

Identifizierung

D. PATZELT, M.P. BAUR, J. BERTRAMS

11.1

Allgemeine Einführung

11.1.1

Begriffsbestimmung

Die forensische Serologie ist eine der tragenden Säulen des Fachgebietes Rechtsmedizin.

Sie lässt sich bezüglich ihrer Anwendung im Fach untergliedern in:

- Spurenkunde und Identifikation
- Abstammungsbegutachtung

Die moderne forensische Serologie fußt auf den relevanten Entdeckungen zu Beginn dieses Jahrhunderts, die mit den Namen Paul Uhlenhuth und Karl Landsteiner verbunden sind. Sowohl der Nachweis der Artspezifität als auch die Zugehörigkeit zu den Phänotypen des AB0-Blutgruppensystems wurden jeweils mit Antisera erfasst, was der Arbeitsrichtung die Bezeichnung *Serologie* gegeben hat. Dieser Begriff ist im Wortsinn heute überholt, weil sich nur noch wenige forensisch-serologische Verfahren der Immunreaktion bedienen. Zahlreiche Proteinpolymerismen werden rein elektrophoretisch detektiert, die genanalytischen Untersuchungen der Spurendiagnostik kommen gleichfalls ohne Antikörper aus. Es hat sich deshalb zunehmend auch der Begriff der *forensischen Hämogenetik* etabliert, der deshalb in den Titel Eingang gefunden hat. Die historische Entwicklung der forensischen Serologie wird bei den jeweiligen Hauptkapiteln kurz abgehandelt.

11.1.2

Biologische Grundlagen

Es unterliegt heute keinem Zweifel mehr, dass jeder Mensch über seine eigene und unverwechselbare genetische Individualität verfügt. Einzige Ausnahme sind monozygote Zwillinge, die zumindest in ihrer genetischen Erstausrüstung vollständig identisch sind.

Die genetische Heterogenität ist die Grundvoraussetzung der forensischen Serologie. Nur, wenn sich Individuen voneinander unterscheiden,

ihre Verschiedenheit methodisch fassbar ist und von einem Teil (der Spur) auf das Ganze (den Spurenleger) geschlossen werden kann, können Zuordnungen von Personen zu Spuren und umgekehrt erfolgen. Unter anderer Fragestellung gilt dasselbe für die Zuordnung des Erzeugers zum Kind. Die genetische Heterogenität hat ihre stoffliche Grundlage in der individualspezifischen DNA-Komposition. Sie ist daher sowohl auf der Gen- als auch partiell auf der Genproduktebene erfassbar.

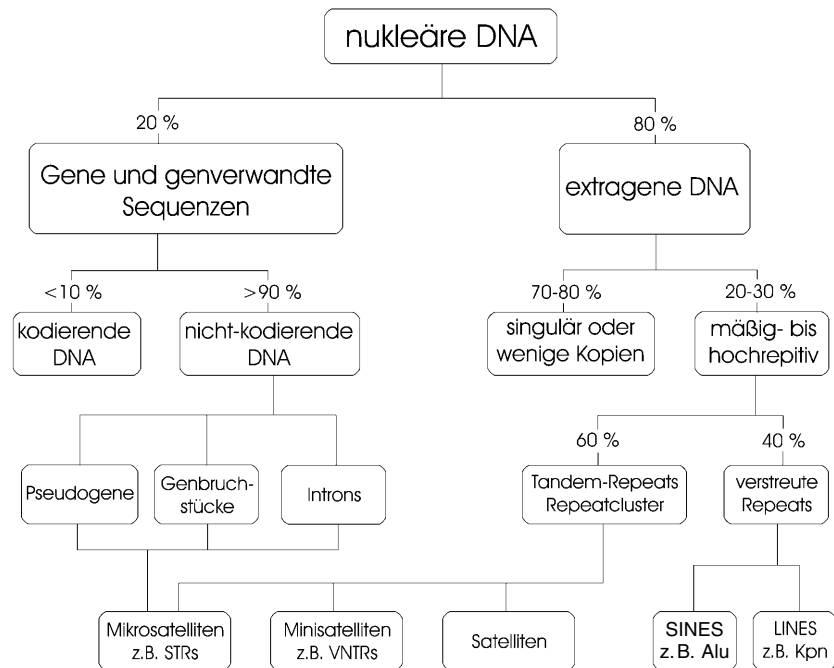
Heute übliche DNA-Untersuchungen unter forensischem Aspekt orientieren fast ausschließlich auf den DNA-Anteil, der keine Genproduktinformation trägt. Er ist in seinen Zielsequenzen methodisch relativ leicht zu fassen und aus biologischen Gründen hoch informativ. Überdies wird damit einer politischen Forderung, die gesetzlich angeordneten Untersuchungen mögen sog. Überschussinformationen (Erkenntnisse über die DNA-Struktur, die für die gegebene Fragestellung nicht erforderlich sind) vermeiden, Rechnung getragen. Dass die Anfänge der Individualdiagnostik auf die Proteindifferenzierung des Blutes zurückgehen, ist in der unkomplizierten Zugänglichkeit des Blutes zu sehen, in seiner hohen Proteinkonzentration und der guten und spezifischen Abgrenzung der Proteine in Form von Rezeptoren auf der Zellmembran, als Enzyme innerhalb der Zelle oder als Eiweißkörper im Serum. Die proteinanalytischen Untersuchungen, die für Spurenkunde und Abstammungsbegutachtung methodisch different sind, werden bei den jeweiligen Kapiteln besprochen. Es ist jedoch zweckmäßig, schon hier auf die Grundlagen der DNA-Analytik einzugehen.

11.1.2.1

Das humane Kerngenom

Das humane Genom ist wie das aller Eukaryoten hoch komplex aufgebaut. Das Kerngenom – im Zellplasma befindet sich das Genom der Mitochondrien – besteht aus etwa 3,5 Mrd. Basenpaaren im haploiden Satz mit etwa 35 000 bis 40 000 Genen [279]. Etwa 30% des Gesamtgenoms sind Gene bzw. genverwandte Sequenzen, der Rest ist DNA außerhalb der Gene. Die Abb. 11.1-1 zeigt die Verhältnisse im Überblick.

Abb. 11.1-1. Struktur des humanen Kerngenoms. (Mod. nach [279]) Erläuterungen im Text



Danach sind also nur 3% der Gesamt-DNA kodierende DNA, d.h. DNA, die in eine spezifische RNA übersetzt wird und die den Ausgangspunkt der Polypeptidinformation bildet.

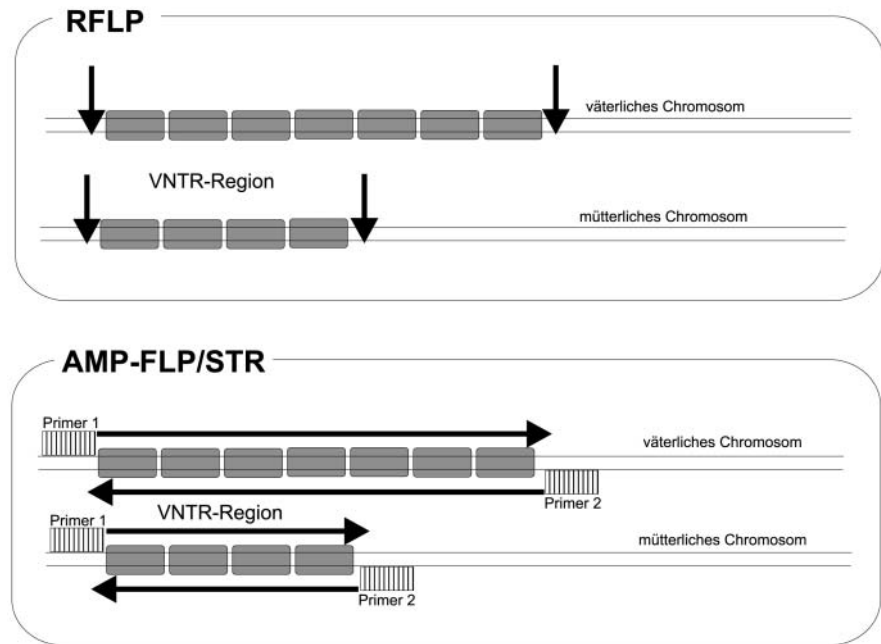
Die nichtkodierende DNA im Genbereich besteht aus sog. Pseudogenen, Genbruchstücken und Introns. Letztere sind Unterbrechungen der kodierenden Gensequenz. Ihre Information wird zwar transkribiert, aber aus dem primären RNA-Transkript herausgeschnitten und die verbliebenen Abschnitte werden miteinander verbunden (Spleißen der DNA). Intronsequenzen enthalten einen Teil der repetitiven DNA, die später die Bezeichnung Mikrosatelliten erhielt. Der Einfachheit halber bekamen die informationstragenden Abschnitte die Bezeichnung *Exons*. Der überwiegende Anteil der extragenetischen DNA zeigt singuläre oder in wenigen Kopien vorhandene DNA-Sequenzen und zum kleineren Teil mittel- bis hochrepetitive Sequenzen. Diese sind offenbar nicht Folge eines ungleichen „crossing-over“, sondern eines sog. „polymerase slippage“ [97]. Bei den letzteren Sequenzen finden sich die sog. Satelliten- und Minisatelliten-DNA und zum Teil auch Sequenzen im Sinne der oben genannten Mikrosatelliten. SINE („short interspersed nuclear elements“) sind kurze (bis 500 Bp) Elemente, die etwa 5% des humanen Genoms umfassen. Zu ihnen gehört die Alu-Familie, die durch primatenspezifische, im Genom verstreut liegende Wiederholungseinheiten von etwa 300 Bp gekennzeichnet ist. LINE („long interspersed nuclear elements“) sind lange, über 500 Bp (Basenpaare) messende Repeats, die 1–2% des humanen Genoms ausmachen. Zu ihnen zählt die Kpn-Familie. Die Bezeichnungen

Alu und Kpn beziehen sich auf die entsprechenden Restriktionsendonukleasen, die zuerst zur Sequenzcharakterisierung eingesetzt wurden.

Die Bezeichnung *Satelliten-DNA* hat historische Gründe. Bei der Präparation der DNA mittels Dichtegradientenzentrifugation hob sich eine Fraktion durch ihre Basenkomposition (Überwiegen von GC) deutlich vom Hauptanteil ab und bildete verschiedene kleine Nebenbanden, die als Satelliten bezeichnet wurden. Die Gesamtheit der Satelliten-DNA hat im Chromosom eine charakteristische Lokalisation: Satelliten-DNA liegt im Centromer-, Minisatelliten-DNA im Telomerbereich. Mikrosatelliten sind über das gesamte Genom verteilt. Als Satelliten bezeichnete DNA-Abschnitte spielen in der forensischen Serologie keine Rolle. Bestimmte Kernsequenzen sind bis zu einigen Tausend Basenpaare (Bp) lang und werden tausendfach repetiert. Es gibt innerhalb eines Chromosoms nur etwa 1–2 derartige Loci, die Systeme entziehen sich einer praktikablen Darstellbarkeit, ihr Polymorphiegrad ist sehr hoch. Als Minisatelliten werden DNA-Bereiche bezeichnet, bei denen Kernsequenzen von 9–100 Bp hintereinander geschaltet sind (z.B. im System D12S11 [MS43a] mit 45 Bp) und die theoretisch mehrere tausend Wiederholungen („repeats“) bilden können. Die Repeatfrequenz ist individualspezifisch. Diese Eigenschaft der DNA wurde treffend mit dem Terminus „variable number of tandem repeats“ (VNTR) beschrieben, der später auch für die Mikrosatelliten-DNA verwendet wurde. Pro Genom existieren mehr als tausend Minisatelliten-Loci.

Mikrosatelliten-DNA ist durch kurze Wiederholungseinheiten mit einer Länge von 2–7 Bp ge-

Abb. 11.1-2. Schematische Minisatelliten(RFLP)-Darstellung (*oben*) und AmpFLP- u. STR-Darstellung (*unten*). Die Pfeile geben bei den RFLP die Restriktionsorte und bei den AmpFLP und STR die Syntheserichtung der PCR an. (Mod. nach [105])



kennzeichnet, die eine max. Repeathäufigkeit von 100 aufweisen (z.B. im System TH01 mit 6- bis 10-maliger Wiederholung eines Tetranukleotids). Im forensischen Sprachgebrauch hat sich für die repetitiven Sequenzen der Mikrosatelliten-DNA noch die Bezeichnung „*short tandem repeats*“ (STR) durchgesetzt, die aus diesen praktikabel nachweisbaren Repeatgrößen resultiert. Wahrscheinlich gibt es mehrere Hunderttausend Mikrosatelliten-Loci im humanen Genom. Der Mini- und besonders der Mikrosatelliten-DNA gilt mit wenigen Ausnahmen das forensische Interesse. Wegen der definierten Fragmentgrößen, die individualspezifisch angelegt und durch Restriktion oder PCR realisiert werden, können hoch diskriminierende Darstellungen erzielt werden (Abb. 11.1-2).

Jeffreys, der bei der Entzifferung der Basenfolge einer Intronsequenz des humanen Myoglobins repetitive Sequenzen entdeckte und diese als Minisatelliten bezeichnete, prägte auch den Begriff des „*genetischen Fingerabdrucks*“, indem er das Verfahren, restringierte DNA nach Elektrophorese über Sondenmarkierung als Linienmuster sichtbar zu machen, „DNA-Fingerprinting“ nannte [121]. Ein Fingerabdruck im herkömmlichen Sinne ist ein Stempelbild. Stempelbilder sind stempelspezifisch, wie Fingerabdrücke des Menschen individualspezifisch sind. Der Begriff des *genetischen Fingerabdrucks* ist dagegen eine Metapher. Er umschreibt einen erkennbar gemachten, ein Individuum kennzeichnenden und ihn von anderen Individuen abgrenzenden Teil seiner genetischen Heterogenität. Heute gilt im allgemeinen Sprachgebrauch das Ergebnis jeglicher DNA-analytischen Untersuchung

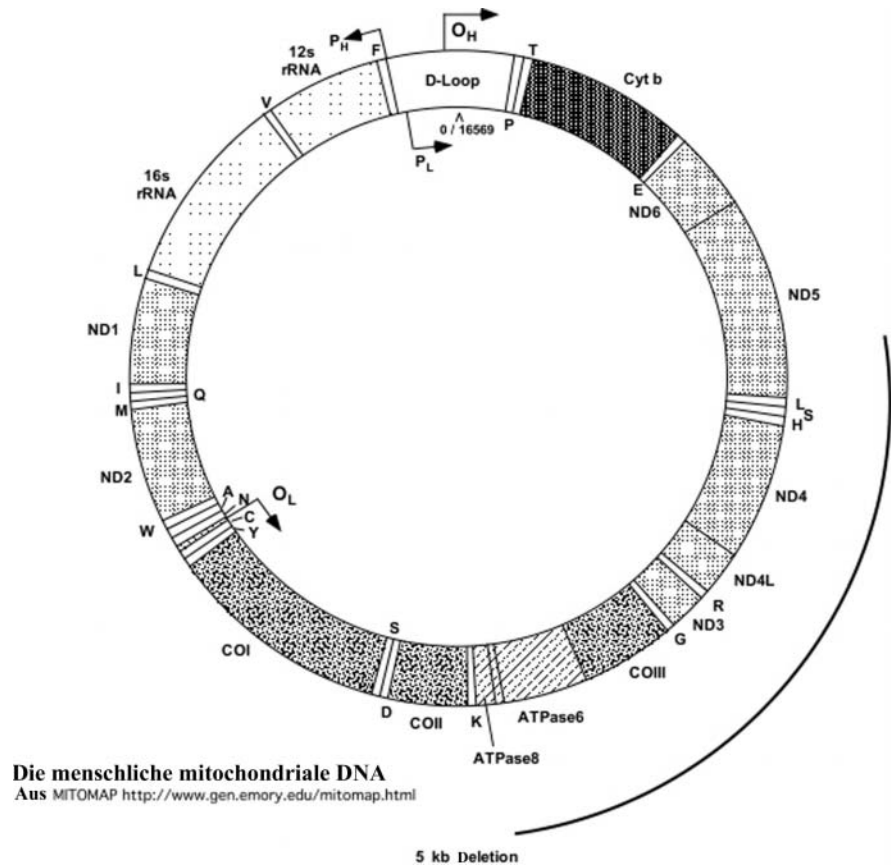
zum Zwecke der Individualzuordnung als genetischer Fingerabdruck. Synonym gebraucht wird die Bezeichnung des individualspezifischen DNA-Profiles.

11.1.2.2 Das mitochondriale Genom

Mitochondrien sind Zellorganellen. Sie kommen in nahezu allen tierischen und pflanzlichen Zellen vor. Sie verfügen über eine eigene DNA (mtDNA), die Ähnlichkeiten mit bakterieller DNA hat und die sich unabhängig von der kerngenomischen DNA eigenständig vermehrt. Diese Tatsache hat zur heute kaum noch widersprochenen Hypothese geführt, dass Mitochondrien entwicklungsgeschichtlich frühe bakterielle Endosymbionten eukaryoter Zellen sind [173]. Das humane mitochondriale Genom ist inzwischen komplett sequenziert. Es besteht aus einer zirkulären, doppelsträngigen (H- und L- Strang) DNA und ist mit 16 569 Bp vergleichsweise klein [9]. Menschliche Zellen verfügen über unterschiedlich viele Mitochondrien, ihre Zahl reicht von etwa 50 (Spermien) bis zu etwa 10.000 (Eizellen). Jedes Mitochondrium kann überdies mehrere DNA-Moleküle enthalten. Diese DNA-Moleküle sind innerhalb unterschiedlicher Gewebe derselben Person weitgehend identisch. Eine schematische Übersicht über den Aufbau der mtDNA zeigt die Abb. 11.1-3.

Das mitochondriale Genom des Menschen umfasst 37 Gene. Davon liegen 28 auf dem schweren und 9 auf dem leichten Strang. Bei den Genprodukten handelt es sich um 13 Polypeptidkomponenten, die durch mitochondriale Ribosomen synthetisiert

Abb. 11.1-3. Struktur des mitochondrialen Genoms: A-Y tRNA der den Buchstaben entsprechenden Aminosäuren; ND 1-6 NADH-Dehydrogenase - Untereinheiten 1-6; CO I-III Cytochrom c Oxidase - Untereinheiten I-III; Cytb Cytochrom b; O_H H-Strang Replikationsursprung; O_L L-Strang Replikationsursprung; P_H H-Strang Promoter; P_L L-Strang Promoter



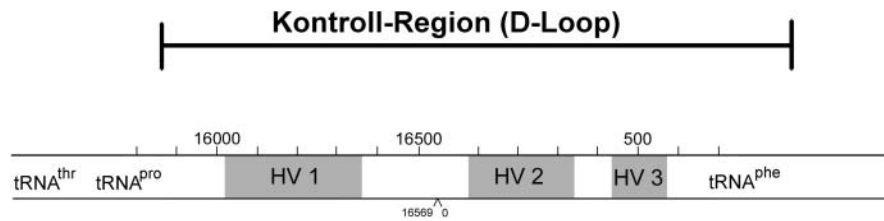
werden und die Bestandteile der an der inneren mitochondrialen Membran befindlichen Enzymkomplexe der Atmungskette sind. Diese 13 mtDNA-kodierten Peptide sind essentiell, da sie für die oxydative Phosphorylierung und damit zur ATP-Produktion nötig sind [300]. Alle übrigen benötigten Proteine sind im Zellkern kodiert und werden durch spezifische Signale in die Mitochondrien importiert [252]. Darüber hinaus kodiert die mtDNA für 2 ribosomale RNAs und einen vollständigen Satz von 22 Transfer-RNAs. Kennzeichnend für die mtDNA ist ihre monoklonale Natur. Dies erleichtert die Sequenzierung erheblich, da es im Gegensatz zur Sequenzierung chromosomaler DNA nicht erforderlich ist, zuvor unterschiedliche Allele voneinander zu trennen.

Begründet ist dieses Faktum durch die rein matrilineare, nicht den Mendelschen Regeln folgende Weitergabe der mtDNA mit der Eizelle. Während und kurz nach der Befruchtung kommt es zu einer aktiven Beseitigung paternaler Mitochondrien. Diese Vererbungsform macht die mitochondriale DNA für anthropologische Vererbungsstudien besonders interessant, da Verwandtschaftsverhältnisse über viele Generationen hinweg überprüfbar werden.

Es wurde eingangs darauf hingewiesen, dass das relativ kleine mtDNA-Genom 37 Gene umfasst und

damit zum größten Teil (ca. 93%) aus kodierenden und damit bezüglich der Individualdifferenzierung wenig informativen Sequenzen besteht. Die Gene weisen keine Introns auf, sie sind dicht gepackt und einige überlappen ein wenig. Der wesentlichste nichtkodierende mtDNA-Bereich befindet sich in der Kontrollregion, und zwar im sog. Displacement(D)-Loop. Hier bildet sich dadurch, dass zusätzlich ein kurzes Stück vom H-Strang der DNA synthetisiert wird und am L-Strang gebunden bleibt, eine dreisträngige DNA durch Verdrängung des parental H-Stranges aus. In der Kontrollregion liegen auch die Sequenzen für den Replikationsursprung des H-Stranges. Hier ist der Anfang der numerischen Nomenklatur aller mitochondrialen Basenpaare festgelegt. Die Replikation endet nach Durchlauf der gesamten Sequenz im Uhrzeigersinn mit dem Basenpaar 16 569 wiederum am selben Punkt. In der D-Loop-Region liegen je 2 Bereiche mit großer Sequenzvariabilität: die hypervariable Region 1 (HV1) zwischen den Positionen 16024 und 16356 [9] und die hypervariable Region 2 (HV2) zwischen den Positionen 73 und 340 [83]. Eine dritte Region etwas geringerer Variabilität (HV3) stellt sich im Bereich 438-574 dar [170]. Die Abb. 11.1-4 zeigt eine schematische Übersicht über die Kontrollregion.

Abb. 11.1-4. Schematische Übersicht über die Kontrollregion der mitochondrialen DNA. Dargestellt sind die hypervariablen Regionen HV1, HV2 und HV3 in Bezug auf ihre Positionen im mitochondrialen Genom



Die von Anderson et al. festgestellte mtDNA-Sequenz, die den Namen Anderson-Sequenz trägt, dient als Bezugsgröße für alle nachfolgenden Sequenzierungen. Mutationen werden so als Basendifferenzen von der Anderson-Sequenz an den ermittelten Basenorten charakterisiert.

Mutationen können sich praktisch nur in diesen nichtkodierenden Bereichen durchsetzen, da Veränderungen des kodierenden Bereiches fast zwangsläufig zu relevanten Erkrankungen des Trägers oder zum Funktionsverlust des Mitochondriums mit Lebensunfähigkeit führen dürften. Durch Punktmutationen hervorgerufene Sequenzabweichungen innerhalb eines Individuums werden als Heteroplasmien bezeichnet [318]. Diese können sowohl zwischen unterschiedlichen Mitochondrien auftreten als auch, bedingt durch das Vorhandensein mehrerer mtDNA-Moleküle innerhalb derselben Organelle, im Einzelmitochondrium.

Heteroplasmien sind Raritäten. Sie äußern sich in der Sequenz durch eine Überlagerung zweier unterschiedlicher Peaks und sind damit nur schwer von einer Kontamination durch eine ähnliche Sequenz zu unterscheiden. Die mitochondriale DNA-Heterogenität lässt sich *informativ* nur durch Sequenzierung fassen.

11.1.2.3 Formalgenetik

Wie schon in Unterkap. 11.1.2 „Biologische Grundlagen“ ausgeführt wurde, ist die genetische Heterogenität die Grundvoraussetzung der forensischen Serologie. Die Basis der Unterscheidbarkeit von Individuen sind die polymorphen Stellen des Genoms, die Genorte. Hierbei ist Polymorphismus definiert nach Ford [75] als

das gemeinsame Vorkommen von zwei oder mehr diskontinuierlichen Formen oder „Phasen“ einer Spezies in derselben Population in solchen anteiligen Häufigkeiten, dass deren seltenste nicht allein durch wiederkehrende Mutation aufrecht erhalten werden kann.

Für die rein formalgenetischen Betrachtungen ist es völlig bedeutungslos, ob die unterschiedlichen Ausprägungen, Allele, eines Genortes im kodierenden oder nichtkodierenden Bereich des Genoms liegen. Von herausragender Bedeutung für die Formalgene-

tik eines Systems ist jedoch die jeweilige Darstellungstechnologie, da durch sie die Anzahl unterscheidbarer Phänotypen, Genotypen und Allele gegeben ist.

Formal ist ein polymorpher Genort L auf gametischer Ebene definiert durch die nachweisbaren Allele $*a_i$, die an diesem Genort durch direkte Bestimmung oder über die Genprodukte erkennbar sind. Der Mensch als diploider Organismus hat von jedem Autosom ein maternales und ein paternales Exemplar (sowie ein maternales X-Chromosom und ein paternales X- oder Y-Chromosom). Folglich besitzt er an einem Genort L ein paternales Allel $*a_i$ und ein maternales Allel $*a_j$. Diese beiden Allele $*a_i, *a_j$ werden als sein Genotyp $(*a_i/*a_j)$ am Genort L bezeichnet.

Hat ein Individuum von beiden Eltern das gleiche Allel $*a_i$ geerbt, so wird sein Genotyp $(*a_i/*a_i)$ als homozygot bezeichnet, ein Genotyp $(*a_i/*a_j)$ mit ungleichen Allelen wird als heterozygot bezeichnet.

Abhängig von der Nachweisteknik lassen sich die unterschiedlichen Genotypen eines polymorphen Systems in ihrer Darstellung als Phänotypen nicht immer unterscheiden. Falls der Phänotyp $Ph(*a_i/*a_j)$ eines heterozygoten Genotyps identisch ist mit dem Phänotyp $Ph(*a_i/*a_i)$ eines zugehörigen homozygoten Genotyps so wird das Allel $*a_i$ als dominant zu $*a_j$ und das Allel $*a_j$ als rezessiv zu $*a_i$ bezeichnet. Falls für zwei Allele $*a_i$ und $*a_j$ die Phänotypen der beiden homozygoten und des heterozygoten Genotyps, $Ph(*a_i/*a_i)$, $Ph(*a_j/*a_j)$, $Ph(*a_i/*a_j)$ jeweils unterschiedlich sind, so werden $*a_i$ und $*a_j$ als kodominant bezeichnet.

Beispiel: Bei dem 1900/1901 von Landsteiner [153] definierten ABO-Blutgruppensystem waren ursprünglich die 3 Allele $*A$, $*B$, $*0$ bekannt, wobei $*A$ dominant zu $*0$ war, da der Genotyp $*A/*0$ nicht vom Genotyp $*A/*A$ unterschieden werden konnte, während die Allele $*A$ und $*B$ sich kodominant verhielten, da der heterozygote Typ $*A/*B$ mit der gegebenen Bestimmungstechnologie sich sowohl vom Typ $*A/*A$ (Phänotyp A) als auch vom Typ $*B/*B$ (Phänotyp B) unterschied. Durch Verfeinerung der Nachweisteknik konnte das ursprüngliche Allel $*A$ in die Allele $*A_1$ und $*A_2$ untergliedert (gesplittet) werden. Somit ist das ABO-System formalgenetisch wie in der Tabelle 11.1-1 angegeben definiert.

Tabelle 11.1-1. Formalgenetisches Modell für das AB0-Blutgruppensystem

a) die 4 Allele:	$*A_1; *A_2; *B; *0$
b) die 10 Genotypen:	$*A_1/*A_1; *A_1/*A_2; *A_1/*B; *A_1/*0;$ $*A_2/*A_2; *A_2/*B; *A_2/*0; *B/*B;$ $*B/*0; *0/*0$
c) die 6 Phänotypen:	$A_1 \leftrightarrow *A_1/*A_1; *A_1/*A_2; *A_1/*0$ $A_2 \leftrightarrow *A_2/*A_2; *A_2/*0$ $B \leftrightarrow *B/*B; *B/*0$ $A_1B \leftrightarrow *A_1/*B$ $A_2B \leftrightarrow *A_2/*B$ $0 \leftrightarrow *0/*0$

Während sich die Anzahl verschiedener Genotypen k eines Systems L aus der Anzahl n unterschiedlicher Allele unmittelbar durch

$$k = \frac{n(n + 1)}{2}$$

berechnen lässt, ist die Anzahl unterscheidbarer Phänotypen von der Typisierungstechnik und den hierdurch gegebenen Dominanz-, Kodominanz- sowie Rezessivitätsrelationen abhängig. Die heute verwendeten DNA-Typisierungstechnologien definieren fast ausschließlich Systeme mit kodominanten Allelen, d.h. formalgenetisch die einfache Situation der *eindeutigen* Zuordnung zwischen Genotyp und Phänotyp.

11.1.2.4 Populationsgenetik

Die folgenden, einfachen populationsgenetischen Ausführungen liefern die elementare Beschreibung der als Wahrscheinlichkeiten interpretierten relativen Häufigkeiten in einer wohl definierten Population mit einer als unendlich groß angenommenen Grundgesamtheit.

Ausgehend von den in Unterkap. 11.1.2.3 definierten formalgenetischen Begriffen der Allele, Genotypen und Phänotypen werden in diesem Kapitel die zugehörigen Frequenzparameter und ihre gegenseitigen Abhängigkeiten erläutert. Ausgehend von der gametischen Ebene mit den Allelen $*a_i$ eines Genorts L wird mit $f(*a_i)$ bzw. f_i die zugehörige Genfrequenz (oft auch Allelfrequenz genannt) des entsprechenden Allels $*a_i$ in der gegebenen Population bezeichnet. Offensichtlich muss wie für alle Wahrscheinlichkeiten gelten:

$$\sum_{i=1}^n f_i = 1$$

Die Summe der Frequenzen aller Allele $*a_i$ eines Genorts L ist gleich Eins.

Wird in einem System ein Allel $*a_i$ unterteilt in 2 Subspezifitäten $*a_j$ und $*a_k$, so gilt unmittelbar

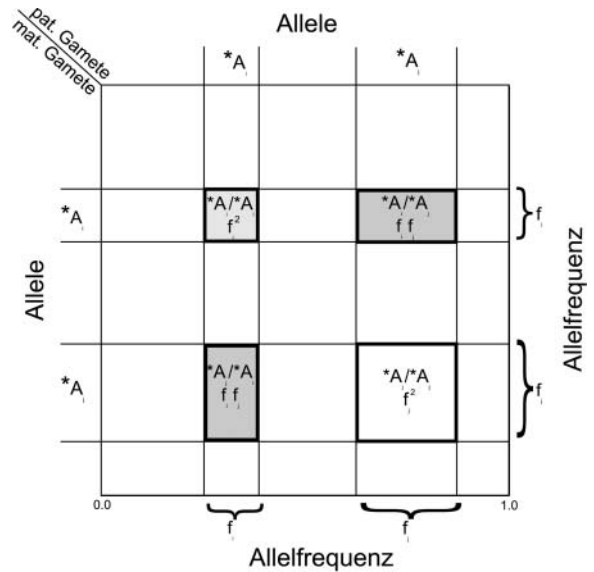


Abb. 11.1-5. Allelfrequenzen (Kantenlängen) und Genotypfrequenzen (Flächen) bei Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

$$f_j + f_k = f_i$$

Für das in 11.1.2.3 angegebene Beispiel aus dem AB0-System gilt bei Unterteilung von $*A$ in $*A_1$ und $*A_2$

$$f(*A_1) + f(*A_2) = f(*A)$$

Ohne zusätzliche Voraussetzungen kann die Genotypfrequenz $f_{i,j}$ eines Genotyps $*a_i/*a_j$ nicht direkt aus den Genfrequenzen f_i und f_j der enthaltenen Allele berechnet werden. Nimmt man jedoch an, dass die Vereinigung von Gameten bezüglich des betrachteten Polymorphismus L unabhängig von den enthaltenen Allelen ist, so gilt das Hardy-Weinberg-Gesetz [98, 307] mit den folgenden Beziehungen für homozygote bzw. heterozygote Genotypen:

a) $f(*a_i/*a_i) = f_{i,i} = f(a_i)^2 = f_i^2$

Die Frequenz eines homozygoten Genotyps $*a_i/*a_i$ ist gleich dem Quadrat der entsprechenden Genfrequenz f_i^2 .

b) $f(a_i/a_j) = f_{i,j} = 2 f(*a_i)f(*a_j) = 2 f_i f_j$

Die Frequenz eines heterozygoten Genotyps $*a_i/*a_j$ ist gleich zweimal dem Produkt der entsprechenden Genfrequenzen $2 f_i f_j$.

Eine Population, in der diese Beziehungen zwischen Genfrequenzen f_i und Genotypfrequenzen $f_{i,j}$ gegeben ist, befindet sich (bezüglich des betrachteten Polymorphismus L) im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Abb. 11.1-5). Voraussetzungen, die

zum Gleichgewichtszustand in einer Population führen, sind genügend große Populationen, Panmixie (vollständige Durchmischung), zufällige Partnerwahl („random mating“) und das Fehlen von Mutationen. Abweichungen vom Gleichgewichtszustand können unter anderem durch Selektionsprozesse, „genetic drift“ oder „migration“ verursacht werden, die zu einer Substrukturierung der Gesamtpopulation in mehrere Teilpopulationen führen.

Für die in der forensischen Serologie verwendeten Polymorphismen, insbesondere die im nicht-kodierenden Bereich des Genoms, kann das Vorliegen von Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zwar angenommen werden, muss aber immer auf der Basis genügend großer Stichproben statistisch gesichert werden.

Die Beziehung zwischen Genotyp- und Phänotypfrequenzen lässt sich unmittelbar angeben. Wie in Unterkap. 11.1.2.3 dargestellt, entspricht jeder Phänotyp eindeutig entweder genau einem Genotyp (bei Kodominanz der Allele) oder ist die Zusammenfassung mehrerer verschiedener Genotypen (abhängig von den Dominanzrelationen). Folglich ist die Phänotypfrequenz immer gleich der Summe der Frequenzen aller in diesem Phänotyp enthaltenen Genotypen. So ist z. B. die Phänotypfrequenz der Blutgruppe A_1

$$f(A_1) = f(*A_1/*A_1) + f(*A_1/*A_2) + f(*A_1/*0)$$

gleich der Summe der entsprechenden Genotypfrequenzen und bei Vorliegen von Hardy-Weinberg-Gleichgewicht lassen sich diese durch die gametischen Genfrequenzen ausdrücken als

$$f(A_1) = f(*A_1)^2 + 2f(*A_1)f(*A_2) + 2f(*A_2)f(*0)$$

Das gesamte populationsgenetische Modell für das AB0-Blutgruppensystem lässt sich, wie in der Tabelle 11.1-2 aufgezeigt, darstellen.

Die Basis aller populationsgenetischen Betrachtungen ist die Kenntnis der gametischen Genfrequenzen. Diese müssen aus genügend großen Stichproben nichtverwandter, typisierter Individuen einer definierten Population geschätzt werden. Die elementarste (und beste) Schätzmethode ist das direkte Auszählen der unterschiedlichen Allele bei den $2N$ -Gameten einer Stichprobe von N Individuen und die Verwendung der relativen Häufigkeiten als Schätzwerte für die unbekanntes Genfrequenzen. Dieses als „gene counting“ bekannte Vorgehen ist jedoch in unmittelbarer Form nur bei Systemen mit ausschließlich kodominanten Allelen möglich. Bei den komplexeren Systemen mit Dominanzrelationen wird auf die iterativen Maximum-Likelihood-Verfahren unter Verwendung von EM-Algorithmen verwiesen, wie sie erstmalig von Cepellini et al. [45] zur Schätzung der Frequenzen des

Tabelle 11.1-2. Formalgenetisches und populationsgenetisches Modell des AB0-Blutgruppensystems aus einer deutschen Populationsstichprobe

Allele	Gametische	Frequenzen
* A_1	$f(*A_1)$	= 0,217
* A_2	$f(*A_2)$	= 0,065
*B	$f(*B)$	= 0,098
*0	$f(*0)$	= 0,620
	Summe	= 1,000

Phänotypen	Genotypen	Genotyp/ Phänotyp	Frequenzen
A_1	* A_1 /* A_1	$f(*A_1)^2$	= 0,047
	* A_1 /* A_2	$2f(*A_1)f(*A_2)$	= 0,028
	* A_1 /*0	$2f(*A_1)f(*0)$	= 0,269
A_2	* A_2 /* A_2	$f(*A_2)^2$	= 0,004
	* A_2 /*0	$2f(*A_2)f(*0)$	= 0,080
B	*B/*B	$f(*B)^2$	= 0,010
	*B/*0	$2f(*B)f(*0)$	= 0,122
A_1B	* A_1 /*B	$2f(*A_1)f(*B)$	= 0,043
		$f(A_1B)$	= 0,043
A_2B	* A_2 /*B	$2f(*A_2)f(*B)$	= 0,013
		$f(A_2B)$	= 0,013
0	*0/*0	$f(*0)^2$	= 0,384
		$f(0)$	= 0,384
		Summe	= 1,000

AB0-Systems verwendet wurden. Bei Voraussetzung von Hardy-Weinberg-Gleichgewicht lässt sich die Frequenz eines rezessiven Allels aus der Frequenz des entsprechenden homozygoten Phänotyps schätzen nach der Beziehung

$$f(*a_i) = \sqrt{f(a_i/a_i)}$$

So muss unter der obigen Voraussetzung für die Blutgruppe 0 und das entsprechende Allel *0 gelten

$$f(*0) = \sqrt{f(0)}$$

Grundsätzlich ist jedoch von der Verwendung dieser Einzelschätzwerte abzuraten, da sie nicht notwendig zu einer konsistenten Schätzung aller Frequenzen (Summe gleich 1) führt. Nach erfolgter Schätzung der Genfrequenzen aus einer Stichprobe sollte immer das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes getestet werden. Hierzu werden die beobachteten Phänotypenhäufigkeiten in der Stichprobe verglichen mit den im Gleichgewichtszustand erwarteten Häufigkeiten und mittels einer entsprechenden Teststatistik (χ^2 -Test etc.) auf signifikante Abweichungen von der Nullhypothese des Gleichgewichtszustandes geprüft.

Für ausführliche Beschreibungen geeigneter Schätz- und Testverfahren wird auf die umfangreiche Literatur zur Populationsgenetik (z. B. [298]) verwiesen.

11.1.3

Methodische Grundlagen

11.1.3.1

DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion hat sich an der Spur bzw. an der zur Verfügung stehenden Probe zu orientieren. Es ist deshalb für spurekundliche und Paternitätsuntersuchungen jeweils ein unterschiedliches Verfahren zu wählen. In der Spurenkunde ist die DNA-Extraktion der schwierigste und aufwendigste Schritt, entsprechend viele Verfahren sind beschrieben worden. Praktikable Verfahren werden bei den jeweiligen Kapiteln aufgeführt.

11.1.3.2

DNA-Restriktion

Die DNA eines Einzelchromosoms kann im übertragenen Sinne als Makromolekül angesehen werden. Ein solches Molekül ist analytisch schwer handhabbar. Wichtigstes Werkzeug sind bakterielle Enzyme (Restriktionsendonukleasen), die die DNA-Sequenz basenspezifisch zerschneiden (verdauen) können. Evolutionärer Hintergrund der Existenz dieser Enzyme ist die Bakteriophagenabwehr. Die Restriktionsschnittstellen befinden sich wegen der Universalität des genetischen Codes auch im Eukaryontengenom. Durch Mutationen entstehen oder verschwinden Schnittorte, wodurch beim Verdau kleinere oder größere DNA-Abschnitte (Restriktionsfragmente) resultieren, die einer elektrophoretischen Charakterisierung zugänglich sind. Die Schnittstellen selbst weisen eine typische Struktur auf, deren Bezeichnung „*Palindrom*“ aus der Sprachwissenschaft entlehnt ist.

Palindrome sind Worte, die in beiden Richtungen gelesen einen identischen Sinn ergeben (z.B. Otto, Rentner). Für die DNA heißt das, dass die meist 4–8 Basenpaare betreffenden Sequenzen aufgrund der zweifachen Symmetrieachse auf beiden Strängen in 5' → 3'-Richtung übereinstimmen.

Bei einigen Enzymen liegen die Schnittstellen auf der Symmetrieachse, dann entstehen glatte Enden (z.B. Hae III), meist wird jedoch so geschnitten, dass die entstehenden Restriktionsfragmente 5' bzw. 3' überhängende Enden haben (z.B. Hinf I). Die beiden genannten Restriktionsenzyme sind die am häufigsten in der forensischen Serologie genutzten.

Die Abb. 11.1-6 zeigt die Schnittstellen, die durch die genannten Enzyme gelegt werden. Die Häufigkeit der Schnittstellen ist von der Schnittortstruktur abhängig. Während Hae-III-Schnittstellen im Mittel alle 0,6 kB vorkommen sind es bei Hinf I ca. 7 kB. Weil die durch Mutation beeinflussten Verdauensequenzen repliziert und an die Nachkommen weitergegeben werden, entsteht ein genetischer

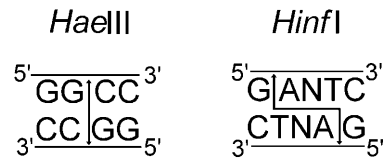


Abb. 11.1-6. Sequenzmotive der häufig verwendeten Restriktionsendonukleasen HinfI und HaeIII. Das N steht für eine beliebige Base bzw. deren komplementäre Base

Polymorphismus, der die Bezeichnung *Restriktionsfragment/längenpolymorphismus* (RFLP) erhalten hat. Diese Bezeichnung findet heute auch für die Systeme Verwendung, die im oben genannten Minisatellitenbereich angesiedelt sind und für deren Darstellung der tandemrepetitive Bereich des VNTR in seinem flankierenden Bereich aus der DNA ausgeschnitten und elektrophoretisch bewertet wird.

In der forensischen Praxis werden mit wenigen Ausnahmen nur tandemrepetitive Individualmerkmale genutzt. Bei den Minisatellitensystemen stehen die Kernsequenz selbst bzw. angrenzende Strukturen, an die die Sonde hybridisiert, für das System und die Repeathäufigkeit (die Fragmentgröße) für die Allelbezeichnung. Bei den STR repräsentiert die flankierende Sequenz, an die der Primer bindet, das System, die Repeathäufigkeit ist wiederum Kennzeichen des jeweiligen Allels.

Die Charakterisierung der Restriktionsfragmente und die Einschätzung, ob es sich bei zwei Fragmenten um identische oder nichtidentische handelt, ist im Kapitel der Abstammungsbegutachtung ausführlich dargestellt.

Das bisher genannte Untersuchungsprinzip ist für Fragestellungen geeignet, bei denen ausreichend Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht, z.B. bei der Paternitätsbegutachtung oder der Identifikation. Bei vielen spurekundlichen Fragestellungen reicht die aus der Spur extrahierbare DNA-Menge zunächst nicht aus, um ihre Individualmerkmale mit einer praktikablen Technik bewertbar zu machen. Hier hat die im Jahre 1985 durch Kary Mullis angegebene methodische Neuerung *Polymerase-Kettenreaktion* [245] einen Durchbruch gebracht.

11.1.3.3

Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (engl. PCR, „polymerase chain reaction“) ist ein automatisiertes In-vitro-Verfahren zur DNA-Vervielfältigung (Amplifikation) in einem definierten Bereich. Diese sog. „target region“ kann damit millionenfach vermehrt (amplifiziert) werden und steht dann z.B. einer gelelektrophoretischen Detektion zur Verfügung. Die PCR folgt dem natürlichen Prinzip der identischen Reduplikation, die z.B. jeder Zellteilung vorausgeht.

Der PCR-Zyklus beginnt mit der thermischen *Denaturierung* des zu amplifizierenden Doppelstranges. Es entstehen einzelsträngige DNA-Moleküle. Jeder durch Denaturierung eines Doppelstranges erzeugte DNA-Einzelstrang dient als Matrize („template“) zur Entwicklung des entsprechenden Komplementärstranges (*Synthese*). Werden die entstandenen Doppelstränge erneut getrennt (denaturiert), stehen 4 Einzelstränge zur Entwicklung der jeweiligen neuen Komplementärstränge zur Verfügung.

Die Synthese beginnt an einem Oligonukleotid als Startersequenz (Primer), das mit dem Einzelstrang hybridisiert („annealing“), und verläuft in 5'-3'-Richtung, sofern die Reaktionspartner in Form einer spezifischen Polymerase, Desoxynukleosidtriphosphaten (aktive Form der Basen Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin) und $MgCl_2$ -haltigen Puffers im Ansatz vorhanden sind.

Die ersten Amplifikationsprodukte haben noch keine definierte Länge. Aus Gründen der Leistungsfähigkeit der Polymerase und der Konformationsstabilität des DNA-Stranges *in vitro* bricht jedoch die Synthese bei einer bestimmten Stranglänge ab. Das ist zunächst für die spurenkundlichen Untersuchungen unproblematisch, da sie aus Gründen der Degradationswahrscheinlichkeit ohnehin auf kurze Sequenzen (STR) orientieren.

Fügt man einen zweiten Primer ein, der von der Struktur so gewählt ist, dass er zusammen mit dem ersten Primer die zu amplifizierende Zielsequenz des Doppelstranges flankiert, jedoch an den Komplementärstrang hybridisiert, werden im Überschuss nur noch die DNA-Anteile amplifiziert, die aus den Primerregionen und dem flankierten DNA-Abschnitt bestehen. So entsteht aus jedem Einzelstrang ein Doppelstrang allein im interessierenden flankierten Bereich. Die anfangs synthetisierten längeren Amplifikationsprodukte werden zwar weiter amplifiziert, jedoch nur linear, während die erwünschten flankierten Bereiche exponentiell vervielfältigt werden. Es wird erkennbar, dass jeder Vervielfältigungsschritt die Einzelvorgänge Denaturierung, Primeranlagerung („annealing“) und Synthese einschließt.

Durch die Verfügbarkeit einer thermostabilen Polymerase (z.B. Taq-Polymerase vom Bakterium *Thermus aquaticus*, das im heißen Wasser lebt) kann die PCR automatisiert werden. Elektronisch gesteuerte sog. „Thermocycler“ bieten die jeweiligen thermischen Reaktionsoptima: z.B. 95 °C für die Denaturierung, 60 °C für das Primer-Annealing und 70 °C für die Synthese. Das Prinzip der PCR ist in der Abb. 11.1-7 angegeben.

Der Amplifikationserfolg ist mit dem mathematischen Ausdruck $(2^n)a$ beschreibbar, wobei n die Anzahl der Vermehrungszyklen und a die Anzahl der Kopien der ursprünglichen DNA-Matrize angeben. Diese Formel berücksichtigt nicht die Produkte des ersten und zweiten Vermehrungszyklus, deren Länge nicht definiert ist. Sollen diese berück-

sichtigt werden, ändert sich die Formel auf $(2^n - 2n)a$.

Aus einem doppelsträngigen Ausgangsmolekül oder einem degradationsbedingten Molekülteil können also nach 30 Zyklen theoretisch ca. 1 Mrd. Kopien entstanden sein, sofern die Ausbeute 100% beträgt. Das wird in der Praxis nicht erreicht. Aber auch eine Ausbeute von nur 1% oder gar 0,1% gestattet die Visualisierung des Amplifikationsproduktes durch einfache Silberimprägnierung nach elektrophoretischer Trennung [41]. Für die forensische Serologie werden heute fast ausschließlich die sog. „short tandem repeats“ (STR) und – mit abnehmender Bedeutung – die relativ kurzen und daher amplifizierbaren Fragmentlängenpolymorphismen (AmpFLP) eingesetzt. Wichtige Details sind ein sorgfältiges Primerdesign, eine leistungsfähige elektrophoretische Trenntechnik zur Charakterisierung der PCR-Produkte und die Beachtung von Sequenzbesonderheiten innerhalb der repetitiven Sequenz, die eine Strukturaufklärung (Sequenzierung) des Allels erforderlich machen können. Trotz Systemoptimierung können PCR-Artefakte auftreten, die im Wesentlichen aus Polymerasefehlern und beeinträchtigter Qualität der Template-DNA resultieren. Zu den Polymerasefehlern zählen Basensubstitutionen und Leserasterverschiebungen, ferner sog. Slippage-Banden. Hierbei werden um ein Repeat verkürzte „Schattenbanden“ detektiert, was bei Mischspuren mit ungleichgewichtigen Bestandteilen problematisch sein kann. Unzureichende Spurenqualität führt zur PCR-Hemmung, was zur DNA-Aufreinigung zwingt, oder zu einem Vielbandenmuster, wie es auch bei Kontamination auftritt. Auf spezielle Probleme wird bei der Besprechung der Einzelsysteme eingegangen.

Charakterisierung der PCR-Produkte

Um den Amplifikationserfolg abschätzen zu können, bedient man sich zweckmäßig der niedrigauflösenden horizontalen Polyacrylamidgelelektrophorese. Die Größe der Amplifikationsprodukte kann zusätzlich durch das Mitführen einer 100-Bp-Leiter abgeschätzt werden. Nach dem Ende der elektrophoretischen Trennung, das durch eine Bromphenolblaupassage erkannt wird, wird das Gel einer Silberfärbung [41] unterzogen. Der Erfolg der Amplifikation bemisst sich meist am Vorhandensein einer systemspezifisch lokalisierten Einzelbande. Ist die Amplifikation effizient gewesen, erfolgt die herkömmliche elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte im hochauflösenden diskontinuierlichen Polyacrylamidgel, das sich in seiner speziellen Zusammensetzung am jeweiligen STR zu orientieren hat. Die Visualisierung der Elektropherogramme erfolgt wiederum durch Silberfärbung [41]. Die Zuordnung der Amplifikationsprodukte zu definierten Allelen geschieht im Seit-zu-Seit-Vergleich mit einer mitgeführten Probe, die eine Komposition

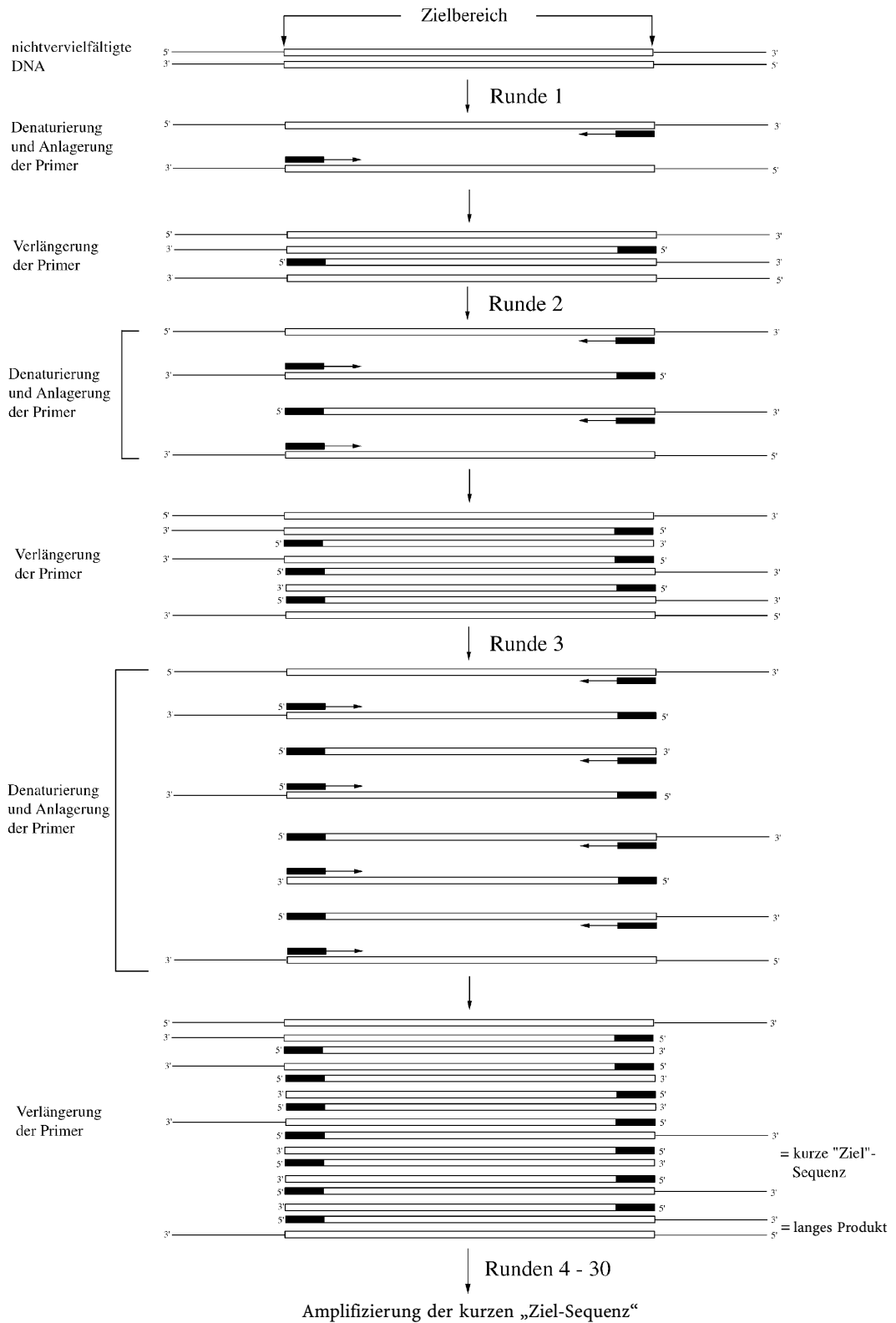


Abb. 11.1-7. Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Erläuterungen im Text. (Mod. nach [194])

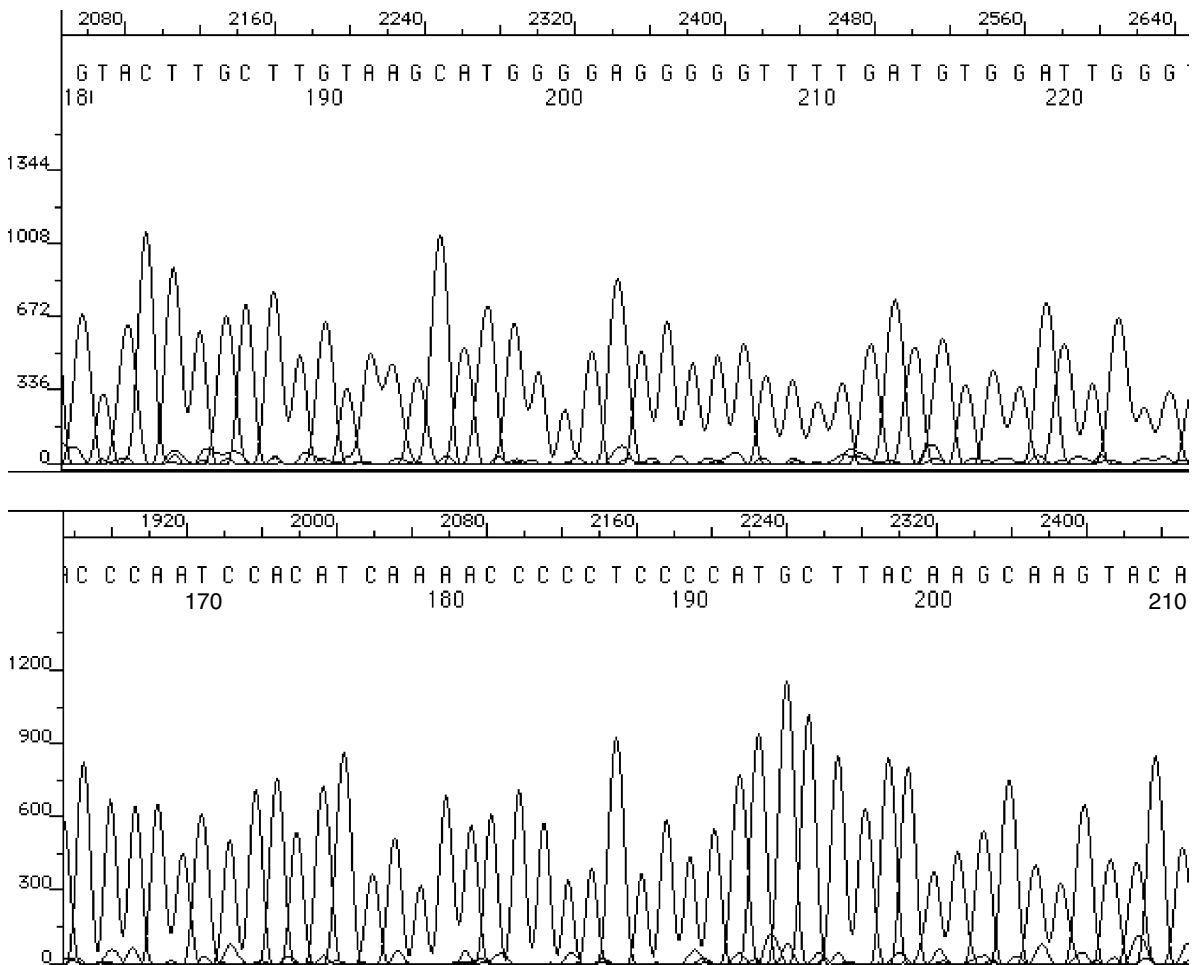


Abb. 11.1-8. Sequenzierung der mitochondrialen DNA in der HV2 (Ausschnitt von den Basenpaaren 290–330). *Oben*: Sequenz des H-Stranges; *unten*: Sequenz des L-Stranges

der häufigen Allele einer jeweiligen Population darstellt (allelische Leiter). Moderne Verfahren beruhen auf der Kombination aus Elektrophorese und automatisierter Fragmentanalyse mittels fluoreszenzmarkierter Primer sowie Lasertechnologie. Die Elektrophorese kann wiederum im Gel erfolgen (z. B. DNA-Sequencer 373, PE Applied Biosystems; A.L.F.- DNA-Sequencer, Pharmacia) oder in einer Kapillare (ABI Prism Genetic Analyser 310, PE Applied Biosystems), die mit einem spezifischen Polymer als Elektrophoreseträger gefüllt ist.

Insbesondere die Kapillarelektrophorese ist komfortabel, da weitgehend automatisiert. Computergesteuert wird das Polymer in die Kapillare eingefüllt, die Probe aufgenommen, aufgetrennt und ausgewertet. Beim ABI Prism Genetic Analyser 310 können 48 bzw. 96 Proben bereitgestellt und ausgewertet werden, ohne dass in das Programm eingegriffen werden muss. Mit dem Wegfall der Gelherstellung entfällt eine mögliche Fehlerquelle.

11.1.3.4 Sequenzierung

Die Sequenzierung ist das unerlässliche Instrumentarium zur Erfassung der mitochondrialen Heterogenität. Die mitochondrialen Sequenzen werden in naher Zukunft eine große Bedeutung für die forensische Spurenkunde und Identifizierung haben, ihre Erfassung und Bewertung ist aber noch weitgehend in der Erprobungsphase. Im Spurenkapitel sind die methodischen Aspekte der Nutzung der mitochondrialen Heterogenität und ihre Bedeutung für die Individualzuordnung aufgeführt. Die Sequenzierung ist aber auch zur Charakterisierung z. B. der STR-Allele unerlässlich, bevor ein neues System etabliert wird bzw. zur Schaffung einer definierten allelischen Leiter. Im Folgenden wird die Sequenzierungsmethode nach Sanger [248] exemplarisch vorgestellt:

Das Prinzip dieser Sequenzierung und die PCR haben dieselbe Grundlage, beide Methoden ver-

te Magnetkügelchen (z. B. Dynabeads Streptavidin) gebunden. Nach dem Herauswaschen überschüssiger Nukleotide, Primer und so weiter wird die DNA denaturiert, sodass die reinen einzelsträngigen DNA-Moleküle mittels Magnet abgetrennt werden können. Unter Einsatz des Gegenprimers wird anschließend die Sequenzierung an die Oberfläche gekoppelten Template durchgeführt. Störende Nukleotide und Primer können ausgewaschen werden, das gewünschte markierte Sequenzierprodukt kann z. B. mit Formamid vom Gegenstrang abgetrennt und auf das Sequenziergel aufgetragen werden. Verwendet man für die 4 Ansätze unterschiedlich fluoreszenzmarkierte ddNTP, können alle Reaktionen in einem Ansatz ablaufen. Die Fragmente werden z. B. nach 25 Zyklen, bei denen genügend Abbruchfragmente gebildet wurden, in der Kapillarelektrophorese mittels Laserstrahl durch ihr unterschiedliches Signal differenziert und z. B. im Falle der Verwendung des ABI Prism 310 von Perkin Elmer mit dem zugehörigen Programm „Collection“, „Sequencing Analysis“ und „Sequence Navigator“ ausgewertet. Ein entsprechendes Ergebnis zeigt die Abb. 11.1-8 in einem Ausschnitt einer Sequenzierung einer mitochondrialen Struktur der HV2. Die Abb. 11.1-9 zeigt schematisch die herkömmliche Sequenzierung im Gel mit 4 separaten Ansätzen, die Abb. 11.1-10 die 9 sequenzierten Allele des Y-chromosomalen STR DYS 388.

Das spezielle methodische Vorgehen findet sich bei der Beschreibung der spurenkundlichen Praxis.

11.2 Forensische Spurenkunde

Im forensisch-medizinischen Sinne sind Spuren meist sehr kleine Antragsungen von Blut, Sekreten oder Gewebeteilen an Personen oder Sachen, die einen Rückschluss auf Opfer oder Täter oder auf einen Straftathergang gestatten können. Die Problematik der Auswertung ist durch unterschiedliche Lagerungsbedingungen und Lagerungszeiten gegeben, durch die geringe Substanzmenge und durch die geringen interindividuellen Differenzen innerhalb der biologischen Spuren im konventionellen Merkmalspektrum. Die vorliegende Abhandlung wird sich nach der Besprechung der historischen Entwicklung und der rechtlichen und methodischen Grundlagen an der Untersuchungsstrategie der forensisch-spurenkundlichen Praxis orientieren.

11.2.1 Historische Entwicklung

Die Spurenkunde ist zweifellos so alt wie forensische Fragestellungen allgemein. Ein Teil des auch heute noch relevanten spurenkundlichen Instrumentariums wurde im vorvergangenen Jahrhundert bzw. um die Jahrhundertwende erarbeitet. Der spe-

zifische Nachweis von Blut über eine Blutkristallreaktion wurde im Jahre 1853 durch Teichmann beschrieben. Die Katalasereaktivität des Blutes gab Schönbein 1863 an. Die noch heute gebräuchliche Benzidinreaktion, die Ausdruck der Pseudoperoxidasereaktivität des Hämoglobins ist, geht auf Adler u. Adler (1904) zurück. Die erwähnten Nachweise des Blutes sagen nichts über seine Herkunft aus. Daher war es ein entscheidender Fortschritt, als Uhlenhuth im Jahre 1901 ein Verfahren angab, das es gestattet, Blut von Mensch und Tier verlässlich zu unterscheiden [293]. Die Uhlenhuthsche Immunpräzipitationsreaktion war Methode der Wahl bis 1958; erst jetzt wurde durch Ouchterlony die radiale Immundiffusion zur Speziesdiagnostik eingeführt.

Etwa zeitgleich mit der Möglichkeit, Tier- von Menschenblut zu differenzieren, gelang es Landsteiner 1901 [153], über die Entdeckung der AB0-Blutgruppe erstmals auch interindividuelle Differenzen zu erfassen.

Die Entdeckung der Serumgruppen, die im Jahre 1955 mit der Beschreibung des genetischen Haptoglobin-Polymorphismus durch Smithies [271] begann, schaffte eine erhöhte spurenkundliche Information, was im Jahre 1963 durch Hopkinson et al. [111] mit den Enzymgruppen über die Entdeckung des genetischen Polymorphismus der sauren Erythrozytenphosphatase fortgesetzt wurde. Mehr noch als bei den Abstammungsuntersuchungen war für die forensische Spurenkunde die Einführung der DNA-Polymorphismen im Jahre 1985 ein Durchbruch (sowohl das DNA-Fingerprinting durch Jeffreys [121] als auch Erstbeschreibung der PCR durch Mullis [245]).

Die nächst Blut wichtigste Spurenkategorie ist Sperma. Der Nachweis von Spermien als spezifischem Spermaidikator ist sicher so alt wie Geschichte des Mikroskops. Orientierende Untersuchungen auf Sperma gehen in das Jahr 1950 zurück, in dem Walker [299] den spurenkundlichen Nachweis der sauren Prostataphosphatase im Ejakulat angab.

Spermamorphologische Untersuchungen zur Individualzuordnung anhand von Spermavergleichsproben wurden von Zeit zu Zeit ins Gespräch gebracht; die generelle Unbrauchbarkeit dieser Verfahren ist inzwischen wissenschaftlich belegt [167].

Die Möglichkeit, eine Spermaspur einem bestimmten Manne zuzuordnen, war zunächst eng an die Entdeckung der Blut-, Serum- und Enzymgruppen gebunden. Auch hier brachten DNA-analytische Untersuchungen einen entscheidenden methodischen Wandel. Individualzuordnungen gelingen sogar nach Vasektomie des Spurenlegers anhand der DNA aus im Spermaplasma befindlichen Deckepithelien und Leukozyten [305].

Für Speicheluntersuchungen gelten ähnliche Verhältnisse. Da die Amylase im Speichel ein weitgehend humanspezifisches Phänomen ist, konnte

schon relativ früh die Frage beantwortet werden, ob sich an einem Spurenträger menschlicher Speichel befindet [192]. Ein praktikables Untersuchungsverfahren wurde von Radam [228] angegeben. Für die Individualdiagnostik gelten die beim Sperma gemachten Aussagen.

Haare bzw. Haarfragmente und Fingernägel sind die häufigsten Gewebsspuren. Morphologische Haaruntersuchungen werden schon sehr lange durchgeführt, haben jedoch an Bedeutung verloren, nachdem aus Haarwurzeln DNA zur Individualdiagnostik gewonnen werden kann. Einen Durchbruch der Individualzuordnung auch telogener Haare lässt die Erfassung mitochondrialer Sequenzen erwarten. Nagelgewebe ist eine ausreichende Quelle für genomische DNA.

11.2.2 Rechtliche Grundlagen

Die Vornahme spurenkundlicher Untersuchungen im gerichtlichen Verfahren wird durch die Strafprozessordnung (StPO) geregelt. Sie wurde durch das „Gesetz zur Änderung der Strafprozessordnung“ (DNA-Identitätsfeststellungsgesetz) vom 07.09.1998 (§ 81g) erweitert, das am 11.09.1998 in Kraft getreten ist.

Körperliche Untersuchung des Beschuldigten

§§ § 81a StPO

- (1) Eine körperliche Untersuchung des Beschuldigten darf zur Feststellung von Tatsachen angeordnet werden, die für das Verfahren von Bedeutung sind. Zu diesem Zweck sind Entnahmen von Blutproben und andere körperliche Eingriffe, die von einem Arzt nach den Regeln der ärztlichen Kunst zu Untersuchungszwecken vorgenommen werden, ohne Einwilligung des Beschuldigten zulässig, wenn kein Nachteil für seine Gesundheit zu befürchten ist.
- (2) Die Anordnung steht dem Richter, bei Gefährdung des Untersuchungserfolges durch Verzögerung auch der Staatsanwaltschaft und ihren Hilfsbeamten (§ 152 des Gerichtsverfassungsgesetzes) zu.
- (3) Dem Beschuldigten entnommene Blutproben oder sonstige Körperzellen dürfen nur für Zwecke des der Entnahme zugrundeliegenden oder eines anderen anhängigen Strafverfahrens verwendet werden; sie sind unverzüglich zu vernichten, sofern sie hierfür nicht mehr erforderlich sind.

§§

Untersuchung anderer Personen

§§ § 81c StPO

- (1) Andere Personen als Beschuldigte dürfen, wenn sie als Zeugen in Betracht kommen, ohne ihre Einwilligung nur untersucht werden, soweit zur Erforschung der Wahrheit festgestellt werden muss, ob sich an ihrem Körper eine bestimmte Spur oder Folge einer Straftat befindet.
- (2) Bei anderen Personen als Beschuldigten sind Untersuchungen zur Feststellung der Abstammung und die Entnahme von Blutproben ohne Einwilligung des zu Untersuchenden zulässig, wenn kein Nachteil für seine Gesundheit zu befürchten und die Maßnahme zur Erforschung der Wahrheit unerlässlich ist. Die Untersuchungen und die Entnahme von Blutproben dürfen stets nur von einem Arzt vorgenommen werden.
- (3) Untersuchungen oder Entnahmen von Blutproben können aus den gleichen Gründen wie das Zeugnis verweigert werden. ...
- (4) Maßnahmen nach den Absätzen 1 und 2 sind unzulässig, wenn sie dem Betroffenen bei Würdigung aller Umstände nicht zugemutet werden können.
- (5) Die Anordnung steht dem Richter, bei Gefährdung des Untersuchungserfolges durch Verzögerung ... auch der Staatsanwaltschaft und ihren Hilfsbeamten (...) zu. § 81a Abs. 3 gilt entsprechend.

§§

DNA-Analyse

§§ § 81e StPO

- (1) An dem durch Maßnahmen nach § 81a Abs. 1 erlangten Material dürfen auch molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt werden, soweit sie zur Feststellung der Abstammung oder der Tatsache, ob aufgefundenes Spurenmaterial von dem Beschuldigten oder dem Verletzten stammt, erforderlich sind. Untersuchungen nach Satz 1 sind auch zulässig für entsprechende Fragestellungen an dem durch Maßnahmen nach § 81c erlangten Material. Feststellungen über andere als die in Satz 1 bezeichneten Tatsachen dürfen nicht erfolgen; hierauf gerichtete Untersuchungen sind unzulässig.
- (2) Nach Absatz 1 zulässige Untersuchungen dürfen auch an aufgefundener, sichergestelltem oder beschlagnahmtem Spurenmaterial durchgeführt werden. ...

§§

Anordnung und Durchführung der DNA-Analyse

§§

§ 81f StPO

- (1) Untersuchungen nach § 81e dürfen nur durch den Richter angeordnet werden. In der schriftlichen Anordnung ist der mit der Untersuchung zu beauftragende Sachverständige zu bestimmen.
- (2) Mit der Untersuchung nach § 81e sind Sachverständige zu beauftragen, die öffentlich bestellt oder nach dem Verpflichtungsgesetz verpflichtet oder Amtsträger sind, die der ermittelnden Behörde nicht angehören oder einer Organisationseinheit dieser Behörde angehören, die von der ermittlungsführenden Dienststelle organisatorisch und sachlich getrennt ist. Diese haben durch technische und organisatorische Maßnahmen zu gewährleisten, dass unzulässige molekulargenetische Untersuchungen und unbefugte Kenntnisnahme Dritter ausgeschlossen sind. Dem Sachverständigen ist das Untersuchungsmaterial ohne Mitteilung des Namens, der Anschrift und des Geburtstages und -monats des Betroffenen zu übergeben. ...

§§

DNA-Identitätsfeststellung

§§

§ 81g StPO

- (1) Zum Zweck der Identitätsfeststellung in künftigen Strafverfahren dürfen dem Beschuldigten, der einer Straftat von erheblicher Bedeutung, insbesondere eines Verbrechens, eines Vergehens gegen die sexuelle Selbstbestimmung, einer gefährlichen Körperverletzung, eines Diebstahls in besonders schwerem Fall oder einer Erpressung verdächtig ist, Körperzellen entnommen und zur Feststellung des DNA-Identifizierungsmusters molekulargenetisch untersucht werden, wenn wegen der Art der Ausführung der Tat, der Persönlichkeit des Beschuldigten oder sonstiger Erkenntnisse Grund zu der Annahme besteht, dass gegen ihn künftig erneut Strafverfahren wegen einer der vorgenannten Straftaten zu führen sind.
- (2) Die entnommenen Körperzellen dürfen nur für die in Absatz 1 genannte molekulargenetische Untersuchung verwendet werden; sie sind unverzüglich zu vernichten, sobald sie hierfür nicht mehr erforderlich sind. Bei der Untersuchung dürfen andere Feststellungen als diejenigen, die zur Ermittlung des DNA-Identifizierungsmusters erforderlich sind, nicht getroffen werden; hierauf gerichtete Untersuchungen sind unzulässig.
- (3) § 81a Abs. 2 und § 81f gelten entsprechend.

§§

Die DNA-Identifizierungsdatei ist beim Bundeskriminalamt (BKA) eingerichtet worden. Die erforderliche gesetzliche Grundlage schuf das DNA-Feststellungsgesetz vom 07.09.1998 (BGBl I 2646). Die Speicherung der DNA-Identifizierungsmuster ist nach § 3 dieses Gesetzes zulässig. Die gemäß § 81g StPO gewonnenen DNA-Identifizierungsmuster können auch nach dem Bundeskriminalamtsgesetz verarbeitet und genutzt werden. Auskünfte dürfen nur für Zwecke eines Strafverfahrens, der Gefahrenabwehr und der internationalen Rechtshilfe hierfür erteilt werden.

Das Spurenmaterial selbst unterliegt keiner gesetzlichen Vernichtungsregelung.

Zeitgleich mit dem Strafverfahrensänderungsgesetz wurde eine Veränderung des Gesetzes über die Ordnungswidrigkeiten (OWiG) vorgenommen:

Artikel 2

§§

Dem § 46 Abs. 4 des Gesetzes über die Ordnungswidrigkeiten werden folgende Sätze angefügt: In einem Strafverfahren entnommene Blutproben und sonstige Körperzellen, deren Entnahme im Bußgeldverfahren nach Satz 1 zulässig gewesen wäre, dürfen verwendet werden. Die Verwendung von Blutproben und sonstigen Körperzellen zur Durchführung einer Untersuchung im Sinne des § 81e der Strafprozessordnung ist unzulässig.

§§

11.2.3

Ereignisortbezogene Erhebungen

Der Rechtsmediziner, der obduziert und/oder spurenkundlich arbeitet, sollte immer auch Wert darauf legen, einen Ereignisort zu besichtigen. Er wird über die ursprüngliche Lage der Leiche und an ihr befindliche Blutantragungen einen Tathergang rekonstruieren können, er wird über die Art der Gewalteinwirkung bzw. deren Richtung Blutantragungen an Gegenständen bzw. am Täter voraussagen können und er kann vor Ort und an der Leiche Spuren sichern, die bei der Tatortarbeit bzw. beim Leichentransport beeinträchtigt werden könnten. Schließlich kann er die Menge ausgetretenen Blutes abschätzen, was Bedeutung für die Formulierung der Todesursache haben kann. Natürlich setzt jede Spurenasservierung das Einverständnis des ermittlungsführenden Beamten voraus.

Eine Sofortbildkamera, die auch Detailvergrößerungen gestattet, hat sich im eigenen spurenkundlichen Einsatz am Ereignisort und auch im Labor stets bewährt.

Abb. 11.2-1a-d. Spritzmuster von Blutspuren (Aufnahmen Dr. med. O. Peschel, München). a Typische bogenförmige Blutantragungen als Folge einer arteriellen Gefäßverletzung (A. ulnaris bei Suizidversuch); b Rekonstruktion des Ausgangspunktes einer Blutantragung anhand des Konvergenzpunktes und des Auftreffwinkels verschiedener zusammengehöriger Einzel-elemente; c Vorgetäushtes Tötungsdelikt mit Blutantragungen in Form von Schleif- und Kontaktschleifspuren durch Hände, Schuhe und Kleidung. Spurenkundlicher Nachweis ausschließlich von Rinderblut; d Typische blutige Handkontaktschleifspur am Lichtschalter



Farbe von Blutspuren

Frische Blutantragungen sind meist lackfarben rot. Wenn vorgetragen wird, das Blut würde sich z.B. schon wochenlang an einem Kleidungsstück befinden, ist eine Verfärbung ins Bräunliche zu fordern, die durch Met-Hb-Bildung infolge der Oxidation des Hämoglobineisens bei einem Spurenalter von wenigen Tagen einsetzt. Die Möglichkeit dieser Erhebung ist naturgemäß nicht mehr gegeben, wenn ein Spurenträger Wochen nach der Tat zur spurenkundlichen Untersuchung gelangt oder gar erst bei der Gerichtsverhandlung vorgelegt wird. Eine Bestimmung des Spurenalters ist generell sehr schwierig und von der individuellen Erfahrung des Untersuchers abhängig. Objektive Messmethoden

wurden wiederholt angegeben, haben sich aber durchweg in der Praxis nicht bewährt.

Form von Blutspuren

Die Bewertung von Form, Dichte und Anordnungs- ausdehnung von Blutspuren ist keine eigentliche serologische Aufgabe. Sie kann aber wichtige Hinweise auf einen Tathergang geben und damit die serologischen Untersuchungen richtungsweisend beeinflussen.

Wesentliche Arbeiten hierzu stammen bereits aus der 1. Hälfte des vergangenen Jahrhunderts (Lochte 1933). In jüngerer Zeit haben sich insbesondere Brinkmann et al. [36, 37] hierzu geäußert, ferner Karger et al. [131]. Im Folgenden sind