

„CSI entlarvt - So einfach sind forensische DNA-Analysen dann doch nicht.“

Sarah Wölffling und Maria Harthun

Man muss heutzutage nur den Fernseher einschalten, um angeblich zu verstehen wie Täter überführt und verhaftet werden. Laut der populären Serie „CSI“ reicht eine einzige Zentrifuge aus, die an einen Rechner angeschlossen ist, um Personen eindeutig zu identifizieren und ihren momentanen Aufenthaltsort zu bestimmen. Dass Hollywood gerne einmal übertreibt, ist kein Geheimnis. Dass ein forensisches DNA-Analyse Labor nicht ausschließlich mit einer Zentrifuge ausgestattet ist, weiß nicht jeder, wodurch der Mythos erhalten bleibt. Dass Spuren an Tatorten gesammelt und aus Zellen DNA extrahiert wird, ist jedoch keine Erfindung Hollywoods, sondern der erste Schritt, um einen Tathergang zu rekonstruieren und einen Tatverdächtigen auszumachen.

Aber wie kann man mit Hilfe einer DNA-Probe den Täter überführen?

Die DNA ist der Träger der Erbinformation und ordnet sich im Zellkern in Form von Chromosomen an. Die menschlichen Körperzellen besitzen einen diploiden Chromosomensatz (jedes Chromosom liegt in zweifacher Ausführung vor), der durch das Erbgut der Eltern bestimmt wird und dadurch seine Individualität erhält.

Die DNA besteht aus einem Doppelstrang, wobei das Grundgerüst eines DNA-Einzelstranges durch ein Zucker-Phosphat-Rückgrat gebildet wird. An jedes Zuckermolekül ist eine von vier Nukleobasen (A, T, C oder G) gebunden, deren Reihenfolge eine spezifische Sequenz bildet.

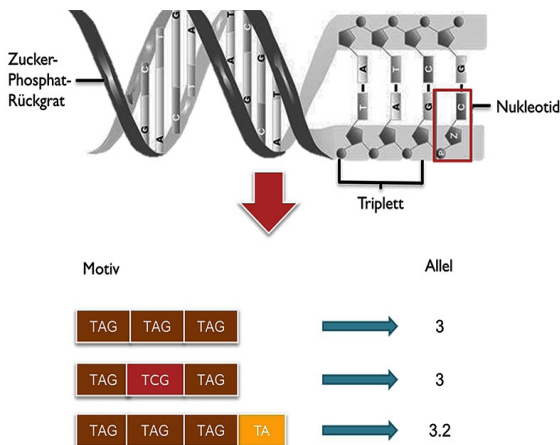


Abbildung 1: Nomenklatur der STR-Systeme, modifiziert nach [1]. Im oberen Teil der Abbildung ist der Aufbau der DNA gezeigt. Der untere Teil der Abbildung verdeutlicht die Namensgebung von STR-Systemen nach ihrer *Repeatanzahl* woraus gleichzeitig die Benennung des Allels folgt. Punktmutationen, die lediglich durch Basenaustausch zustande kommen, haben keinen Einfluss auf das Allel. Deletionen bzw. Insertionen verändern das Allel nachhaltig und führen zu Zwischenallelen (Anzahl der Nukleotide des unvollständigen *Repeats*).

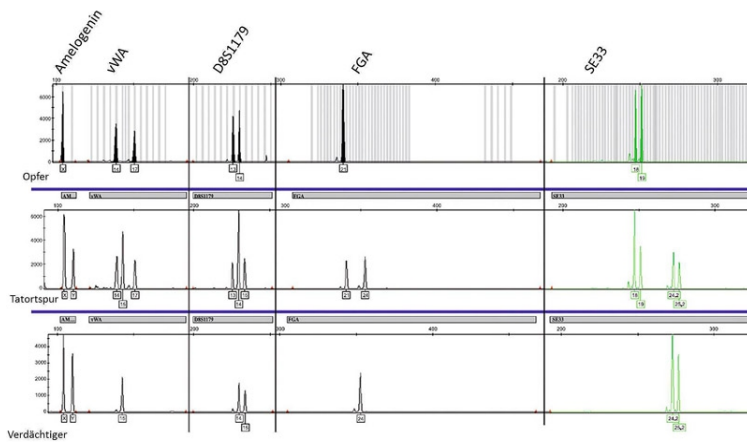
Die DNA enthält nicht-kodierende und kodierende Bereiche. Dabei handelt es sich bei den kodierenden Bereichen um Abschnitte, die genetische Informationen tragen, die vom zellulären Transkriptionsapparat in RNA umgeschrieben und schließlich in Proteine translatiert werden [1]. In nicht-kodierenden Bereichen der DNA, welche keine Informationen zur Proteinsynthese enthalten, treten sogenannte *Short Tandem Repeats* (STRs) auf. Es handelt sich dabei um signifikante Basenabfolgen, die repetitiv bestimmten Mustern folgen. Die sich wiederholende Einheit besteht aus zwei bis sechs Basenpaaren (bp) und tritt in 10- bis 100-facher Kopie auf. Eine Gesamtlänge von 400 bp wird nur selten überschritten. Die Nomenklatur der STR-Systeme richtet sich nach deren Lokalisierung auf den Chromosomen, wobei der Wiederholungsgrad des spezifischen Musters und damit die absolute Länge des STR-Systems das Allel bestimmen (Abbildung 1).

Durch Insertionen oder Deletionen, also Mutationen, die durch Einschub oder Entfernung eines Nukleotids entstehen, wird das Allel verändert. Punktmutationen,

also die Veränderung der Basenabfolge durch Nukleotidaustausch, spielen hingegen in der forensischen DNA-Analyse nur eine untergeordnete Rolle. STR-Analysen beruhen auf Längenpolymorphismen, die sich auf die repetitive Einheit des STR-Systems beziehen und nicht auf den einzelnen Basenaustausch. Allerdings können auch Punktmutationen charakteristisch sein; in diesem Fall betrachtet man *Single-Nucleotide-Polymorphism* (SNP). Die Individualität des Chromosoms und damit der DNA bildet die Grundlage für forensische Fallanalysen. Diese Individualität umfasst natürlich auch die STR-Systeme, sodass bei verschiedenen Personen Variationen von Allellängen in ein und demselben STR-System auftreten können. Das aus diesen Variationen resultierende charakteristische DNA-Profil wird als genetischer Fingerabdruck bezeichnet. Betrachtet man nur ein einziges STR-System, ist die Chance für eine Übereinstimmung zwischen zwei Personen relativ hoch. Je mehr STR-Systeme in die Untersuchung einbezogen werden, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit für eine Überschneidung zwischen den betrachteten Personen. Eine Ausnahme bilden eineiige Zwillinge. Bei ihnen stimmt der genetische Fingerabdruck zu 100 % überein. In Deutschland ist seit 2009 die Amplifizierung von 13 STR-Systemen vorgeschrieben, wobei noch drei weitere STR-Systeme zur Analyse hinzugezogen werden können [2].

Für eine DNA-Analyse wird zunächst die DNA extrahiert. Anschließend wird diese dann mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfältigt und im Folgenden elektrophoretisch analysiert. Um beispielsweise einen Täter nach einer Straftat zu ermitteln, wird DNA aus am Tatort zurück gebliebenen Zellspuren wie z.B. Hautrückständen isoliert und analysiert. Für die DNA-Extraktion aus den Hautzellen wird die Probe mit verschiedenen Lyse-Puffern, Proteinase K und DTT (Dithiothreitol) behandelt. DTT bewirkt das Auflösen der Zellmembran, indem es die Disulfidbrücken in den Membranproteinen spaltet und damit die Konformation der Enzyme destabilisiert. Durch das Enzym Proteinase K werden Zellproteine abgebaut [1]. Nach der DNA-Extraktion werden definierte DNA-Abschnitte mittels PCR exponentiell vervielfältigt. Hierbei dient die DNA als Matrize zur Erstellung von Kopien. Die DNA-Polymerase verlängert die zu kopierenden DNA-Abschnitte an den Primern, indem das Enzym einzelne Nukleotidbausteine komplementär zur Matrize an den Kopiestrang schrittweise anfügt. Primer sind kurze einzelsträngige synthetische DNA-Stücke, die den ausgewählten DNA-Abschnitt begrenzen und als Startermolekül für die DNA-Polymerase dienen. Durch eine bestimmte Abfolge von verschiedenen Temperaturintervallen wird „im Reagenzglas“ die DNA-Replikation der Zelle simuliert. In mehreren Zyklen werden immer wieder die drei Phasen Denaturierung, Anlagerung (*Annealing*) und Elongation durchlaufen. Die Anzahl der Zyklen richtet sich nach der Menge der eingesetzten DNA und liegt im Durchschnitt bei 28 bis 32 Zyklen. Als erstes erfolgt die Denaturierung, bei der die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den komplementären Basen und damit die doppelhelikale Struktur der Proben-DNA aufgehoben werden. An die resultierenden Einzelstränge können sich nachfolgend die Primer anlagern. Im letzten Schritt jedes Zyklus erfolgt die Elongation; hierbei findet die Neusynthese der DNA statt [1]. Verschiedene Firmen bieten spezielle Multiplex-Kits [3] an, die eine Amplifizierung von mehreren STR-Systemen durch die PCR gleichzeitig erlauben. Hierbei werden mehrere Primer eingesetzt, die unterschiedliche STR-Systeme begrenzen. Für die spätere Differenzierung der amplifizierten STR-Systeme sind die Primer mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. In der Regel werden die DNA-Fragmente mit Hilfe der Kapillarelektrophorese aufgetrennt und analysiert. In wässriger Lösung ist die DNA negativ geladen. Diese Eigenschaft wird hierfür ausgenutzt. Das PCR-Produkt wird in die Kapillare aufgenommen. Durch den Anschluss an einen Stromkreis bewegen sich die Fragmente durch die Kapillare in Richtung Anode (Pluspol). Ausschlaggebend für die Wanderungsgeschwindigkeit ist die Fragmentlänge. Je größer ein Fragment ist, desto

langsamer bewegt es sich durch die Kapillare. Durch die fluoreszenzmarkierten Primer werden die Fragmente über eine Detektorzelle als Signale (Fluoreszenz, Fragmentlänge, Intensität, etc.) registriert. Diese Signale werden direkt von einer geeigneten Analysesoftware ausgewertet und in Elektropherogrammen dargestellt (Abbildung 2). Das erhaltene Pherogramm gibt nun Auskunft über das STR-Profil des Probanden.



In Abbildung 2 dargestellt sind die Elektropherogramme einer Mischspurprobe (Tatortspur) sowie eine Probe des Opfers und des Tatverdächtigen (Verdächtiger). Anhand dieser zwei Spuren konnten die STR-Systeme der Mischspur dem Opfer zugeordnet werden. Jedoch ist eine eindeutige Zuordnung der STR-Systeme des Täters nicht möglich. Es kann nur festgestellt werden, dass es sich bei dem Täter um einen Mann handeln muss, da in der Mischspur im STR-System Amelogenin sowohl X- als auch Y- Allel auftreten, und eine Frau das Opfer war. Das System Amelogenin klassifiziert männliche und weibliche Individuen in dem es ein STR-System begutachtet, welches unterschiedliche Längen auf dem X und Y Chromosom aufweist.

Abbildung 2: Beispielelektropherogramme [2]. Das obere Elektropherogramm zeigt das STR-Profil des Opfers. Darunter ist die Tatortspur (Mischspur aus Täter- und Opfer-DNA) abgebildet. Bei dieser ist deutlich zu erkennen, dass durchgängig mehr als zwei Peaks vorhanden sind (normal ein bis zwei Peaks wenn es sich um eine Person handelt). Das untere Elektropherogramm zeigt das STR-Profil des Tatverdächtigen. Anhand der STR-Profile lässt sich darauf schließen, dass der Tatverdächtige als Täter infrage kommt.

Um den Täter näher zu identifizieren, ist eine erneute Untersuchung der Y-chromosomalen STR-Systeme sinnvoll. Hierbei werden nur die „männlichen“ STR-Systeme getestet, welche auf dem Y-Chromosom lokalisiert sind. Dennoch grenzt dieses Ergebnis den Täter nicht zu 100% ein. Aufgrund der Vererbungsregeln bezüglich des Y-Chromosoms (ausschließlich paternal) kommen Vater, Bruder, Onkel und Großvater des eigentlichen Täters ebenso infrage. Trotzdem lässt sich der Täterkreis anhand dieses Ergebnisses eingrenzen und mit Hilfe der DNA-Analysedatei des Bundeskriminalamts (BKA) eventuell ausfindig machen. Diese Datenbank enthält STR-Profile von straffällig gewordenen Personen.

In anthropologischen und populationsgenetischen Studien, in denen ebenfalls STR-Analysen zum Einsatz kommen, setzt man sich aktuell mit Y- und X-STR Systemen auseinander. Des Weiteren werden immer mehr die eingangs erwähnten SNP-Systeme entwickelt und genutzt, um ethnische Gruppen zu identifizieren. Vor allem mitochondriale SNPs (mtSNP), die nur maternal vererbt werden, spielen dabei eine wichtige Rolle. Anhand der begrenzenden Aussagekraft der STR-Analysen ist es nicht, wie im Film dargestellt, möglich, Täter binnen Sekunden zu überführen. Ebenso sind wesentlich mehr Methoden und Ausrüstung nötig, um eine DNA-Spur erfolgreich auszuwerten. Auch wenn bei „CSI“ Täter in kürzester Zeit überführt werden, dauert es in der Realität wesentlich länger und ist mit weitaus mehr Arbeitsaufwand verbunden.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Biochemie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald verfasst (s. Woche 23).</p> <p>Die Autorinnen, Sarah Wölffling und Maria Harthun, sind Studentinnen im Masterstudiengang Biochemie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald</p> <p>(E-Mail: sarah.woelffling@stud.uni-greifswald.de und kh123738@uni-greifswald.de).</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Sabine Müller (E-Mail: smueller@uni-greifswald.de).</p>	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Was bewirkt DTT bei der DNA-Extraktion aus Hautzellen?</p>

Literatur:

[1] Herrmann, B.; Saternus, K.-S. (Hrsg.) (2007): *Biologische Spurenkunde Band 1 – Kriminalbiologie*. 1. Auflage: Springer-Verlag Berlin Heidelberg

[2] Dettmeyer, R.; Verhoff, M. (2011): *Rechtsmedizin*. Springer Medizin Verlag Heidelberg

[3] R. Del Bo, G. P. Comi, R. Giorda, M. Crimi, F. Locatelli, F. Martinelli-Boneschi, U. Pozzoli, E. Castelli, N. Bresolin, G. Scarlato, *J Neurol* **2003**, 250, 688-692. [3] <http://www.cstl.nist.gov/strbase/multiplx.htm> (Stand: 13.12.2012)