## Zar Nikolas und seine Familie – ein Rätsel wird gelöst

Das bekannteste Beispiel zweier DNA-Sequenzen in einer Person stammt von der Identifizierung der Skelettreste des letzten russischen Zaren und seiner Familie - eine dramatische Geschichte für sich.

Zusammen mit seiner Frau und ihren fünf Kindern wurde Zar Nikolas II. im Jahre 1918 von den Bolschewisten hingerichtet. Über den Verbleib der Leichen wurde viele Jahre Stillschweigen bewahrt, aber 1979 gelang, die Stelle zu finden, wo der Zar, seine Familie und Mitglieder seines Haushalts wahrscheinlich begraben worden waren. Erst nach Auflösung der Sowjetunion wurden jedoch die forensischen und anthropologischen Analysen genehmigt, die es erlaubten, fünf der neun Skelette als diejenigen des Zaren, seiner Frau und von drei ihrer Töchter zu identifizieren (2, 3).

Zuerst wurde anhand von Geschlechtsuntersuchungen und STR-Analysen der aus den Knochen gewonnenen DNA festgestellt, dass fünf der Skelette, ein Paar in den mittleren Jahren und drei junge Frauen, wahrscheinlich aus einer Familie stammten. Analysen der mtDNA deuteten darauf hin, dass die vier Frauen identische Sequenzen hatten, ein weiterer Hinweis darauf, dass es sich hier um eine Frau und ihre drei Töchter handelte. Die Tatsache, dass die Zähne der Frau gut erhalten waren und teilweise mit Platinfüllungen versehen waren, untermauerte die These, dass sie die Ehefrau des Zaren gewesen sein müsste.

Die endgültige Identifikation des Paares als Zar und Zarin erfolgte, als ihre mtDNA-Sequenzen mit denen lebender Personen verglichen wurden, die über eine ungebrochene weibliche Linie mit dem Zaren bzw. seiner Frau verwandt sind. Solche Verwandtschaften sind dank detaillierter Abstammungsdaten der entsprechenden Kreise festzustellen. Prinz Philip, Herzog von Edinburgh, Ehemann der britischen Königin, war eine Schlüsselfigur in den Untersuchungen. Als Sohn einer Tochter einer der Schwestern der Zarin ist er

über eine ungebrochene weibliche Linie mit der Zarin verwandt. Die mtDNA-Sequenz der vier Frauen im Grab sollte demnach mit seiner Sequenz übereinstimmen, wenn es sich um die sterblichen Überreste der Zarin und drei ihrer Töchter handelte, und dies war tatsächlich der Fall.

Es wurden auch zwei Personen

ausfindig gemacht, die über eine ungebrochene weibliche Linie mit dem Zaren verwandt sind. Ihre mtDNA-Sequenzen waren erwartungsgemäß identisch und stimmten ebenfalls mit der Sequenz des vermeintlichen Zarenskeletts überein. Ein Fragment der mtDNA aus dem Skelett wies jedoch ein anderes Basenpaar auf einer der Positionen auf. Nachdem nun das mutmaßliche Zarenskelett zwei unterschiedliche mtDNA-Sequenzen aufwies, wurde beantragt, mtDNA aus dem Skelett des älteren Bruders des Zaren, Georgij Romanow, zu gewinnen, der 1899 starb und in St. Petersburg beigesetzt war. Seine mtDNA wies die gleichen zwei Sequenzen auf, ein starkes Indiz dafür, dass es sich tatsächlich um das Skelett des Zaren handelte (3).

Schließlich wurde im Zuge dieser Aufklärung ein weiteres „Rätsel“ gelöst. Jahrzehntlang hatte eine Frau behauptet, Anastasia, die jüngste Tochter des Zaren zu sein, die angeblich 1918 der Hinrichtung entkommen konnte. Diese Frau starb in den achtziger Jahren in den USA. Eine konservierte Gewebeprobe ihres Dünndarms wurde in einem Krankenhaus aufgespürt, in dem sie 1979 operiert wurde. Daraus wurde die DNA extrahiert und analysiert. Die mtDNA-Sequenz unterschied sich gänzlich von der Sequenz der Zarin, und die angebliche Verwandtschaft konnte somit ausgeschlossen werden. Die Identität der Frau wurde letztendlich geklärt, als gezeigt werden konnte, dass ihre mtDNA-Sequenz mit der Sequenz eines lebenden polnischen Mannes übereinstimmte, dessen Großmutter mütterlicherseits belegbar eine Schwester der Hochstaplerin war (4).



# Diskussionsfragen



## Probenqualität

DNA aus Leichen, Blutspuren und anderen biologischen Überresten kann unterschiedlich degradiert und in unterschiedlichen Mengen vorhanden sein. Welche Probleme birgt dies für die Analyse und Interpretation der Ergebnisse?

## Fehler bei der Probenentnahme und -behandlung

Die Proben werden durch Menschen entnommen, erfasst und aufbewahrt, und überall dort, wo Menschen eine Rolle spielen, sind Fehler möglich. Es hat sogar Fälle gegeben, bei denen die Proben vorsätzlich vertauscht wurden. Wie können diese Probleme angegangen werden?

## DNA-Analyse als einzige Beweisquelle

Wie lautet Ihr Urteil, wenn die Ergebnisse der DNA-Profilanalyse die einzigen Beweise gegen eine/n Angeklagte/n darstellten?

## Datenschutz

Gelegentlich zeigen DNA-Analysen bei Familien, dass die erziehenden Eltern nicht die leiblichen Eltern sind. Es wird infolge von Berechnungen angenommen, dass in den westlichen Gesellschaften einige Prozent der Kinder einen biologischen Vater haben, der nicht die Person ist, die sie für ihren Vater halten. Manche Kulturen haben ein breiter gefasstes Verständnis der Familienbindungen. Wie kann sichergestellt werden, dass sensible Daten wie diese nicht in die falschen Hände geraten.

## Datenbanken der DNA-Profile

Sollte es der Polizei gestattet sein, eine Datenbank einzurichten, die sämtliche DNA-Profile enthielte, die im Laufe bestimmter Ermittlungen erstellt wurden, und zwar ungeachtet dessen, ob die Personen für schuldig befunden wurden oder nicht? Wenn ja, wer sollte Zugang zu diesen Information haben und sie nutzen dürfen?

## Unabhängigkeit der DNA-Labors

Die DNA-Profilanalyse kann mit relativ preisgünstigen Geräten und Materialien durchgeführt werden. Sollte es Ihrer Meinung nach für die Labors, die solche Analysen vornehmen, ein besonderes Regelwerk geben, oder sollte der Markt offen sein, damit die Beauftragten der Anklage und der Verteidigung konkurrierende Labors beauftragen können, die Analysen vorzunehmen.

## Ethnische Probleme

Die Verteilung der Allelhäufigkeit an unterschiedlichen VNTR-Orten kann sich unter verschiedenen ethnischen Gruppen unterscheiden. Wie sollte mit einer Situation umgegangen werden, in der die Polizei beschließt, in einer bestimmten ethnischen Gruppe zu ermitteln, weil die Spur, die am Opfer sichergestellt wurde, ein DNA-Profil aufweist, das in der fraglichen ethnischen Gruppe verbreiteter vorkommt?

## Überwachung

Es ist vorgeschlagen worden, DNA-Profile - entweder gedruckt oder verschlüsselt - in Reisepässe oder auf Sozialversicherungskarten aufzunehmen. Diskutieren Sie die Vor- und Nachteile eines solchen Vorschlags. Kann man es mit dem Vorschlag vergleichen, alle Mitglieder der Bevölkerung zu fotografieren, um Bilder gesuchter Person veröffentlichen zu können?

## Wissenschaftliche Beweise

Ergebnisse von Analysen wie die DNA-Profilanalyse werden oft als wissenschaftliche Beweise vor Gericht vorgeführt. Wie kann sichergestellt werden, dass die Zweifel, die stets bezüglich der Zuverlässigkeit solcher Ergebnisse herrschen, von dem Gericht ausreichend gewürdigt werden?

## Literaturhinweise

1. Olaisen B., Stenersen M. and Mevåg B. 1997. *Identification by DNA analysis of the victims of the August 1996 Spitsbergen civil aircraft disaster*. Nature Genetics **15**: 402-405.
2. Gill P., Ivanov P.L., Kimpton C. et al. 1994. *Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis*. Nature Genetics **6**: 130-135.
3. Ivanov P.L., Wadhams M.J., Roby R.K. et al. 1996. *Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in the Grand Duke of Russia Georgij Romanov establishes the authenticity of the remains of Tsar Nicholas II*. Nature Genetics **12**: 417-420.
4. Stoneking M., Melton T., Nott J. et al. 1995. *Establishing the identity of Anna Anderson Manahan*. Nature Genetics **9**: 9-10.
5. Krings M., Stone A., Schmitz R.W. et al. 1997. *Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans*. Cell **90**: 19-30.
6. Saiki R.K., Scharf S., Faloona F. et al. 1985. *Enzymatic amplification of  $\beta$ -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia*. Science **230**: 1350-1354.
7. Saiki R.K., Gelfand D., Stoffel S. et al. 1988. *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase*. Science **239**: 487-491.
8. Mullis K. 1990. *The unusual origin of the polymerase chain reaction*. Scientific American **262** (April): 56-61.
9. Findlay I., Taylor A., Quircke P., Frazier R. and Urquhart A. 1997. *DNA fingerprinting from single cells*. Nature **389**: 555-556.
10. Eriksen B. and Hansen H.E. 1996. Genetikken i retssalene. Dansk Kemi **5**: 8-11.
11. Agesen H. et al. (Ed.) 1991. Experimental Gene Technology. Novo Nordisk.

# Simulation der DNA-Profilanalyse



**Es gibt verschiedene Methoden zur Simulation der DNA-Profilanalyse im Schullabor. Die folgende Methode kann von Lehrern eingesetzt werden, die mit der Gelelektrophorese Erfahrung haben.**

## Simulation der Profilanalyse bei Mehrfachenproben

Bei dieser Methode werden vier DNA-Proben eingesetzt, davon eine, die vom Tatort stammen soll, und drei, die aus Verdächtigen stammen. Die DNA eines/einer Verdächtigen wird mit der DNA vom Tatort übereinstimmen; also werden drei verschiedene DNA-Typen benötigt, die (nach der Restriktion und elektrophoretischen Auftrennung) charakteristische Muster aufweisen.

Um die Kosten zu minimieren, setzt diese Übung leicht erhältliche DNA ein, die aus dem Bakteriophagen Lambda und einem einzelnen bakteriellen Plasmid stammt. Drei unterschiedliche Restriktionsmuster erzielt man durch Restriktion einer der Lambda-DNA-Proben mittels eines zusätzlichen Enzyms, bevor die Proben den Schülern und Schülerinnen zur Restriktion mit *Hind*III und anschließender Analyse gegeben werden. Die Schülerinnen und Schüler sollten nicht von dieser Vorbehandlung in Kenntnis gesetzt werden!

Der Lehrkraft wird sicher ein geeignetes Szenario einfallen (z.B. Beschreibung eines geeigneten Kriminalfalls), das die Übung etwas lebhafter macht.

Jeder Apparat kann hierzu benutzt werden, der sich für die Gelelektrophorese bei DNA eignet. Günstige Kits sind erhältlich, die raumtemperaturstabile Lambda-DNA sowie Restriktionsenzyme enthalten, zusammen mit allen notwendigen Geräten und Substanzen. Detaillierte Anweisungen mit Richtlinien für die Behandlung der DNA mit Restriktionsenzymen und für die Auftrennung der erzielten DNA-Fragmente durch Gelelektrophorese sind ebenfalls enthalten.

Weitere Informationen erhalten Sie bei

Dr. E.R. Lucius,  
IPN an der Universität Kiel,  
Olshausenstr. 62,  
24098 Kiel,  
Tel.: 0431/880 3137,  
Fax: 0431/880-3132,  
e-mail: lucius@ipn.uni-kiel.de

Für diese Simulation der DNA-Profilanalyse ist zusätzlich ein geeignetes Plasmid notwendig (z.B. pUC18, erhältlich bei Firmen, die Bedarfsmaterialien für die Molekularbiologie vertreiben – allerdings teuer).

Die erforderlichen Materialien und Geräte enthält z.B. der Lambda-Kiel, der über das IPN zum Preis von DM 450,00 bestellt werden kann.

## Ziel

- Die DNA-Profilanalyse zu simulieren und einige der grundlegenden Verfahren der DNA-Restriktionsanalyse zu demonstrieren.

## Vorbereitung

DNA-Proben müssen vor der Übung resuspendiert und mit *Eco*RI oder einem geeigneten Plasmid angesetzt werden.

## Organisation

Die Übung nimmt ca. 50 Minuten in Anspruch einschließlich 30 Minuten zur Inkubation der DNA-Proben mit dem Enzym. Wenn Geräte mit niedriger Spannung benutzt werden, dauert die Auftrennung zwischen 6 und 12 Stunden.

## Material und Reagenzien

*Pro Person bzw. pro Gruppe wird Folgendes benötigt (Mengen und Konzentrationen werden nach den Protokollen des NCBE angegeben).*

*Drei DNA-Proben von 'Verdächtigen':*

- Reaktionsgefäß A mit  $\lambda$ -DNA-Lösung: 2 $\mu$ g in 20 $\mu$ l
- Reaktionsgefäß B mit  $\lambda$ -DNA-Lösung: 2 $\mu$ g in 20 $\mu$ l, mit *Eco*RI (10 Einheiten, getrocknet) vermischt
- Reaktionsgefäß C mit  $\lambda$ -DNA-Lösung: 2 $\mu$ g in 20 $\mu$ l, mit einem geeigneten Plasmid\* (z.B. pUC18 oder pBR322): 0.2 $\mu$ g in 2 $\mu$ l

\* Jedes Plasmid von 4-6 Tausend Basenpaare eignet sich für diesen Zweck.

*Eine 'Probe vom Tatort', d.h. eine der drei oben aufgeführten – die billigste und einfachste wäre:*

- Reaktionsgefäß D mit  $\lambda$ -DNA-Lösung: 2 $\mu$ g in 20 $\mu$ l.

*Zusätzlich benötigt werden*

- 4 Reaktionsgefäße mit jeweils 10 Einheiten des Restriktionsenzym *Hind*III
- eine Elektrophoresekammer
- ein Gelkamm (4 Taschen)
- 15 Mikropipettenspitzen (einschließlich Reserve)
- Mikropipette oder Mikrospritze
- Blauer Markerfarbstoff, Bromphenolblau, Ladepuffer, mit Saccharose (ca. 10 $\mu$ l)
- TBE-Puffer-Lösung
- Agarosegel, 0.8%, aus TBE-Puffer-Lösung, flüssig
- Ca. 10ml DNA-Färbelösung, 0.04% Azur-A-Lösung, in 20% Ethanol (eine sichere Alternative zur Ethidiumbromid)
- Wasserfester Filzstift
- Batterien (12-25 Volt) oder Stromquelle
- Wasserbad oder Inkubator, 37°C

**Abbildung 12.**  
**DNA-Gel nach Elektrophorese und Färben**



## Vorgehen

Folgen Sie einem empfohlenen Protokoll zur Inkubation der Proben mit *Hind*III, zur Auftrennung der Fragmente durch Gelelektrophorese und zur anschließenden Färbung des Gels, um die DNA-Banden sichtbar zu machen (siehe Anweisungen zum I-Kit, der vom NCBE, University Reading in Kooperation mit dem IPN, Kiel, entwickelt worden ist).

## Ergebnisse

Abbildung 12 zeigt die Art des zu erwartenden Bandenmusters: die 'Tatortprobe' kann mit den drei 'Verdächtigenproben' verglichen werden, um eine Übereinstimmung mit einer der Proben festzustellen. Das Muster erinnert an die 'Fingerabdruck'-Methode von Alec Jeffreys. Es muß darauf hingewiesen werden, dass es sich hier um eine Simulation handelt. Verfahren mit Einzelsonden würden eine oder zwei Banden pro Probe ergeben.