



Stein, Christina/Gausterer, Christian

## **„Gute“ und „schlechte“ DNA-Spuren. Ein Überblick zum aktuellen Stand der forensischen Molekularbiologie**

SIAK-Journal – Zeitschrift für Polizeiwissenschaft und polizeiliche Praxis (2/2017), 72-86.

doi: 10.7396/2017\_2\_G

*Um auf diesen Artikel als Quelle zu verweisen, verwenden Sie bitte folgende Angaben:*

Stein, Christina/Gausterer, Christian (2017). „Gute“ und „schlechte“ DNA-Spuren. Ein Überblick zum aktuellen Stand der forensischen Molekularbiologie, SIAK-Journal – Zeitschrift für Polizeiwissenschaft und polizeiliche Praxis (2), 72-86, Online: [http://dx.doi.org/10.7396/2017\\_2\\_G](http://dx.doi.org/10.7396/2017_2_G).

© Bundesministerium für Inneres – Sicherheitsakademie / Verlag NWV, 2017

Hinweis: Die gedruckte Ausgabe des Artikels ist in der Print-Version des SIAK-Journals im Verlag NWV (<http://nwv.at>) erschienen.

Online publiziert: 9/2017

# „Gute“ und „schlechte“ DNA-Spuren

## Ein Überblick zum aktuellen Stand der forensischen Molekularbiologie



**CHRISTINA STEIN,**  
*FDZ-Forensisches DNA-  
Zentrallabor der Medizinischen  
Universität Wien.*

Die Einführung des genetischen „Fingerabdrucks“ ist eine Erfolgsgeschichte und die wohl größte Revolution in der Kriminaltechnik der letzten Jahrzehnte. Heute liefert die forensische DNA-Analyse Sachbeweise zur Belastung oder Entlastung tatverdächtiger Personen sowie Daten für die Identifikation der Opfer von Verbrechen und Katastrophen. Mit den Erfolgen steigen aber auch die Erwartungen. Folglich werden neben den klassischen Blut- und Sekretspuren zunehmend auch schwierige Probenarten routinemäßig untersucht, die wegen mangelnder Erfolgsaussichten (geringe DNA-Menge und -Qualität) bis vor kurzem noch kaum in Betracht gekommen wären. Weil man hier aber häufiger an Grenzen des Machbaren stößt, ergeben sich immer wieder neue Herausforderungen. Im vorliegenden Artikel beschäftigen wir uns mit diesen besonderen Herausforderungen der forensischen Molekularbiologie und gehen u.a. der Frage nach, was „gute“ von „schlechten“ DNA-Spuren unterscheidet.



**CHRISTIAN GAUSTERER,**  
*FDZ-Forensisches DNA-  
Zentrallabor der Medizinischen  
Universität Wien.*

### 1. WARUM IST DIE FORENSISCHE DNA-ANALYSE SO ERFOLGREICH?

DNA hat eine Reihe charakteristischer Eigenschaften, die sie funktionell zu anderen Biomolekülen abgrenzen und als biometrischen Informationsträger für die Forensik besonders interessant machen.

Das Erbgut aller heute lebenden Menschen ist im Grunde sehr ähnlich aufgebaut (ca. 99,9 % identisch), jedoch gibt es zwischen den Individuen auch signifikante Unterschiede, die sich im Laufe des Lebens nicht verändern und somit eine Personenidentifikation zulassen (Jeffreys et al. 1985; Feuk et al. 2006). Außerdem trägt jedes zelluläre Körpermaterial derselben Person auch dasselbe DNA-Merkmalmuster. Deshalb ist eine Zuordnung biologischer Spuren zum Spurenverursacher mittels DNA-Analyse möglich.

Die Weitergabe des Erbguts von einer Generation zur nächsten erfolgt nach bestimmten Verteilungsregeln, wie sie in Grundzügen von Gregor Mendel bereits in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts beschrieben wurden. Darauf aufbauend lassen sich für eine genetische Abstammungsbegutachtung je nach Fragestellung geeignete Hypothesen erstellen und deren statistische Wahrscheinlichkeiten berechnen (Gjertson et al. 2007). Angefragte DNA-Profile können also statistisch (unter Berücksichtigung der Häufigkeit ihrer genetischen Merkmale in der Population) dahingehend bewertet werden, wie sehr sie die eine oder andere Hypothese unterstützen.

Beim Ausführen krimineller Handlungen ist es oft kaum zu vermeiden, dass unbemerkt DNA-haltiges biologisches Material übertragen wird (Locard-Regel: „Jeder Kontakt hinterlässt Spuren“; Locard

1930). Das gilt besonders für Situationen mit intensivem Körperkontakt bzw. wenn Sekret oder Blutspuren abgegeben werden. Zusätzlich ist DNA bei geeigneten Umgebungsbedingungen relativ stabil und bleibt mitunter längere Zeit gut analysierbar (s. Zur Haltbarkeit von DNA, S. 77). Bereits vorhandene Spuren lassen sich auch nicht leicht wieder beseitigen, und grundsätzlich ist es heute technisch möglich, selbst aus „Minimalspuren“ (z.B. einem mikroskopisch kleinen Hautschüppchen oder wenigen isolierten Zellen) ein DNA-Profil zu erstellen, welches zur Personenidentifikation geeignet ist (Schneider et al. 2011).

Um ein Profil für die nationale DNA-Datenbank des Bundesministeriums für Inneres/Bundeskriminalamt zu erzeugen, werden aktuell in der Regel 17 nicht-codierende „Gen-Orte“ (Loci) der DNA aus dem Zellkern untersucht, d.h. mit Hilfe der PCR-Methode in einer Reaktion simultan vervielfältigt (Multiplex-PCR) und anschließend die Fragmentlängen mittels Kapillar-Elektrophorese bestimmt (Schmid/Scheithauer 2010). Bei den untersuchten Loci handelt es sich um einen genetischen Marker zur Geschlechtsbestimmung (Amelogenin) und 16 hochvariable STRs (short tandem repeats), d.h. nicht-codierende tandemartige Wiederholungen kurzer DNA-Sequenzen aus wenigen (zumeist vier) Basenpaaren, wobei die Anzahl der Wiederholungen individuell deutlich variieren kann.

Die Chance, voneinander unabhängige Personen mit genau den gleichen Merkmalsausprägungen (Längenpolymorphismen) in einem STR-Marker zu finden, ist eher gering (ca. 1/20 bis 1/100 per STR), und wird um ein Vielfaches geringer je mehr vergleichbare Loci typisiert werden. Die ermittelten Merkmalsmuster werden anschließend in einen alphanumerischen Code übersetzt an die DNA-Datenbank

weitergeleitet und können dann für automatisierte Abgleiche mit anderen Profilen herangezogen werden. Mit Hilfe der DNA-Datenbank(en) können Zusammenhänge zwischen Straftaten hergestellt (z.B. Serientäter, Wiederholungstäter) oder Tatverdächtige im Vorhinein als Spurenverursacher sicher ausgeschlossen werden. Internationale Vereinbarungen und Bestrebungen zum harmonisierten DNA-Datenaustausch tragen darüber hinaus zur Bekämpfung der Kriminalität auch jenseits der Landesgrenzen bei. Übereinstimmungen („Treffer“) zwischen STR-Profilen werden eingehend überprüft und der Exekutive gemeldet. Je mehr STRs untersucht werden, umso geringer ist die Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Übereinstimmung.

## 2. „GUTE“ UND „SCHLECHTE“ DNA-SPUREN

In anderen Bereichen der Molekularbiologie ist es üblich, bereits bei der Versuchsplanung viel Aufmerksamkeit der Probenoptimierung (Quantität, Qualität) entsprechend der jeweiligen Fragestellung und dem gewählten methodischen Ansatz zu widmen. Forensische Molekularbiologen können sich die Proben meistens nicht aussuchen, sondern sind gefordert, das Beste aus dem zu machen, was am Tatort hinterlassen bzw. von den Tatortbeamten gesichert wurde. Oft besteht anfangs aber nicht einmal Klarheit darüber, um welches biologische Spurenmaterial es sich überhaupt handelt.

Als Probenmaterial für eine DNA-Analyse zur Personenidentifikation eignen sich generell alle Gewebeproben (inkl. Hartgewebe wie Knochen, Zähne, Haare, Fingernägel etc.), Körperflüssigkeiten (Blut, Speichel, Urin, Sperma) oder Gegenstände, mit denen die zu identifizierende Person in körperlichen Kontakt gekommen ist (z.B. Kaugummi, Zigarettenstummel,

Zahnbürste, Taschentuch, mit Speichel angefeuchtete Briefmarke etc.) bzw. wo eine Übertragung von Körpermaterial stattgefunden hat. Einer Mindestanforderung müssen die Proben allerdings genügen: Sie müssen minimale Spuren einigermaßen intakter Kern-DNA der betreffenden Person enthalten.

Für die Rekonstruktion von Tatzusammenhängen kann es von entscheidender Bedeutung sein, zusätzlich zum DNA-Profil Informationen über die Art des Spurenmaterials zu erlangen. In der forensischen Routine werden zur Spurencharakterisierung hauptsächlich biochemische, immunologische oder mikroskopische Nachweisverfahren eingesetzt (Virkler/Lednev 2009). Zur Identifizierung mancher Spurenarten (z.B. menschlicher Haut) stehen bislang noch keine vergleichbaren Standardtests zur Verfügung, dafür aber neue, vielversprechende molekularbiologische Verfahren, z.B. RNA-Profiling oder DNA-Methylierungsanalyse (Nussbaumer 2009; Sijen 2015). Diese Methoden sind allerdings bisher nur in wenigen Labors etabliert.

Über die Erfolgsaussichten zum STR-Profiling liegen für die üblicherweise relevanten biologischen Spurenarten langjährige Erfahrungswerte vor. Besonders gute Erfolgsaussichten bestehen für Sekretspuren (Nase, Speichel), Blut und Sperma. Deutlich geringer sind die Erfolge bei latenten (unsichtbarem) Hautkontakt oder Berührungsspuren (Oorshot et al. 2010). Bei Entstehung der „Hornhaut“ findet in den Zellen der Außenhaut ein so genannter „programmierter Zelltod“ statt, wobei die DNA durch zelleigene Enzyme stark abgebaut wird (Candi et al. 2005).

Die Aussagekraft von Kontakts Spuren zur Rekonstruktion von Tatvorgängen ist oft viel geringer als die anderer Spurenarten (wie z.B. Sekret, Blut oder Sperma). Mitunter ist selbst fraglich, wie diese Spuren

überhaupt an ihren Ort gelangt sind („Transfer“) (Pfeifer et al. 2016). Minimal Spuren können fallweise durch Aerosol-Antragung entstanden sein (z.B. durch Speicheltropfen oder Hautschuppen), d.h. solche Spuren können zwar, müssen aber nicht immer tatrelevant sein („Hintergrund-DNA“). Zusätzlich kommen bei Kontakts Spuren Ausnahmen zur Locard-Regel viel häufiger vor, d.h. es ist kein verwertbares STR-Profil, trotz nachweislich erfolgter Berührung, erstellbar (z.B. Fingerabdruck).

Wieviel DNA bei ungeschütztem Hautkontakt übertragen wird, hängt ganz wesentlich von der Dauer, Intensität und Art des Kontakts ab. So wird beim Reiben an Gegenständen mehr Spurenmaterial übertragen als bei bloßem Halten oder Drücken. Bei privaten Gegenständen des täglichen Gebrauchs sind bessere Resultate zu erwarten als mit kaum benutzten. An öffentlich zugänglichen, häufig benutzten Gegenständen findet man üblicherweise Mischspuren, die wegen ihrer Komplexität (Anzahl der Spurenleger, Überlagerungen der Signale, Ausfälle von Signalen etc.) kaum jemals für die Zuordnung zu einem Individuum in Frage kommen.

Natürlich spielt auch die Beschaffenheit bzw. Oberflächenstruktur des Spurenträgers (glatt oder rau) eine wichtige Rolle. Spuren haften besser an texturierten Oberflächen als an glatten. Wegen der geringeren Adhäsion lassen sich Spuren zwar schwieriger durch Berührung auf Gegenstände mit einer glatten Oberfläche anheften („primärer Transfer“), aber dafür kann das Übertragen der Spur auf einen anderen Gegenstand („sekundärer Transfer“) umso leichter stattfinden (Meakin/Jamieson 2013).

Beim Sichern von Spuren auf rauen Oberflächen ist es möglich, durch den Einsatz von Klebefolien mitunter deutlich bessere Ausbeute zu erzielen als beim Abreiben mit Wattestieltpuffern (Verdon et al. 2013; dies. 2015).

Verschiedene Studien weisen darauf hin, dass sich Individuen hinsichtlich ihrer Eignung bei Berührung auswertbare DNA-Spuren zu legen mitunter deutlich unterscheiden können. Es scheint also „gute“ bzw. „schlechte Spurenleger“ zu geben (Kamphausen et al. 2012). Die Menge und die Qualität der DNA, die bei Berührung übertragen werden kann, kann vom Zustand der Haut des Spurenlegers mitbeeinflusst werden. Personen, die zu übermäßiger Schuppenbildung neigen, hinterlassen häufig mehr Spurenmaterial. Patienten, die an bestimmten Hautkrankheiten (z.B. Atopisches Ekzem, Psoriasis) oder an Sonnenbrand leiden, scheinen bei Hautkontakt tendenziell mehr DNA zu übertragen als Gesunde. Auch scheinen unterschiedliche Hautstellen derselben Person unterschiedlich gut für einen Transfer geeignet zu sein. Der Einfluss genetischer und epigenetischer Faktoren ist naheliegend. Wichtig scheint dabei aber auch das Verhalten des Spurenlegers zu sein, z.B. das Händewaschen (Häufigkeit, Zeitspanne seit dem letzten Mal, Durchführung) oder ob an der Haut des Spurenlegers Blut- oder Sekretspuren (typischerweise Nasensekret oder Speichel) haften, die bei Kontakt mitübertragen werden können.

Die Probenahme erfolgt üblicherweise durch Abreiben mit Tupfern oder Abkleben mit Klebeband. Wichtig dabei ist die sorgfältige Dokumentation (exakte Position der Spur, Lagerungsbedingungen etc.). Die Analysestrategie kann für Spuren die mittels Tupfer bzw. Klebefolie asserviert wurden, später im Labor oft nur mehr sehr eingeschränkt optimiert werden. Für ein rascheres Reagieren auf neue Erkenntnisse im Zuge der Ermittlungen ist die Übergabe von Originalspurenträgern (bewegliche Gegenstände) in das Labor oft von Vorteil. Im Labor können z.B. latente Spuren durch Bestrahlung mit einer künstlichen Lichtquelle sichtbar gemacht werden. Der

Transport sollte immer so erfolgen, dass die Integrität der Spuren dabei möglichst nicht beeinträchtigt wird.

Das Risiko, wertvolles Probenmaterial zu verlieren, wiegt bei Minimalspuren besonders schwer. Nicht zuletzt deshalb sind forensische DNA-Prüflaboratorien um ständige Prozessoptimierungen bemüht. Plastikwaren aus Polypropylen, wie sie häufig in Labors verwendet werden, können größere Mengen an DNA zurückhalten, die nach Gebrauch mitentsorgt würden. Um derartige Verluste zu vermeiden, kommen zunehmend Kunststoffe mit abweisender Beschichtung (mittels silikonisierter oder fluorierter Polymere) oder ähnlich wirksamer Oberflächenstruktur („Lotus-Effekt“) zum Einsatz, wodurch verbesserte Probenrückgewinnung und Reproduzierbarkeit bei geringeren Kosten erzielt werden (Lee et al. 2010).

Bei der so genannten DNA-Extraktion wird die DNA aus Zell- und Geweberesten isoliert und von Spurenbestandteilen befreit, welche nachfolgende Analysen eventuell stören könnten (z.B. PCR-Inhibition) (Butler 2005). Je nach Fragestellung kann auch eine selektive Anreicherung der DNA bestimmter Zellfraktionen aus einer Mischprobe (z.B. Spermazellen aus einem vaginalen Abstrich) durchgeführt werden.

Alternativ kann die PCR-Analyse des Spurenmaterials auch direkt, d.h. ohne vorhergehende Aufreinigung der DNA, erfolgen (so genannte direct PCR-Verfahren) (Ottens et al. 2013). Von kommerziellen Anbietern existieren direct-PCR-Kits und Protokolle, die v.a. für die STR-Analyse von „guten“ Spurenarten (insb. zur Analyse von Blut, Mundhöhlenabstrichen [MHA]) geeignet sind. Mögliche Vorteile dieses strategischen Ansatzes sind ein geringeres Kontaminationsrisiko sowie die Ersparnis von Zeit, Geld und Probenmaterial (keine Verluste durch Extraktion).



### 2.1 DNA-Quantität und -Qualität

Der Extraktionserfolg kann abhängig von Spurenart, Spureträger, Ausgangsmenge, Erhaltungszustand und Extraktionsmethode sehr stark variieren. DNA-Ausbeuten in Größenordnungen von Nanogramm (ng, d.h. Milliardstel Gramm), Pikogramm (pg, d.h. Billionstel Gramm) oder „nicht messbar“ kommen vor. Die in der forensischen Routine gebräuchlichen STR-Analyse-Kits liefern optimale Ergebnisse bei einer DNA-Menge von 0,5-1 ng per Reaktion. Als untere Grenze der einzusetzenden DNA-Menge sind etwa 30 bis 50 pg pro PCR erforderlich, um ein STR-Vollprofil erzielen zu können.

Die Ausbeute an extrahierter, humaner DNA wird in der forensischen Praxis üblicherweise mittels quantitativer Echtzeit-PCR oder (engl.) real-time quantitative PCR (kurz qPCR) bestimmt. Dabei handelt es sich um eine DNA-Vervielfältigungsmethode nach dem Prinzip der herkömmlichen PCR, die aber zusätzlich noch eine Quantifizierung ermöglicht, d.h. über den Vergleich mit einer mitgeführten Standardreihe bekannter DNA-Konzentrationen kann auf die DNA-Menge in der Probe geschlossen werden. Wenn die Menge an Ausgangs-DNA (Probe) bekannt ist, kann die STR-Amplifikation optimal durchgeführt und Komplikationen vorgebeugt werden, welche durch zu wenig (Ausfälle, stochastische Effekte) oder zu viel (Artefakt-Signale) an Proben-DNA bedingt sein können.

Aktuelle qPCR-Kits können Kern-DNA in geringeren Mengen detektieren als in einer einzelnen Zelle enthalten ist (Ewing et al. 2016; Holt et al. 2016). Auf Grund dieser hohen Sensitivität wird die qPCR von einigen Laboratorien auch zur „Schwellenwertdetektion“ bzw. zum Aussortieren von Spurextrakten wegen zu geringem DNA-Gehalt verwendet. Weil aber aktu-

elle STR-PCR-Kits auch sehr sensitiv sind, sollte die Spurenprobenelimination, basierend auf qPCR-Quantifikation immer nur mit Bedacht erfolgen. Die Messergebnisse der qPCR sind nämlich nicht absolut, sondern immer nur relativ (zur Standardreihe) zu verstehen. Deshalb sollten bei deren Interpretation hinsichtlich der Erfolgsaussichten bei der STR-Analyse ganz wesentlich laborinterne Erfahrungswerte mitberücksichtigt werden. Alternativ ist auch der Einsatz der qPCR zur „Bestätigungsanalyse“ möglich, d.h. ein nachträgliches Absichern von Negativergebnissen (d.h. Totalausfall bei STR-Amplifikation).

Bestimmte methodische Varianten der qPCR erlauben eine Multiplexierung, d.h. die simultane Analyse mehrerer DNA-Marker in einer Reaktion. So enthalten die in der Forensik gebräuchlichen qPCR-Kits u.a. so genannte „Qualitätssensoren“, welche zusätzlich zur Quantifizierung noch Auskunft über Erhaltungszustand der DNA (Degradationsindex) bzw. das Vorkommen von PCR-Hemmstoffen (PCR-Inhibition) in einer Probe anzeigen.

Der Degradationszustand der DNA kann mitunter schwerwiegend sein, d.h. das hochmolekulare „Kettenmolekül“ mit Millionen Basenpaaren (bp) pro Chromosom, wie es in lebenden Zellen vorkommt, zerfällt in kleinste Bruchstücke von 100 bp oder weniger (Alaeddini et al. 2010). Für die Erzeugung eines STR-Profiles werden üblicherweise DNA-Abschnitte mit Fragmentlängen von ca. 100 bis 450 bp benötigt. Je schlechter der Erhaltungszustand einer Probe ist, umso seltener kommt intakte DNA der erforderlichen Abschnittlänge vor. Bei schlechtem Erhaltungszustand kann es sich paradoxerweise ergeben, dass zwar physikalisch-messbar (z.B. mittels Fluoreszenz-Spektroskopie) genügend DNA vorhanden ist, aber die Schäden eine enzymatische Vervielfältigung mancher

STRs mittels PCR nicht zulassen. In solchen Proben wird ein Signalverlust typischerweise bei STR-Produkten mit zunehmender Fragmentgröße beobachtet. Wenn also PCR-Inhibitoren oder abgebaute DNA vorhanden sind, ergibt sich dadurch oft ein genetisches Teilprofil mit partiellem (Allel-Verlust) oder komplettem Fehlen bestimmter Loci. Aktuelle STR-Kits verfolgen eine methodische Gegenstrategie, nämlich bereits beim Assay-Design die Größe der PCR-Produkte möglichst zu reduzieren. Ein wesentlicher Vorteil dieser kleineren STRs oder „Mini-STRs“ ist, dass die Datenbankkompatibilität beibehalten werden kann (Butler et al. 2003). Diese Kits sind zusätzlich auch noch sehr robust und unempfindlicher gegenüber PCR-Inhibition.

## 2.2 Die Sequenzanalyse der mitochondrialen DNA

Wenn Proben bereits so stark abgebaut sind, dass die STR-Analyse nicht mehr möglich ist, kann die Sequenzanalyse der mitochondrialen DNA (mtDNA) zum Einsatz kommen (Butler/Levin 1998). Mitochondrien sind die Organellen der Zellatmung und besitzen ihr eigenes DNA-Molekül, welches – anders als die Kern-DNA – als exakte Kopie und ausschließlich über die mütterliche Linie vererbt wird. Weil es in menschlichen Zellen viele Mitochondrien gibt und jeweils mehrere Kopien mtDNA pro Mitochondrium vorkommen, ist die mtDNA insgesamt in wesentlich höherer Kopienzahl vorhanden und kann deshalb auch leichter nachgewiesen werden als die Kern-DNA. Jedoch ist das mtDNA-Testen ein zeitaufwändiges Verfahren und auf Grund der haploiden Natur der mtDNA-Vererbung sind die Daten für Identifikationszwecke bei weitem nicht so aussagekräftig wie eine vollständige Übereinstimmung in 16 STR Loci. Manchmal kann die mtDNA dennoch sehr

nützliche Informationen liefern, z.B. bei Haaren ohne Wurzel, bei der Identifizierung von verbrannten oder schlecht erhaltenen menschlichen Überresten, oder um irrtümlich Verdächtige als Spurenleger auszuschließen.

## 3. ZUR HALTBARKEIT VON DNA

Als molekularer Träger der Erbinformation ist es wesentlich, dass die Primärstruktur der DNA, d.h. die Abfolge seiner Grundbausteine (Nukleotidsequenz) stabil ist. Die vier Basen Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) werden in Nukleotideinheiten (je ein Molekül mit einem Phosphat-, einem Zucker- und einem Basenbestandteil) zusammengefügt und über die Phosphatreste als DNA-Einzelstrang miteinander verbunden. Die Sekundärstruktur einer Doppelhelix (ähnlich einer gewundenen Strickleiter) wird durch Querverbindungen der Stränge über die Basen erzeugt (Watson/Crick 1953).

Angeht die Notwendigkeit, die genetische Information dauerhaft zu erhalten, ist es nicht überraschend, dass die Phosphatbindungen der DNA-Einzelstränge weitaus stabiler sind als andere übliche biologische funktionelle Gruppen (wie Amide oder Ester). Jedoch müssen die Stränge auch spaltbar sein, um die Vervielfältigung der DNA (Replikation), strukturelle Flexibilität und die Reparatur von DNA-Schäden zu ermöglichen. Die Spaltung der DNA wird in der lebenden Zelle von Enzymen (Nukleasen) mittels Hydrolyse kontrolliert durchgeführt. Solange Zellen leben und stoffwechselaktiv sind, wird die Integrität der DNA-Moleküle durch enzymatische Reparaturprozesse kontinuierlich aufrechterhalten (Christmann et al. 2003).

Wenn eine Zelle (oder ein Organismus) stirbt, ist die DNA anfällig für Beschädigung und Abbau durch Nukleasen (endogen – d.h. intrazellulär – bzw. exogen – d.h. von Bakterien, Pilzen und Insekten).

Unter seltenen Umständen, z.B. wenn ein Gewebe nach dem Tod schnell einfriert, austrocknet oder die DNA an einer Mineralmatrix gebunden wird, können DNA-Moleküle dem enzymatischen Abbau entgehen. In solchen Fällen beginnen allerdings langsamere abiotische (chemisch-physikalische) Prozesse die DNA zu beeinträchtigen. Manche dieser Prozesse sind ähnlich jenen, welche die DNA auch in der lebenden Zelle schädigen. Nach dem Tod werden sie jedoch nicht mehr durch zelluläre Reparaturprozesse ausgeglichen, wodurch sich Schäden allmählich anhäufen. Eine längere Einwirkung von Hitze, Feuchtigkeit, ultravioletter Strahlung und Mikroorganismen erhöht die Geschwindigkeit der DNA-Schädigung und des Abbaus, was zu einer starken Fragmentierung führen kann, bis die DNA schließlich ihre Integrität verliert (Alaeddini et al. 2010).

Interessanterweise gibt es aber keine einfache, lineare Beziehung zwischen dem Alter einer Probe und dem Erhaltungszustand der DNA. Wichtiger als das chronologische Alter ist häufig die Umgebung, in der sich die Probe befindet. Eine Reihe von Faktoren, die ganz wesentlich zur Konservierung beitragen, ist bekannt. Im Einzelfall sind allerdings Kombinationseffekte zu erwarten und deshalb mitunter auch Überraschungen möglich.

Sensationserfolge aus der Forschung mit sehr alten DNA-Proben (Ancient DNA, aDNA) belegen, dass die Sequenzinformation grundsätzlich über einige hunderttausend Jahre hinweg bewahrt werden kann (Willerslev/Cooper 2005). Die ältesten authentifizierten aDNA-Befunde stammen aus dem Permafrost (Willerslev et al. 2003) und Bohrkernen aus fossilem Grönlandeis (Willerslev et al. 2007). Es ist also klar, dass konstant niedrige Temperaturen eine zentrale Rolle in der Langlebigkeit von DNA-Molekülen spielen. Bei der so ge-

nannten Kryo-Konservierung in flüssigem Stickstoff (-196°C) kann man DNA in einen „glasartigen“ Zustand (Vitrifikation) bringen, wobei molekulare Bewegungen stark abnehmen und somit chemische Reaktionen (z.B. spontane Hydrolyse) kaum mehr stattfinden (Lee et al. 2010). Dennoch wird angenommen, dass DNA selbst unter idealen Bedingungen nicht länger als eine Million Jahre amplifizierbar erhalten bleibt. Das sind jedoch zeitliche Dimensionen, die den Rahmen für Erfordernisse der Forensik (selbst bei Delikten ohne Verjährung) bei weitem sprengen. Für die forensische Laborpraxis ist die Lagerung der DNA-Extrakte bei -20°C üblich und erscheint hinsichtlich der aktuellen Anforderungen für die STR-Profilierstellung praktikabel.

Alle Lebewesen, die in heißen Lebensräumen (Wüsten, Thermalquellen etc.) vorkommen, haben Überlebensstrategien entwickelt, um hohe Temperaturen auszuhalten. Extrem thermophile Mikroorganismen (bestimmte Archaeen) wachsen sogar bei Umgebungstemperaturen bis über 120°C. DNA wird auch von diesen Organismen dazu verwendet, um genetische Information zu speichern und kann solchen Bedingungen offensichtlich standhalten (Cowen 2004). Es ist also nicht verwunderlich, dass auswertbare DNA-Spuren mitunter sogar auf Hülsen verschossener Munition, im Lauf von Schusswaffen oder auf Bauteilen detonierter Sprengsätze zu finden sind (Esslinger et al. 2004; Horsman-Hall et al. 2009).

Demgemäß ist auch die kriminelle Praxis, Tatortspuren durch Brandlegung zu vernichten, nicht unbedingt immer erfolgreich. In Studien konnte gezeigt werden, dass nach Zimmerbränden, begraben unter einer Ascheschicht, sehr wohl noch auswertbare Spuren (z.B. Fingerabdrücke, Blutspritzer, aber auch DNA) zu finden



sind (Tontarski et al. 2009). Für das Entfernen der Asche wurde hier die Latex-Spray-Methode angewandt. Das Erstellen vollständiger STR-Profile war mit DNA-Spuren möglich, die gemessenen Temperaturspitzen bis ca. 300°C ausgesetzt waren. An dieser Stelle sei aber angemerkt, dass sich die Hitze nicht gleichmäßig im Raum verteilt, d.h. während an der Zimmerdecke oder direkt beim Brandherd Maximalwerte von etwa 1.000°C vorkommen können, sind in Bodennähe deutlich niedrigere Temperaturen (unter 200°C) zu erwarten.

Die Personenidentifikation anhand von (teilweise) verbrannten oder verkohlten menschlichen Überresten (Gewebe, Knochen, Zähne) mittels genetischen Fingerabdrucks (STRs, mtDNA) ist abhängig vom Erhaltungszustand der Proben grundsätzlich möglich und lässt sich häufig rascher durchführen als über andere Verfahren (z.B. Zahnstatus). DNA aus verbrannten Knochenfragmenten kann allerdings auch bereits stark abgebaut sein, was eine genetische Analyse erschwert oder sogar unmöglich macht. Darüber hinaus sind stark verbrannte Knochen sehr anfällig für Kontamination mit Fremd-DNA. Das äußere Erscheinungsbild der Knochen (gut konserviert, halbverbrannt, schwarz verbrannt, blau-grau verbrannt, blau-grau-weiß verbrannt) gibt bereits Hinweise auf den Grad der Zerstörung und lässt Prognosen über Erfolgsaussichten der DNA-Analysen zu (Schwark et al. 2011). Jedenfalls sollte bei einer nach aktuellem Stand der Technik (d.h. Temperaturen bis jenseits von 1.000°C, Dauer von mehr als einer Stunde bzw. je nach Körpergewicht eventuell länger) durchgeführten Feuerbestattung im Krematorium nur noch mineralisiertes Knochenmaterial (Asche) übrigbleiben, welches für eine DNA-Analyse unbrauchbar ist.

Extrazelluläre DNA kommt in natürlicher Umgebung (Wasser, Boden, Sediment) nachweislich vor, obwohl ein Abbau ungeschützter DNA-Moleküle durch (saprotrophe) Bakterien und Pilze, die sich von toter organischer Materie ernähren, mehr oder weniger rasch stattfindet (Nielsen et al. 2007). DNA wird von den Mikroorganismen entweder als Nahrungsquelle oder als „Bauteil“ für die eigene Nukleinsäure-Biosynthese verwendet.

Die Abbauraten in der Umwelt können beträchtlich variieren, abhängig von der mikrobiellen Aktivität (z.B. Trinkwasser oder Kläranlage) und allgemeinen Umweltbedingungen (z.B. Temperatur, Feuchtigkeit). Studien haben gezeigt, dass Fraktionen reiner DNA, die in Boden oder Wasser eingebracht werden, dem sofortigen Abbau mitunter entgehen und für unterschiedlich lange Zeiträume (Stunden bis Tage) nachweislich erhalten bleiben.

In steriler, wässriger Lösung wird DNA hauptsächlich durch Hydrolyse oder die von Sauerstoff-Radikalen verursachten oxidativen Veränderungen an Zucker oder Basen geschädigt (Alaeddini et al. 2010). Abhängig vom pH-Wert lässt sich ein alkalisches Schmelzen der DNA-Doppelhelix (bei pH ~12; kurzfristig reversibel) oder eine säurekatalysierte Hydrolyse von DNA-Bestandteilen (bei pH < 6.0; z.B. in Magen, Vagina oder auf der Haut) feststellen.

Nicht zuletzt wegen steigender Energie- und Umweltkosten ist in den letzten Jahren ein zunehmendes Interesse an der Lagerung von getrockneter DNA bei Zimmertemperaturen zu beobachten (Lee et al. 2010). Das Entfernen von Wasser, z.B. durch DNA-Fällung in Ethanol mit anschließender Lufttrocknung oder durch Gefriertrocknung (Lyophilisierung), erhöht die chemische Stabilität der DNA

zunächst durch Hemmung von Hydrolyse und Oxidation und zweitens durch die Verringerung der molekularen Mobilität bzw. der chemischen Reaktivität (d.h. die DNA nimmt einen „festen“ Zustand an). Restwasser, welches an DNA gebunden ist, kann in diesem Zustand noch immer als Reaktionspartner wirken bzw. als „Weichmacher“ die molekulare Mobilität erhöhen. Durch den Zusatz von Additiven wie dem Zucker Trehalose kann ein starker, zusätzlicher Stabilisierungseffekt erreicht werden, indem eine glasartige Matrix erzeugt wird („Wassertausch“). Trehalose findet man in hohen Konzentrationen bei bestimmten mehrzelligen Organismen (z.B. Bärtierchen – Tardigrada). Nach dem Prinzip der Anhydrobiose (d.h. „Leben ohne Wasser“) bilden diese Tiere während längerer Dürreperioden trockene Dauerstadien, können aber nach Benetzung durch Wasser einfach „wiederbelebt“ werden. Die Trehalose dient dazu die Zellstrukturen (inkl. DNA) während der Dürre zu schützen. Mittlerweile existieren für die Lagerung getrockneter DNA verschiedene Technologien (u.a. auch auf Basis der Anhydrobiose, inkl. synthetischer Speichermedien bzw. Trehalose-Derivat), die auch kommerziell angeboten werden (Fripiat/Noel 2014).

Will man DNA schützen, lagert man sie besser im Dunklen, denn ionisierende Strahlung, wie u.a. auch die kurzwellige Ultraviolettstrahlung (UV) aus dem Sonnenlicht, kann eine Vielzahl von DNA-Schäden hervorrufen, wie Oxidationen, Ein- und Doppel-Strangbrüche, chemische Veränderungen an Basen und Zucker, Quervernetzungen und die Bildung von Thymidin-Dimeren (Alaeddini et al. 2010). Abhängig von der Strahlendosis (Intensität, Dauer der Bestrahlung) können DNA-Spuren also stark abgebaut werden.

Zumindest bei Tatortspuren im Freien sollten derartige Effekte berücksichtigt und entsprechend dokumentiert werden. Faktoren, welche die Auswirkungen der Strahlung mitbeeinflussen könnten, sind z.B. die geografische Lage (Nähe zum Äquator), die Höhenlage (Gebirge), die Tages- und Jahreszeit, lokales Wetter (Bewölkung), Reflexionen und Spiegelungen (Farbe und Material des Spurenträgers).

Im Labor können durch Bestrahlung mit einer künstlichen Lichtquelle (z.B. Polilight, Superlight) latente Kontaktsuren sichtbar gemacht werden. Dabei sollte eine Exposition mit kurzwelligem Licht von ca. 260 nm unbedingt vermieden werden, um die DNA in biologischen Spuren nicht zu zerstören. Die Lichtempfindlichkeit der DNA wird aber auch zur DNA-Dekontamination (z.B. bei Werkbänken mit UV-Bestrahlung) eingesetzt.

#### **4. DIE KOMPLEXITÄT VON DNAMISCHPROBEN**

DNA lässt sich in der Umwelt praktisch überall nachweisen, deshalb sind Tatortspuren potentiell immer auch DNAMischproben. Allerdings werden die in der Forensik gebräuchlichen STR-Kits im Zuge ihrer Entwicklung und Validierung ausführlich dahingehend getestet, ob sie human-spezifisch sind. Relevante Störsignale durch Kreuzreaktionen mit nicht-menschlicher DNA sind also kaum zu erwarten.

Wenn DNA aus einer Spur mit biologischem Material von mehreren Personen analysiert wird, kann daraus ein gemischtes STR-Profil (Mischprofil) resultieren. Dies besteht z.B. aus dem DNA-Profil einer Person, dem ein DNA-Profil einer zweiten Person überlagert ist. Das ungefähre Mischungsverhältnis kann abgeschätzt werden, wenn die dem DNA-Profil zu Grunde liegenden Rohdaten bzw. Signalwerte (Peaks) im Elektropherogramm (d.h.

der grafischen Darstellung von Resultaten einer Elektrophorese-Analyse) betrachtet werden. Die aus den Signalfächern abgeleitete quantitative Information des DNA-Profiles und das geschätzte Mischungsverhältnis werden dazu benutzt, bestimmte paarweise Kombinationen auszuschließen. So kann der Abgleich eines Mischprofils mit den Profilen von Tatverdächtigen erfolgen, um festzustellen, ob diese als mögliche Teilspurenverursacher in Frage kommen (Gill et al. 2006; Schneider et al. 2009). In manchen Fällen lässt sich ein so genanntes „hypothetisches Profil“ des Hauptspurenlegers aus einer Mischspur ableiten.

Es ist dies noch relativ einfach, wenn ein hohes Mischverhältnis besteht und die Hauptkomponente des Mischprofils leicht ersichtlich ist. Ist hingegen die Nebenkomponekte des Profils von Interesse, ist das Profil selten klar bestimmbar. Kleine Peaks können von großen Peaks maskiert sein und es ist mitunter schwierig festzustellen, ob ein „wahres Allel“ vorliegt. Sehr kompliziert kann es dann werden, wenn mehrere Spurenleger (mehr als zwei) beteiligt sind, bei ausgeglichenem Mischungsverhältnis (d.h. keine Differenzierung zwischen Haupt- und Nebenkomponekten möglich) oder bei engem Verwandtschaftsverhältnis der Spurenleger. Zusätzlich ist bei Proben mit geringer DNA-Quantität und/oder -Qualität immer auch mit teilweisen oder gänzlichen Ausfällen von STR-Markern zu rechnen. Die Auswertung komplexer Mischspuren erfolgt auf Grund der Zahl der möglichen Allel-Kombinationen mit der Unterstützung geeigneter Softwareprogramme.

Die Art der Probe kann bereits Hinweise darauf geben, ob bei der DNA-Analyse ein Mischprofil zu erwarten ist. Eine Blut- oder Sekretspur von einem einzelnen Spurenverursacher ergibt typischerweise ein STR-Profil mit einer klaren Hauptkom-

ponente – wobei kaum zusätzliche Hintergrundsignale zu erwarten sind.

Im Gegensatz dazu treten bei reinen Hautkontaktspuren erwartungsgemäß Hintergrundsignale viel stärker hervor. Folglich ist manchmal auch keine eindeutige Unterscheidung zwischen Haupt- und Nebenkomponekten möglich (Gill et al. 2015). Selbstverständlich ist bei der Interpretation/Plausibilitätsprüfung der Analyseergebnisse auch die Verwendung des Spurenlägers (ausschließlich privat oder öffentlich), die Art des Kontakts („Intensität“) und Aspekte von DNA-Quantität (stochastische Effekte) und Qualität (Teilprofile/Ausfälle) zu berücksichtigen.

#### 4.1 Die Y-chromosomale STR-Analyse

Das Y-Chromosom ist ein Geschlechts-Chromosom aus dem Zellkern, das ausschließlich über die väterliche Linie vererbt wird und nur in Männern vorkommt. Kommerziell erhältliche Kits zur Analyse von Y-chromosomalen STRs (Y-STRs) sind sehr sensitiv und geschlechtsspezifisch, d.h. sie erkennen minimale Spuren „männlicher“ DNA selbst in einer Mischprobe mit extremem Überschuss an „weiblicher“ DNA. Es ist naheliegend, dass diese Methodik nicht nur zur Bestätigung des Vorhandenseins „männlicher“ DNA in einer Probe (z.B. bei Verdacht auf ein fehlerhaftes Ergebnis beim autosomalen STR-Profilung mit Amelogenin), sondern häufig auch in der Fallarbeit bei Sexualdelikten eingesetzt wird. So können auch Kontaktspuren (z.B. bei Abwesenheit von Spermien bzw. Ejakulat eines vasktomierten Spurenlegers oder Material aus Fingernagelabstrichen eines weiblichen Opfers) oder Mischspuren von männlichen Spurenlegern (z.B. bei Gruppenvergewaltigung) untersucht werden (Roewer 2009). Weil das Y-Chromosom über Generationen weitgehend unverändert weitervererbt wird, kann es auch zur Klärung von Verwandtschaftsbeziehungen,

Abstammungsfragen (bio-geografische Herkunft) oder Fragen der menschlichen Evolution herangezogen werden. Aktuelle kommerzielle Kits detektieren neben den bereits länger etablierten (stabilen) Y-STRs, zusätzlich auch noch so genannte schnellmutierende Y-STRs (rapidly mutating Y-STRs), die eine deutlich höhere Mutationsrate aufweisen und folglich wesentlich öfter auch eine Differenzierung zwischen DNA-Spuren von sehr eng verwandten Männern (Vater-Sohn, Brüder) zulassen (Ballantyne et al. 2012).

## 5. DNA-KONTAMINATION UND DEKONTAMINATION

In Anbetracht der Tatsache, dass die Sensitivität der forensischen DNA-Nachweismethoden seit ihren Anfängen erheblich gestiegen ist, gibt es große Bemühungen auch die Maßnahmen zur Kontaminationsvermeidung und zum Nachweis von Kontaminationen ständig zu verbessern. Neben der üblichen Praxis des Tragens von persönlicher Schutzausrüstung (z.B. Labormäntel, Einmalhandschuhe, Mundschutz, Schutzbrille, Haarnetz) und der Verwendung (zertifiziert) DNA-freier Verbrauchsmaterialien, müssen eine Vielzahl von Vorkehrungen (z.B. Implementierung eines Qualitätsmanagementsystems, Qualifizierungsmaßnahmen des Personals, Validierung von Verfahren/Prozessen, räumlich/zeitliche Trennung von Prozessabläufen; Zugangsregelungen/Kontrollen) getroffen und Verhaltensmaßregeln (Dokumentation/Beweismittelkette – „chain of custody“, Führen von Chargen-/Negativ-/Positivkontrollen) befolgt werden – sowohl bei der Spurensicherung am Tatort als auch bei den Untersuchungen im Labor.

Kein System ist jedoch perfekt, und ungeachtet der strengen Präventionsmaßnahmen können DNA-Spuren übertragen werden. Daher ist es unerlässlich, die Anstrengungen nicht nur zur Vermeidung

von Kontaminationen zu erhöhen, sondern auch bei deren Erkennung. In forensischen Laboren ist es schon lange Standard, sämtliche DNA-Analyseergebnisse mit den Profilen der eigenen Mitarbeiter abzugleichen, um Kontaminationen zu erkennen. Analog wird seit einigen Jahren durch Einsatz der Police Elimination Datenbank (PED) auch die Spurensicherung erfolgreich überwacht (Schmid/Scheithauer 2010). Konsequenterweise wäre natürlich noch eine Erweiterung der Eliminationsdatenbank anzudenken, nämlich auf alle Mitarbeiter von Herstellerfirmen, die an der Produktion von Verbrauchsmaterialien für Forensik/Spurensicherung (s. Fall einer vermeintlichen Serienmörderin „Phantom von Heilbronn“) direkt beteiligt sind (Gill et al. 2010).

Im Februar 2016 wurde von der Internationalen Organisation für Normung (kurz ISO) die Norm ISO 18385 („Minimizing the risk of human DNA contamination in products used to collect, store and analyze biological material for forensic purposes – Requirements“) als weltweite Norm für Hersteller von forensischen Produkten publiziert, die in der menschlichen DNA-Analyse verwendet werden. Die ISO-Norm 18385 nimmt Bezug auf wachsende Bedenken in der forensischen Industrie hinsichtlich möglicher Kontamination von Verbrauchsmaterialien mit menschlicher DNA. Die enthaltenen Richtlinien sollen das Risiko der Verunreinigung mit menschlicher DNA bei jenen Produkten, die zum Sammeln, Speichern und Analysieren von biologischem Material verwendet werden, minimieren sowie die Überprüfung von Produkten vor ihrer Freigabe regulieren. Um der ISO-Norm zu genügen bzw. um ihre HID-Produkte als „ISO 18385 Forensic DNA Grade“ etikettieren zu dürfen, müssen Hersteller eine Reihe von Auflagen (vorhandenes Qualitätsmanagementsystem, Personal

zum Kontaminationsnachweis, Risikomanagement durch Risikobewertung und -minimierung von Kontaminationen durch menschliche DNA, validierte Reinigungs- und Umweltmonitoringverfahren, Überprüfen der Produkte auf Kontaminationen durch STR-PCR, qPCR oder eine andere gleichermaßen empfindliche, validierte Testmethode) erfüllen.

Weitere mögliche Maßnahmen zum Erkennen von Kontaminationen (oder Verwechslungen) im Labor sind z.B. die Plausibilitätskontrolle, das Wiederholen von Untersuchungsschritten, die Dokumentation von Chargennummern (Verbrauchsmaterialien, Reagenzien) und die lückenlose Kontrolle neuer Chargen. Durch laufende Schulungs- und Qualifizierungsmaßnahmen können Mitarbeiter (Spurensicherung, DNA-Labor) dazu befähigt werden, unerwartete Ergebnisse zu erkennen bzw. auf Plausibilität und die Möglichkeit einer Kontamination (oder Verwechslung) zu prüfen. Durch Dokumentation von Chargennummern und Kontrolle jeder Charge bei erstmaliger Verwendung kann eine Kontamination von Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien erkannt werden. Durch Einhalten der „chain of custody“ können die Nachvollziehbarkeit aller Untersuchungsschritte gewährleistet werden und bei Bedarf Doppeluntersuchungen durchgeführt werden.

Zusätzlich zu den vorbeugenden Maßnahmen, welche helfen sollen, Verunreinigungen mit menschlicher DNA zu vermeiden, gibt es auch noch Verfahren (präventiv oder bei konkretem Verdacht) zur Dekontamination. In vielen Fällen wird es allerdings praktisch nicht durchführbar sein, alle vorhandenen DNA-Spuren vollständig zu entfernen bzw. zu zerstören. Deshalb zielen gängige Verfahren zur DNA-Dekontamination darauf ab, die DNA so zu verändern (z.B. durch Abbau

der DNA oder Modifikation der Basen), dass ein Nachweis mittels PCR einfach nicht mehr möglich ist.

Für die Reinigung von Laboroberflächen werden häufig verdünnte Natriumhypochlorit- oder Wasserstoffperoxid-Lösungen benutzt. Als nicht-korrosive Alternative können zur Behandlung von Oberflächen (oder Gegenständen) auch kommerziell-vertriebene Lösungen (z.B. DNA-ExitusPlus™) zum Einsatz kommen.

Bei der industriellen Herstellung von „DNA-freien“ Verbrauchsmaterialien wird zur Endsterilisation (d.h. zur abschließenden Behandlung der fertigen Produkte) heute routinemäßig die Begasung mit Ethylenoxid angewandt. Ethylenoxid (EO) ist ein farbloses, hochentzündliches und giftiges Gas, welches auch zur Sterilisation von Medizinprodukten eingesetzt wird und DNA (durch Basenmodifikation, Strangbrüche) direkt schädigt (Neureuther et al. 2014). Die EO-Behandlung wird in einer dichten Kammer durchgeführt und kann je nach Produkt und Sterilisationsanforderungen von einigen Stunden bis zu mehreren Tagen dauern. Nicht alle Produkte eignen sich aber für EO-Behandlung, da die Verpackung der Produkte gasdurchlässig sein muss und bei manchen Teilschritten eine Luftfeuchtigkeit von 55–75 % benötigt wird (Problem z.B. bei Wattestäbchen mit Trocknungsmittel). Eventuell könnte sich auch eine chemische Wechselwirkung mit EO nachteilig auf manche Produkte auswirken (z.B. erhöhte DNA-Bindung durch Oberflächenveränderung bei manchen Kunststoffen).

Alternativ dazu ist die Endsterilisation durch ionisierende Strahlung (z.B. UV, Beta- oder Gammastrahlen) möglich. Allerdings sind diese Verfahren deutlich weniger effektiv als die Begasung mit EO, um die DNA (im Falle einer Kontamination) derart zu schädigen, dass sie nicht mehr amplifizierbar wird (Shaw et



al. 2008). Der Vorteil der UV-Strahlung ist, dass sie im Labor durchgeführt werden kann. Unter Berücksichtigung bestimmter Parameter (z.B. Abstand zur UV-Lampe, Belichtungszeit) ist es möglich, die Effektivität der UV-Sterilisation zu steigern (Tamariz et al. 2006).

## 6. AUSBLICKE – TRENDS – HERAUSFORDERUNGEN

Das „klassische“ STR-Profilung (d.h. die Vervielfältigung hochvariabler STR Loci durch PCR, gefolgt von einer automatisierten Fragmentlängenanalyse mittels Kapillarelektrophorese) wird in der Forensik seit den frühen 1990er Jahren sehr erfolgreich durchgeführt und ist noch immer der „Goldstandard“, um DNA-Profile zu erzeugen. Die aktuellen Verfahren (STR-Kits, Elektrophorese-Systeme) sind technologisch mittlerweile sehr ausgereift (d.h. hohe Qualität, Robustheit und Effizienz bei gutem Kosten-Nutzen-Verhältnis). Das theoretisch-mögliche Potential der DNA-Analyse für forensische Fragestellungen wird mit dieser Methodik aber bei weitem nicht voll ausgeschöpft und die Grenzen des Machbaren zeichnen sich deutlich ab (z.B. Probleme bei Mischspuren oder Minimalspuren).

Neue Technologien zur Nukleotid-Sequenzierung (so genannte massive parallele Sequenzierung [MPS]) (Tucker et al. 2009) sind in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus der forensischen Forschung gerückt. Im Gegensatz zum klassischen STR-Profilung durch Fragmentlängenanalyse, wo in den nächsten Jahren kaum größere Entwicklungssprünge zu erwarten sind, gibt es beim MPS enormes Entwicklungspotenzial. MPS-Genotypisierungsverfahren können problemlos DNA-Fragmente gleicher Größe analysieren. Die Differenzierung von Allelen mit identischen Fragmentgrößen, aber unter-

schiedlichen Nukleotidsequenzen, verbessert die Auflösung von Mischprofilen und hilft beim Erkennen von Artefakten (z.B. „Stutter-Peaks“). Mit MPS ist es möglich im Multiplexverfahren sehr viele unterschiedliche genetische Marker simultan zu sequenzieren. Zusätzlich zu den STRs können also z.B. Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) oder mitochondriale DNA gleichzeitig mituntersucht werden. Genom-Analysen können aber auch wesentlich tiefer gehen und im Einzelfall sogar die Unterscheidung zwischen eineiigen Zwillingen erlauben (Weber-Lehmann et al. 2014). Allerdings gibt es bei aller Euphorie auch Einschränkungen, welche dem kurzfristigen, breiten Einsatz der aktuellen MPS-Technologien in forensischen Labors entgegenstehen. Dazu zählen u.a. relativ lange, unflexible Arbeitsabläufe, gesteigerte Kosten und das Fehlen umfassender Richtlinien (STR-Nomenklatur; Kriterien für Datenanalysen und Speicherung der enormen Datenmengen) (Parson et al. 2016). Jedenfalls wird die Molekularbiologie auch weiterhin ein innovativer, dynamischer und sich entwickelnder Bereich der Forensik bleiben.

## 7. CONCLUSIO

Die forensische DNA-Analyse ist ein leistungsfähiges Werkzeug, um Sachbeweise zu erbringen, welche tatverdächtige Personen belasten oder entlasten können. Die Ergebnisse der DNA-Analysen sind prinzipiell im Kontext mit allen anderen Sachbeweisen und Indizien zu sehen. Um das DNA-Profil einer Spur hinsichtlich seiner Richtigkeit beurteilen zu können bzw. die Spur vor einem Gericht korrekt interpretieren zu können, ist das Wissen um den Sachverhalt, die Umstände und den Zeitpunkt der Spurensicherung sowie die Prüfung hinsichtlich möglicher Gelegenheitspersonen notwendig (Plausibilitätsprüfung). Selbst einem vermeintlich

eindeutigen DNA-Analyseergebnis sollte also kein unumstößlicher Beweiswert zu kommen, der eine Gesamtschau der vorhandenen be- und entlastenden Indizien entbehrlich macht.

### Quellenangaben

- Alaeddini, R. et al. (2010). *Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA – A review*, *Forensic Science International: Genetics* (4), 148–157.
- Ballantyne, K. N. et al. (2012). *A new future of forensic Y-chromosome analysis: rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages*, *Forensic Science International: Genetics* (2), 208–218.
- Butler, J. M. (2005). *Sample collection, DNA extraction, and DNA quantitation. Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers*, Burlington.
- Butler, J. M./Levin, B. C. (1998). *Forensic applications of mitochondrial DNA*, *Trends in Biotechnology* (16), 158–162.
- Butler, J. M. et al. (2003). *The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA*, *Journal of Forensic Science* (48), 1054–1064.
- Candi, E. et al. (2005). *The cornified envelope: a model of cell death in the skin*, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (6), 328–340.
- Christmann, M. et al. (2003). *Mechanisms of human DNA repair: an update*, *Toxicology* (193), 3–34.
- Cowen, D. A. (2004). *The upper temperature of life – where do we draw the line?*, *Trends in Microbiology* (12), 58–60.
- Esslinger, K. J. et al. (2004). *Using STR analysis to detect human DNA from exploded pipe bomb devices*, *Journal of Forensic Science* (49), 481–484.
- Ewing, M. M. et al. (2016). *Human DNA quantification and sample quality assessment: Developmental validation of the PowerQuant® system*, *Forensic Science International: Genetics* (23), 166–177.
- Feuk, L. et al. (2006). *Structural variation in the human genome*, *Nature Reviews Genetics* (7), 85–97.
- Frippiat, C./Noel, F. (2014). *Efficiency of a novel forensic room-temperature DNA storage medium*, *Forensic Science International: Genetics* (9), 81–84.
- Gill, P. et al. (2006). *DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on the interpretation of mixtures*, *Forensic Science International* (160), 90–101.
- Gill, P. et al. (2010). *Manufacturer contamination of disposable plastic-ware and other reagents – an agreed position statement by ENFSI, SWGDAM and BSAG*, *Forensic Science International: Genetics* (4), 269–270.
- Gill, P. et al. (2015). *Genotyping and interpretation of STR-DNA: Low-template, mixtures and database matches – Twenty years of research and development*, *Forensic Science International: Genetics* (18), 100–117.
- Gjertson, D. W. et al. (2007). *ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing*, *Forensic Science International: Genetics* (1), 223–231.
- Holt, A. et al. (2016). *Developmental validation of the Quantifiler® HP and Trio Kits for human DNA quantification in forensic samples*, *Forensic Science International: Genetics* (21), 145–157.
- Horsman-Hall, K. M. (2009). *Development of STR profiles from firearms and fired cartridge cases*, *Forensic Science International: Genetics* (3), 242–250.
- ISO – International Organization for Standardization (2017). *ISO-Norm 18385*, Online: [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail?csnumber=62341](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=62341) (14.02.2017).
- Jeffreys, A. J. et al. (1985). *Individual-specific 'fingerprints' of human DNA*, *Nature* (316), 76–79.
- Kamphausen, T. et al. (2012). *Good shedder or bad shedder – the influence of skin diseases on forensic DNA analysis from epithelial abrasions*, *International Journal of Legal Medicine* (126), 179–183.
- Lee, S. B. et al. (2010). *Optimizing Storage and Handling of DNA Extracts*, *Forensic Science Review* (22), 131–144.
- Locard, E. (1930). *The analysis of dust traces. part I*, *American Journal of Police Science* (1), 276–298.
- Meakin, G./Jamieson, A. (2013). *DNA transfer: Review and implications for casework*, *Forensic Science International: Genetics* (7), 434–443.
- Neureuther, K. et al. (2014). *Reduction of PCR-amplifiable DNA by ethylene oxide treatment of forensic consumables*, *Forensic Science International: Genetics* (12), 185–191.
- Nielsen, K. M. et al. (2007). *Release and persistence of extracellular DNA in the environment*, *Environmental Biosafety Research* (6), 37–53.

- Nussbaumer, C. (2009). *Neue Methoden der Spurenvoruntersuchung. Die RNA-Typisierung*, *SIAK-Journal – Zeitschrift für Polizeiwissenschaft und polizeiliche Praxis* (3), 62-67, Online: [http://dx.doi.org/10.7396/2009\\_3\\_I](http://dx.doi.org/10.7396/2009_3_I).
- Oorschot, R. A. van et al. (2010). *Forensic trace DNA: a review*, *Investigative Genetics* (1), 1–17.
- Ottens, R. et al. (2013). *Application of direct PCR in forensic casework*, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* (4), 47–48.
- Parson W. et al. (2016). *Massively parallel sequencing of forensic STRs: Considerations of the DNA commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on minimal nomenclature requirements*, *Forensic Science International: Genetics* (22), 54–63.
- Pfeifer, C. et al. (2016). *Analyse von Hautkontaktspuren in der forensischen Genetik unter besonderer Berücksichtigung von Kontamination und Transferszenarien*, *Rechtsmedizin* (26), 537–552.
- Roewer, L. (2009). *Y chromosome STR typing in crime casework*, *Forensic Science, Medicine and Pathology* (5), 77–84.
- Schmid, R./Scheithauer, R. (2010). *Die Österreichische Nationale DNA-Datenbank. Vom Tatort zum nationalen und internationalen DNA-Datenabgleich*, *SIAK-Journal – Zeitschrift für Polizeiwissenschaft und polizeiliche Praxis* (4), 21–31, Online: [http://dx.doi.org/10.7396/2010\\_4\\_C](http://dx.doi.org/10.7396/2010_4_C).
- Schneider, H. et al. (2011). *Hot flakes in cold cases*, *International Journal of Legal Medicine* (125), 543–548.
- Schneider, P. M. et al. (2009). *The German Stain Commission: recommendations for the interpretation of mixed stains*, *International Journal of Legal Medicine* (123), 1–5.
- Schwark, T. et al. (2011). *Reliable genetic identification of burnt human remains*, *Forensic Science International: Genetics* (5), 393–399.
- Shaw, K. et al. (2008). *Comparison of the effects of sterilisation techniques on subsequent DNA profiling*, *International Journal of Legal Medicine* (122), 29–33.
- Sijen, T. (2015). *Molecular approaches for forensic cell type identification: On mRNA, miRNA, DNA methylation and microbial markers*, *Forensic Science International: Genetics* (18), 21–32.
- Tamariz, J. et al. (2006). *The application of ultraviolet irradiation to exogenous sources of DNA in plasticware and water for the amplification of low copy number DNA*, *Journal of Forensic Science* (51), 790–794.
- Tontarski, K. L. et al. (2009). *Chemical enhancement techniques of bloodstain patterns and DNA recovery after fire exposure*, *Journal of Forensic Science* (54), 37–48.
- Tucker, T. et al. (2009). *Massively Parallel Sequencing: The Next Big Thing in Genetic Medicine*, *American Journal of Human Genetics* (85), 142–154.
- Verdon, T. J. et al. (2015). *Preliminary investigation of differential tapelifting for sampling forensically relevant layered deposits*, *Legal Medicine* (17), 553–559.
- Verdon, T. J. et al. (2013). *The influence of substrate on DNA transfer and extraction efficiency*, *Forensic Science International: Genetics* (7), 167–175.
- Virkler, K./Lednev, I. K. (2009). *Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene*, *Forensic Science International* (188), 1–17.
- Watson, J. D./Crick, F. H. (1953). *A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*, *Nature* (171), 737–738.
- Weber-Lehmann, J. et al. (2014). *Finding the needle in the haystack: Differentiating „identical twins“ in paternity testing and forensics by ultra-deep next generation sequencing*, *Forensic Science International: Genetics* (9), 42–46.
- Willerslev, E. et al. (2003). *Diverse plant and animal DNA from Holocene and Pleistocene sedimentary records*, *Science* (300), 792–795.
- Willerslev, E./Cooper, A. (2005). *Ancient DNA*, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* (272), 3–16.
- Willerslev, E. et al. (2007). *Ancient biomolecules from deep ice cores reveal a forested southern Greenland*, *Science* (317), 111–114.