



*in Verbindung mit der*  
**Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin**  
*sowie der*  
**Spurenkommission**  
der gemeinsamen Kommission  
rechtsmedizinischer und kriminaltechnischer Institute



**20./22. Februar 2014**

**Veranstaltungsort:  
Congress Innsbruck**

[www.r-km.de/spurenworkshop2014](http://www.r-km.de/spurenworkshop2014)

## Anwendertreffen 2014

Donnerstag, 20.02.2014



### Forensische Biostatistik

eine Fortbildungsveranstaltung der Spurenkommission

9:00 - 11:00 und 11:20 - 13:00 Uhr

Raum Brüssel (EG)

Teilnahmegebühr: 50 Euro / Person



### Future Trends in Forensic DNA Technology

14:00 - 17:30 Uhr

Raum Brüssel (EG)

Kontakt: [Kathleen.Polten@LifeTech.com](mailto:Kathleen.Polten@LifeTech.com)

Freitag, 21.02.2014



### Usermeeting

9:00 - 12:00 Uhr

Raum Innsbruck (2. OG)

Kontakt: [Nicole.Siffing@Promega.com](mailto:Nicole.Siffing@Promega.com)



### Brunch-Seminar

9:00 - 12:15 Uhr

Raum Brüssel (EG)

Kontakt: [Anke.Prochnow@qiagen.com](mailto:Anke.Prochnow@qiagen.com)



9:30 - 12:00 Uhr

Raum Strassburg II (EG)

Kontakt: [PValk@illumina.com](mailto:PValk@illumina.com)



### Spurensuche mit Licht

9:00 - 12:00 Uhr

Raum Strassburg I (EG)

Kontakt: [Alexander.Jochum@lumatec.com](mailto:Alexander.Jochum@lumatec.com)

## Herzlich willkommen in Innsbruck

### Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

seien Sie herzlich willkommen zum 34. Spurenworkshop im Jahr 2014 in Innsbruck. Wir freuen uns sehr, Sie in Innsbruck begrüßen zu dürfen!

Die Tagung findet heuer im Congress Innsbruck statt, das einigen von Ihnen sicher noch von der Tagung "DNA in Forensics 2006" in positiver Erinnerung ist.

Wie gewohnt ist am Donnerstagnachmittag und am Freitagvormittag Raum für die Anwendertreffen der Firmen, der wissenschaftliche Teil und die Präsentation der Ringversuchsergebnisse füllen den Freitagnachmittag und den Samstagvormittag aus.

Zu einer "Get together party" mit Livekonzert treffen wir uns am Donnerstagabend im Treibhaus Keller "unterm Volksgarten".



Den Vorteil der zentralen Lage und der kurzen Wege des Congress Innsbruck werden wir auch für unsere gemeinsame Abendveranstaltung am Freitag nutzen, wo wir uns in der historischen Dogana zu einem Galadinner mit DJ treffen werden.

Innsbruck bietet ein reichhaltiges kulturelles und sportliches Angebot für unsere Teilnehmer und Begleitpersonen und hat eine reizvolle Umgebung, die zu kleinen Ausflügen einlädt.

Richard Scheithauer und MitarbeiterInnen

**Institut für Gerichtliche Medizin**  
**Medizinische Universität Innsbruck**  
Müllerstraße 44  
A-6020 Innsbruck

### Kontakt

Sekretariat: Brigitte Knapp  
Telefon +43 512 9003-70600  
E-mail [gmi@i-med.ac.at](mailto:gmi@i-med.ac.at)

**Wissenschaftliche Leitung**  
Walther Parson

**Organisatorische Leitung**  
Martin Steinlechner

## Wissenschaftliches Programm

Freitag, 21.02.2014

Zeit	Vortrag
13:00 Uhr	<p><b>Begrüßung:</b></p> <p><b>Prof. Dr. med. Richard Scheithauer</b> Direktor des Instituts für Gerichtliche Medizin, Medizinische Universität Innsbruck</p> <p><b>Prof. Dr. med. Thomas Bajanowski</b> Präsident der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin</p> <p><b>Prof. Dr. rer. nat. Peter Schneider</b> Vorsitzender der Spurenkommission der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin</p>
	<p><b>Wissenschaftliches Programm</b></p> <p><b>Vorsitz:</b> Jeanett Edelmann und Peter Schneider</p>
13:30 Uhr	<p><b>Die Steuerungsgruppe „DNA-Analytik und -Datenbank“</b> <u>M. Eckert</u> Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, Wiesbaden, Deutschland</p>
13:42 Uhr	<p><b>Simulation „familial searching“ – Ein empirisches Experiment</b> <u>S. Willuweit</u>, L. Roewer Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und forensische Wissenschaften, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Deutschland</p>
13:54 Uhr	<p><b>Der Forensische DNA-Sachverständige im Spannungsfeld zwischen Polizei und Justiz</b> N. Dohmen, B. Langen, S. Dziallas, <u>H. Schneider</u> Hessisches Landeskriminalamt, FG 63, Wiesbaden, Deutschland</p>
14:06 Uhr	<p><b>Sicherung von Zellmaterialien an komplexen Asservaten</b> <u>A. Heinrich</u>, T. Zaspel, J. Apsel, C. Eckardt, B. Rolf Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Deutschland</p>
14:18 Uhr	<p><b>Hautkontaktspuren an Werkzeuggriffen: Entdecke die Möglichkeiten</b> <u>C. M. Pfeifer</u>, G. Kulstein, E. Miltner, P. Wiegand Institut für Rechtsmedizin Ulm, Deutschland</p>
14:30 Uhr	<p><b>Fingernägel zur molekulargenetischen Identifizierung bei längerer Leichenliegezeit</b> <u>L. Wienhues</u>, J. Naue, D. Geisenberger, T. Sängler, U. Schmidt Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Freiburg, Deutschland</p>
14:42 Uhr	<p><b>Die neue Generation forensischer Y-STR Kits im Praxistest – Ergebnisse aus einem globalen populationsgenetischen Projekt und der forensischen Spurenanalytik</b> <u>J. Purps</u><sup>1</sup>, S. Siegert<sup>2</sup>, M. Nagy<sup>1</sup>, M. Nothnagel<sup>2</sup>, L. Roewer<sup>1</sup> <sup>1</sup> Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin <sup>2</sup> Cologne Center for Genomics, Universität zu Köln, Deutschland</p>
14:54 Uhr	<p><b>Kaffeepause</b></p>

## Wissenschaftliches Programm

**Freitag, 21.02.2014**

Zeit	Vortrag
	<b>Vorsitz:</b> Sabine Lutz-Bonengel und Franz Neuhuber
15:25 Uhr	<p><b>Validierung von zwei hundespezifischen STR Multiplexen entsprechend den ISFG Richtlinien zur Analyse nichthumaner DNA</b>  <u>B. Berger</u><sup>1</sup>, C. Berger<sup>1</sup>, W. Hecht<sup>2</sup>, A. Hellmann<sup>3</sup>, U. Rohleder<sup>3</sup>, U. Schleenbecker<sup>3</sup>, W. Parson<sup>1,4</sup></p> <p><sup>1</sup> Institut für Gerichtliche Medizin der Medizinischen Universität Innsbruck, Österreich  <sup>2</sup> Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, Wiesbaden, Deutschland  <sup>3</sup> Institut für Veterinär-Pathologie, Justus-Liebig-Universität Giessen, Deutschland  <sup>4</sup> Penn State Eberly College of Science, University Park, PA, USA</p>
15:37 Uhr	<p><b>Forschungsprojekt zur Individualisierung von Katzen in der Forensik</b>  <u>N. Schury</u><sup>1</sup>, A. Hellmann<sup>2</sup>, U. Schleenbecker<sup>2</sup></p> <p><sup>1</sup> Johannes Gutenberg-Universität, Molekulargenetik am Institut für Rechtsmedizin der Universitätsmedizin, Mainz, Deutschland  <sup>2</sup> Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, KT32, Wiesbaden, Deutschland</p>
15:49 Uhr	<p><b>Etablierung und Validierung einer STR-Multiplex für Cannabis</b>  L. Valverde<sup>1,2</sup>, <u>C. Lischka</u><sup>1</sup>, M. Schürenkamp<sup>1</sup>, E. de Meijer<sup>3</sup>, S. Köhnemann<sup>1</sup>, M. Venne-  mann<sup>1</sup>, H. Pfeiffer<sup>1</sup></p> <p><sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland  <sup>2</sup> BIOMiCs Research Group, Lascazaray Research Center, University of the Basque Country UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz, Spain; <sup>3</sup> GW Pharmaceuticals, Great Britain</p>
16:01 Uhr	<p><b>Die Entwicklung neuer Lösungen in der forensischen Genetik durch die Verwendung von Next Generation Sequenzierung</b>  <u>O. Goldenberg</u>, C. Davis, K. Stephens, N. Oldroyd, J. Varlaro, and C.L. Holt</p> <p>illumina GmbH, München, Deutsche Niederlassung</p>
16:13 Uhr	<p><b>Unterscheidung von eineiigen Zwillingen mit Hilfe von Next Generation Sequencing</b>  <u>B. Rolf</u></p> <p>Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Deutschland</p>
16:25 Uhr	<p><b>Zur Sequenzierung vollständiger mitochondrialer Genome aus Haarschäften</b>  <u>W. Parson</u><sup>1,2</sup>, G. Huber<sup>1</sup>, A.W. Röck<sup>1</sup>, C. Strobl<sup>1</sup></p> <p><sup>1</sup> Institut für Gerichtliche Medizin, Medizinische Universität Innsbruck, Österreich  <sup>2</sup> Penn State Eberly College of Science, University Park, PA, USA</p>
16:37 Uhr	<p><b>Auswertung und Ergebnisse des Knochenringversuches 2012</b>  <u>U.-D. Immel</u><sup>1</sup>, S. Lutz-Bonengel<sup>2</sup>, R. Lessig<sup>1</sup></p> <p><sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Martin-Luther-Universität Halle, Halle (Saale), Deutschland  <sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Deutschland</p>
16:49 Uhr	<b>Kurze Pause</b>
17:00 – 18:30 Uhr	<p><b>Ergebnisse der GEDNAP-Ringversuche 46 und 47</b>  <u>C. Hohoff</u>, K. Schnöink, B. Brinkmann</p> <p>Institut für Forensische Genetik GmbH, Münster, Deutschland</p>
19:30 Uhr	Einlass zur <b>Abendveranstaltung</b> (Beginn 20:00 Uhr)

## Wissenschaftliches Programm

Samstag, 22.02.2014

Zeit	Vortrag
	<b>Vorsitz:</b> Marion Nagy und Rüdiger Lessig
09:00 Uhr	<b>Genetische Analyse beim Plötzlichen Kindstod: Bedeutung mitochondrialer Polymorphismen</b> <u>J. Steinhard</u> , S. Schumann, S. Köhnemann, M. Schürenkamp, M. Vennemann, H. Pfeiffer Institut für Rechtsmedizin, Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Deutschland
09:12 Uhr	<b>Genetische Analyse beim Plötzlichen Kindstod – Teil II: Das Hannoveraner Kollektiv</b> K. Lärer <sup>1</sup> , <u>M. Vennemann</u> <sup>1,2</sup> , T. Rothämel <sup>1</sup> , M. Klintschar <sup>1</sup> <sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover, Deutschland <sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland
09:24 Uhr	<b>Estimating the age of a bloodstain using RNA markers</b> <u>L. Böhme</u> , D. Zubakov, M. Kayser Erasmus MC University Medical Center Rotterdam, Forensic Molecular Biology, Nederland
09:36 Uhr	<b>Buschfleisch in der Schweiz!?</b> <u>N. V. Morf</u> <sup>1</sup> , K. L. Wood <sup>2</sup> , R. Köppel <sup>3</sup> , N. Felderer <sup>3</sup> , M. Daniels <sup>3</sup> , B. Tenger <sup>2</sup> , A. Kratzer <sup>1</sup> <sup>1</sup> Universität Zürich, Institut für Rechtsmedizin Zürich, Schweiz <sup>2</sup> Tengwood Organisation, Wallisellen, Schweiz <sup>3</sup> Kantonales Labor Zürich, Schweiz
09:48 Uhr	<b>Sekretifizierung anhand von DNA-Methylierungsmustern</b> <u>J. Teschner</u> , M. Nagy Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland
10:00 Uhr	<b>Entwicklung und Evaluation von real-time immuno-PCR Verfahren zu Identifizierung von Speichel-, Urin-, Blut- und Sperma</b> <u>D. Kazdal</u> , K. Bender, R. Urban Institut für Rechtsmedizin Mainz, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Deutschland
10:12 Uhr	<b>Co-Extraktion und Analyse von DNA und RNA aus biologischen Spuren im Schußwaffeninneren zur Opferindividualisierung mit simultaner Gewebetypisierung</b> C. Lux <sup>1</sup> , C. Schyma <sup>1,2</sup> , B. Madea <sup>1</sup> , <u>C. Courts</u> <sup>1</sup> <sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Universität Bonn, Deutschland <sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Universität Bern, Schweiz
10:24 Uhr	<b>Hotspots und postmortem damage – Zur Problematik der mitochondrialen DNA-Sequenzierung bei der Analyse von Brandknochen</b> <u>J. Zander</u> , M. Tsokos, M. Nagy Abteilung für Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

## Wissenschaftliches Programm

**Samstag, 22.02.2014**

Zeit	Vortrag
10:36 Uhr	<p><b>Vergleich von zwei verschiedenen Silica-basierenden Extraktionsmethoden für die Isolierung von DNS aus Knochen und Zähnen.</b>  <u>J. Rothe</u>, M. Nagy                      Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland</p>
10:48 Uhr	<p><b>Preliminary results of the Collaborative exercise on DNA Typing of Bone samples</b>  <u>Vanek D.</u><sup>1</sup>, Dubska J.<sup>2</sup>  <sup>1</sup>CharlesUniversity in Prague, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic  <sup>2</sup>Forensic DNA Service, Prague, Czech Republic</p>
11:00 Uhr	<p><b>Kaffeepause</b></p>
	<p><b>Vorsitz:</b> Katja Anslinger und Peter Wiegand</p>
11:30 Uhr	<p><b>Die softwaregestützte Mischspurenbegutachtung</b>  <u>S. Willuweit</u>, P. Entz, P. Otremba, M. Nagy                      Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und forensische Wissenschaften, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Deutschland</p>
11:42 Uhr	<p><b>Datenbankrecherche von Mischspuren</b>  <u>U. Stiehm</u>, B. Rolf                      Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Deutschland</p>
11:54 Uhr	<p><b>Auswertung der Befragung zur Analyse und Beurteilung von Mischspuren</b>  <u>J. Sanft</u><sup>1</sup>, K. Anslinger<sup>2</sup>, U-D. Immel<sup>3</sup>  <sup>1</sup>Institut für Rechtsmedizin Jena, Fürstengraben 23, 07743 Jena  <sup>2</sup>Institut für Rechtsmedizin München, Nußbaumstraße 26, 80336 München, Deutschland  <sup>3</sup>Institut für Rechtsmedizin Halle, Franzosenweg 1, 06112 Halle/Saale, Deutschland</p>
12:06 Uhr	<p><b>Entwicklung eines innovativen forensischen DNA-Quantifizierungs- und Evaluierungssystems:</b>  <b>Quantifiler®Trio und Quantifiler® Human PLUS DNA Quantification Kit</b>  <u>G. Weichhold</u>, Life Technologies GmbH, Darmstadt, Deutschland</p>
12:18 Uhr	<p><b>Don't wait - Just GO! Neuste Entwicklungen zur direkten Amplifizierung von Referenzproben und zum erweiterten CODIS/ESS Format</b>  <u>A. Prochnow</u>, B. Alsdorf, M. Breitbach, L. Bochmann, D. Müller, M. Scherer                      QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland</p>
12:30 Uhr	<p><b>Amplicon Rx™: effiziente Post-PCR Aufreinigung von Multiplex-Reaktionen.</b>  <u>B. Siebertz</u><sup>1</sup>, U. Schacker<sup>1</sup>, A. Sinelnikov<sup>2</sup>, K. Reich<sup>2</sup>  <sup>1</sup>Galantos Genetics GmbH, Universitätscampus Mainz, Deutschland  <sup>2</sup>Independent Forensics, 500 Waters Edge Suite 210, Lombard, Illinois 60148, USA</p>
12:42 Uhr	<p><b>Die Crux mit der Stichprobe</b>  <u>F. Götz</u>, Qualitytype GmbH, Moritzburger Weg 67, 01109 Dresden, Deutschland</p>
12:54 Uhr	<p><b>Schlussworte und anschl. Abschiedsimbiss</b></p>

## **Die Steuerungsgruppe "DNA-Analytik und -Datenbank"**

M. Eckert

Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, Wiesbaden, Deutschland

Die forensische DNA-Analyse ist in vielen Bereichen ständigen Änderungen unterworfen. Diese Änderungen müssen auch auf die Funktionsweise der Deutschen DNA-Analysedatei übertragen werden. Um eine möglichst effektive Schnittstelle zwischen Analytik und Datenbank zu schaffen, wurde vor einiger Zeit die Steuerungsgruppe "DNA-Analytik und -Datenbank" eingerichtet. Dieser Beitrag fasst die bisherigen Arbeiten der Steuerungsgruppe zusammen, erläutert die Beschlusslage in den relevanten polizeilichen Gremien und gibt einen Ausblick auf zukünftige Anpassungen hinsichtlich der Erweiterung des Europäischen Standards und der Kontaminationserkennung.

## **Simulation „familial searching“ – Ein empirisches Experiment**

S. Willuweit, L. Roewer

Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und forensische Wissenschaften, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

Auch in Deutschland gibt es Forderungen bei schweren Straftaten eine indirekte DNA-Identifizierung von möglichen Straftätern über einen Verwandtenabgleich durchzuführen. Dazu würde ein naher Treffer (im Sprachgebrauch des Koalitionsvertrages: Beinahetreffer) zu einem engen Verwandten des Tatverdächtigen dienen, mit dessen Hilfe eben dieser Tatverdächtige identifiziert werden soll. Diese Methode wurde seit der ersten Anwendung in UK als „familial searching“ bekannt. Neben den juristischen Problemen ergeben sich auch aus wissenschaftlicher und gutachterlicher Sicht Fragen, wie zum Beispiel: Unter welchen Bedingungen ist „familial searching“ in Datensätzen aus autosomalen Genotypen a) möglich, b) machbar und c) eindeutig? Und d) lässt sich ein statistische Maß des zu erwartenden Fehlers finden?

Ausgehend von theoretischen Modellen auf Grundlage bekannter populationsgenetischer Zusammenhänge werden und wurden diese Fragen bereits diskutiert. In dieser Präsentation stellen wir die dort gewonnen Antworten einer empirischen Simulation von Genotypdaten mit resultierenden Zufallsdatenbanken gegenüber. Es sollen so Möglichkeiten und Begrenzungen des „familial searching“ aufgezeigt und belegt werden.



## Der Forensische DNA-Sachverständige im Spannungsfeld zwischen Polizei und Justiz

N. Dohmen, B. Langen, S. Dziallas, H. Schneider  
Hessisches Landeskriminalamt, FG 63, Wiesbaden, Deutschland

Der Vortrag beschreibt komplexe Spurenfälle (Kapitalverbrechen), bei denen die DNA-Analysen lediglich schwache Hinweise, aber keine eindeutigen Beweise für die "Täterschaft" lieferten.

Die Fallbeispiele belegen deutlich die schwierige Position der DNA-Sachverständigen, die häufig zwischen sinnvollen Untersuchungsansätzen und den immer wieder zu beobachtenden „Rundumschlägen“ der auftraggebenden Dienststellen („alles und jedes untersuchen“) priorisieren müssen.

Besonderes Augenmerk wird auf die Einschätzung der Tatrelevanz der Spuren und die gutachterliche Darstellung im Rahmen der Hauptverhandlung gelegt. Gerade im Hinblick auf die Bewertung der Tatrelevanz ist es selbst für erfahrene Forensiker immer wieder erstaunlich, welche große Verantwortung Sachverständige im Gerichtsverfahren tragen. Im ungünstigsten Fall liefert eine unglückliche Formulierung, eine unpräzise oder ungeschickte Hypothesenbildung oder eine Unter- bzw. Überschätzung der Tatrelevanz einer Spur dem Gericht entweder die Vorlage für einen Freispruch, eine langjährige Freiheitsstrafe oder sogar lebenslange Haft in der Urteilsbegründung.

## **Sicherung von Zellmaterialien an komplexen Asservaten**

A. Heinrich, T. Zaspel, J. Apsel, C. Eckardt, B. Rolf  
Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Deutschland

In der forensischen Routine gibt es häufig Asservate, die aufgrund ihrer rauen bzw. porösen Oberfläche die Sicherung von anhaftenden Zellmaterialien erschweren.

Daher haben wir in dieser Studie drei unterschiedliche Klebefolien von zwei Herstellern (Polizeisicherungsband von M&S, sowie die Klebefolie und der Klebestempel von Helling) im Hinblick auf die DNA-Ausbeute und auch hinsichtlich der Handhabung bei der Spurensicherung an Kleidungsstücken und Gebrauchsgegenständen getestet. Unsere Studie zeigt, dass der Klebestempel und die Klebefolie von Helling deutlich höhere DNA-Mengen ergeben. Dabei ist der Stempel besonders für kleinere Flächen geeignet. Die Klebefolie ist durch den variablen Zuschnitt für große Spureenträger das Mittel der Wahl. Das Polizeisicherungsband ist sowohl in der Effizienz als auch in der Handhabung u.E. deutlich schlechter für den Routinegebrauch einsetzbar.

Des Weiteren ist auch Schmuck ein häufiges Asservat, an dem meist die möglichen anhaftenden Zellmaterialien mit Hilfe von Abrieben gesichert werden. Allerdings weisen Schmuckstücke häufig Unebenheiten und Löcher auf, an denen sich gut DNA-haltiges Material ansammeln kann. Mit einem Abrieb sind diese Stellen nur sehr schwer zugänglich. Daher haben wir in unserem Labor für diese Asservate die Ethanolwaschung als Sicherungsmethode validiert, da die Flüssigkeit die unzugänglichen Stellen besser erreichen kann. Unsere Studie zeigt, dass nach der Ethanolwaschung doppelt so viel DNA nachweisbar ist als nach dem Abreiben des Schmuckes. Auch die STR-Ergebnisse zeigen deutlich vollständigere DNA-Profile.

## **Hautkontaktspuren an Werkzeuggriffen: Entdecke die Möglichkeiten**

C. M. Pfeifer, G. Kulstein, E. Miltner, P. Wiegand  
Institut für Rechtsmedizin Ulm, Deutschland

Dass STR-Profile aus geringen DNA-Mengen, wie sie z.B. aus Hautabrieben resultieren können, zur Identifikation von Tatverdächtigen herangezogen werden können, ist heutzutage keine Besonderheit mehr. Bei Gericht ist jedoch eine Einschätzung darüber gefordert, unter welchen Umständen die zellulären Antragsungen einer Person an Kontakt-Oberflächen zu erwarten sind. Besonders die Fragen, ob die DNA eines Tatverdächtigen an einem Werkzeug gefunden werden kann, wenn eine andere Person dieses in der Zwischenzeit benutzt hat, und wie die Nutzung von Handschuhen das verbleibende DNA-Profil am Griff beeinflusst, sind von Bedeutung.

Um für diese Fragen eine Einschätzung geben zu können, wurde eine Studie mit einer Reihe an Werkzeugen durchgeführt, die typischerweise im Rahmen von Wohnungseinbruchsdelikten verwendet werden. Dabei wurde das Werkzeug zunächst von einer ersten Person benutzt und im Anschluss von einer weiteren Person für eine definierte Tätigkeit verwendet. Die Nutzung durch die zweite Person erfolgte entweder ohne oder mit verschiedenen Arten von Handschuhen.

Die STR-Profile der Griff-Abriebe wurden ausgewertet und die Allele den unterschiedlichen Nutzern zugeordnet. Die ersten Ergebnisse zeigen die Tendenz, dass die Haltbarkeit der DNA-Antragung abhängig ist von den Oberflächen der Gegenstände, der ausgeübten Tätigkeit und dem „shedder status“ der Beteiligten. Dieser spielt auch eine entscheidende Rolle bei der Persistenz von DNA-Spuren während der zweiten Nutzung mit Handschuhen.

## **Fingernägel zur molekulargenetischen Identifizierung bei längerer Leichenliegezeit**

L. Wienhues, J. Naue, D. Geisenberger, T. Sängler, U. Schmidt  
Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Freiburg, Deutschland

Im Rahmen einer vergleichenden Studie zur Eignung unterschiedlicher Gewebe für die molekulargenetische Identifizierung bei längerer Leichenliegezeit wurden Fingernägel nach einem modifizierten Protokoll (nach Allouche et al. 2008) aufgearbeitet. Die Extrakte wurden hinsichtlich DNA-Gehalt, DNA-Integrität und Typisierbarkeit untersucht und die erhaltenen STR-Profile anhand eines mathematischen Modells bewertet. Die Ergebnisse wurden mit denjenigen aus Knochen, Zähnen und Weich- bzw. Organen verglichen.

## **Die neue Generation forensischer Y-STR Kits im Praxistest – Ergebnisse aus einem globalen populationsgenetischen Projekt und der forensischen Spurenanalytik**

J. Purps<sup>1</sup>, S. Siegert<sup>2</sup>, M. Nagy<sup>1</sup>, M. Nothnagel<sup>2</sup>, L. Roewer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin

<sup>2</sup>Cologne Center for Genomics, Universität zu Köln, Deutschland

Die Y-chromosomale STR-Analyse gilt neben ihrer Anwendung in der Verwandtschaftsanalyse, als bewährte Untersuchungstechnik in der forensischen Spurenanalytik, insbesondere bei Sexualstraftaten. Hierbei handelt es sich häufig um sogenannte Kontaktsuren im low-copy-number Bereich, gekennzeichnet durch eine meist unbalancierte Mischung aus weiblicher DNA und gering-konzentrierter männlicher DNA. In der konventionellen autosomalen STR-Analyse lässt sich bei dieser Art von Spuren oftmals keine männliche Beimischung erkennen und nur selten ein eindeutiges Profil erstellen. Dagegen lässt sich durch die Analyse derselben Spur mit der Y-spezifischen STR Analyse häufig ein männliches Spurenprofil darstellen.

Beginnend im August 2012 untersuchten wir in unserem Labor etwa 150 Sexualstraftaten mit mehr als 900 Kontaktsuren mit dem Powerplex Y23 System (Promega). Eine statistische Auswertung der Analysen zu dieser Spurenart stellt den Informationsgewinn der Y-STR Analyse zusätzlich zur autosomalen Analyse eindeutig heraus. In 15 Prozent der Fälle ohne autosomal männliche Komponente im Amelogenin in der Mischung wurde ein informatives Y-chromosomales Einzelprofil detektiert. Die hochauflösende Y-STR Analyse dient dabei nicht nur der Täteridentifikation oder dem Ausschluss unbeteiligter Personen, sondern bietet zudem die Möglichkeit Tatzusammenhänge zu erkennen und Serientaten aufzuklären.

Entscheidend für die praktische Nutzung jedes neuen Analyse-Kits ist die Erhebung von Populationsdaten. Innerhalb eines weltweiten Projektes wurden in einem Zeitraum von neun Monaten (9/2012 bis 6/2013) durch 85 Institute in 33 Ländern insgesamt 19.749 Haplotypen für das 23 Locus Format in 130 Populationen generiert und im Dezember 2013 in die YHRD eingestellt. Forensische Parameter wie Haplotypdiversitäten und Diskriminierungsindices zeigen einen klaren Informationsgewinn gegenüber herkömmlichen Kits wie YFiler oder Powerplex Y12. Nicht nur die Differenzierung weitläufiger Verwandter sondern auch die Unterscheidung naher Verwandter rückt mit der neuen Generation forensischer Y-Kits in den Bereich des Möglichen.

## **Validierung von zwei hundespezifischen STR Multiplexen entsprechend den ISFG Richtlinien zur Analyse nichthumaner DNA**

B. Berger<sup>1</sup>, C. Berger<sup>1</sup>, W. Hecht<sup>2</sup>, A. Hellmann<sup>3</sup>, U. Rohleder<sup>3</sup>, U. Schleenbecker<sup>3</sup>, W. Parson<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Institut für Gerichtliche Medizin der Medizinischen Universität Innsbruck, Österreich

<sup>2</sup> Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, Wiesbaden, Deutschland

<sup>3</sup> Institut für Veterinär-Pathologie, Justus-Liebig-Universität Giessen, Deutschland

<sup>4</sup> Penn State Eberly College of Science, University Park, PA, USA

Der Erfolg der forensischen DNA Analytik beruht zu einem beträchtlichen Teil auf der Vereinheitlichung der angewandten Methoden und auf der Einführung von allgemein akzeptierten Qualitätsstandards. Während diese Punkte für humane DNA bereits weitestgehend erfolgreich umgesetzt werden konnten, besteht für die Analyse nichthumaner DNA Nachhohlbedarf. Aus diesem Grund hat die International Society for Forensic Genetics (ISFG) Richtlinien zur Analyse von nichthumaner DNA veröffentlicht. Unter Berücksichtigung aller relevanten Punkte dieser ISFG Empfehlungen haben wir zwei STR-Multiplexen validiert, die zur Individualisierung von Hunden entwickelt worden sind. Es wurden 13 hundespezifische, meist tetramere STR Systeme und zwei geschlechts-spezifische Marker ausgewählt und in zwei Multiplex-Assays zusammengefasst, die sich auf Grund der Fragmentlängen von unter 250 bp für die Analyse von schwierigem Tatortspurenmaterial eignen. Durch die Charakterisierung und Validierung einer caniden Zelllinie wird auch in Zukunft ein erneuerbares und verlässliches Ausgangsmaterial für eine Kontroll-DNA zur Verfügung stehen. Für alle Marker wurde eine auf der Repeat-Anzahl basierende Nomenklatur erstellt. Zu diesem Zweck wurden insgesamt 164 unterschiedliche Allele sequenziert, die zur Herstellung von allelischen Leitern herangezogen wurden. Populationsgenetische Daten von 295 Hunden aus Deutschland und Österreich sollen die Diskriminierungsfähigkeit der ausgewählten STR-Systeme zeigen.

Die allelischen Leitern und die Kontroll-DNA können interessierten Labors zur Verfügung gestellt werden.

## Forschungsprojekt zur Individualisierung von Katzen in der Forensik

N. Schury<sup>1</sup>, A. Hellmann<sup>2</sup>, U. Schleenbecker<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Johannes Gutenberg-Universität, Molekulargenetik am Institut für Rechtsmedizin der Universitätsmedizin, Mainz, Deutschland

<sup>2</sup> Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, KT32, Wiesbaden, Deutschland

Das am weitesten in Deutschland verbreitete Haustier ist die Katze (*Felis catus*). Mit rund 12,3 Mio. Individuen ist statistisch gesehen in 16,5 % der Haushalte eine Katze zu erwarten. An Tatorten werden des Öfteren Katzenhaare sichergestellt, da sich diese durch den engen Kontakt mit dem Menschen, leicht auf die unterschiedlichsten Oberflächen übertragen lassen und somit als sekundäre Übertragungsspuren gelten. Dies macht die Katze zu einem interessanten Untersuchungsobjekt für forensische Fragestellungen.

Mehrere Wissenschaftler haben sich mit dem Katzen genom beschäftigt und eine Vielzahl an STR-Markern identifiziert. Für unseren Untersuchungsansatz setzen wir 14 STR-Marker ein, die überwiegend eine Tetranukleotid-Repeatstruktur aufweisen. Die Geschlechtsidentifizierung erfolgt über den Amelogenin-Marker. Zur gleichzeitigen Amplifikation mehrerer Marker wurden diese in Multiplexen zusammengefasst und durch die Verwendung von DNA aus Speichelproben als auch aus Zellkulturen optimiert. Zurzeit sind ein Pentaplex, zwei Tetraplexe und ein Duplex im Einsatz. Populationsdaten wurden mit Hilfe von Katzen gemischter und reiner Rassen erhoben und eine Nomenklatur der vorhandenen Allele nach Richtlinien der ISFG vorgeschlagen sowie zu jedem Marker eine Allelleiter erstellt.

Die Adaption des Systems auf Minimal Spuren, insbesondere Haarspuren, ist erfolgt (u. a. durch neues Primerdesign). Das vorgestellte System wurde bereits für die Fallbearbeitung eingesetzt und führte zur Identifizierung einer Spur, die eindeutig dem Vergleichsindividuum zugeordnet werden konnte.

Im Falle einer nicht ausreichenden DNA-Menge für die Untersuchung von STR-Markern kann alternativ auf die mitochondriale DNA (mtDNA) zurückgegriffen werden. Eine Individualisierung erfolgt dann zwar nicht, jedoch kann über die hypervariable Region eine Eingruppierung zu einem Haplotypen getroffen werden. Die Kombination zweier Systeme ermöglicht es hierbei, eine differenziertere Zuordnung, in Form von vielen auch selten auftretenden Haplotypen, zu treffen.

Das Untersuchungsspektrum auf nuklearer als auch auf mitochondrialer Ebene ermöglicht es somit bei den Katzen, den größtmöglichen Informationsgehalt aus Minimal Spuren zu erhalten und diesen für eine Individualisierung bzw. eine Annäherung an diese zu nutzen.

## Etablierung und Validierung einer STR-Multiplex für Cannabis

L. Valverde<sup>1,2</sup>, C. Lischka<sup>1</sup>, M. Schürenkamp<sup>1</sup>, E. de Meijer<sup>3</sup>, S. Köhnemann<sup>1</sup>, M. Vennemann<sup>1</sup>, H. Pfeiffer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland

<sup>2</sup> BIOMICs Research Group, Lascaray Research Center, University of the Basque Country UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz, Spain; <sup>3</sup> GW Pharmaceuticals, Great Britain

Cannabis ist die weltweit am häufigsten konsumierte illegale Droge [1]. Die forensischen Untersuchungen beschränken sich im Allgemeinen auf die Feststellung des THC-Gehaltes. Obwohl genetische Methoden zur Identifizierung von Cannabis schon vor vielen Jahren publiziert wurden [2], konnten sich diese in der forensischen Routine nicht durchsetzen.

In dieser Präsentation wird eine STR-Multiplex für Cannabis vorgestellt, die eine Individualisierung von Cannabis erlaubt, so dass verschiedene Delikte miteinander in Verbindung gebracht und illegale Vertriebswege aufgezeigt werden können. Weiterhin wird gezeigt, dass diese Methode zur Abstammungsbegutachtung von Pflanzen geeignet ist.

Die STR-Multiplex für Cannabis umfasst 18 STR-Systeme: 11 bereits bekannte und 7 neue STR-Systeme. Sämtliche Systeme sind umfassend untersucht und eine entsprechende repeatbezogene Nomenklatur liegt vor [3, 4]. Im Rahmen der Validierung wurden die forensischen Parameter Spezifität, Sensitivität und Reproduzierbarkeit geprüft. In einer Reihenuntersuchung wurden 500 Pflanzen der F1-Generation, die aus kontrollierten Kreuzungen stammen, charakterisiert.

Sämtliche Untersuchungen zeigen, dass diese Methode zur Identifikation und Abstammungsbegutachtung von Cannabispflanzen sehr nützlich ist und gute Aussichten hat in der „echten“ Fallarbeit eingesetzt werden zu können.

### References

[1] <http://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2012.html>

[2]. Miller Coyle H, Palmbach T, Juliano N, Ladd C, Lee HC, An overview of DNA methods for the identification and individualization of marijuana, *Croat. Med. J.* 44(3) (2003) 315-21.

[3] Valverde L, Lischka C, Scheiper S, Nedele J, Challis R, de Pancorbo MM, Pfeiffer H, Köhnemann S, Characterization of 15 STR cannabis loci: Nomenclature proposal and SNP-STR haplotypes, *Forensic Sci. Int. Genet.* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.11.001>.

[4] Valverde L, Lischka C, Erlemann S, Schuerenkamp M, de Pancorbo MM, Pfeiffer H, Köhnemann S, Nomenclature proposal and SNPSTR haplotypes for 7 new cannabis STR loci, under publication.

### Acknowledgments

LV received a postdoctoral grant from the Program for Improving the PhDs' Career of the Basque Government, applied through Ikerbasque Foundation.

## **Die Entwicklung neuer Lösungen in der forensischen Genetik durch die Verwendung von Next Generation Sequenzierung**

O. Goldenberg, C. Davis, K. Stephens, N. Oldroyd, J. Varlaro, and C.L. Holt  
Illumina GmbH, München, Deutsche Niederlassung

Next Generation Sequenzierung (NGS) ermöglicht die Sequenzierung eines kompletten menschlichen Genoms in nur einem Tag. Mittels der Sequenzierung ganzer Genome (whole genome sequencing, WGS) können genetische Unterschiede zwischen Individuen aufgelöst werden, was bei der Erforschung von Krankheiten und biologischen Zusammenhängen von großem Wert ist. Im Gegenzug erfordert die maximale Auflösung des Genoms gleichzeitig einen größeren Aufwand bei der Sequenzierung und Interpretation der Ergebnisse. Daher bietet sich in der forensischen Genetik eine einfachere Alternative an, bei der nur gezielt ausgewählte Bereiche des Genoms amplifiziert und anschließend sequenziert werden. Die Fokussierung auf kompakte, forensisch relevante Genabschnitte ermöglicht ein gezieltes Vorgehen bei der Beantwortung forensischer Fragestellungen bei gleichzeitiger Vereinfachung der Auswertung und besserem Schutz der Privatsphäre.

Für die forensische Genetik haben wir ein Amplikon basiertes Panel entwickelt, welches bekannte, in der Routine eingesetzte, sowie zusätzliche Genabschnitte vereint. Die damit verbundene Erweiterung der Auflösung ermöglicht eine deutlich bessere Interpretation von teilweise degradierter und/oder gemischter DNA. Eine besondere Eigenschaft von NGS ist die molekulare Rasterung der Proben, so dass man die Ergebnisse für jedes Allel einzeln betrachten kann. Über die Anzahl an gelesenen Genabschnitten erhält man Daten zum Mischungsverhältnis der Ausgangsprobe. Dieser Ansatz eröffnet neue Möglichkeiten bei der Analyse schwieriger Proben, verbessert die Interpretierbarkeit komplexer Verwandtschaftsverhältnisse und liefert phänotypische Informationen, was bei der Suche nach potentiellen Tätern hilft, für die keine Referenz in der Datenbank vorliegt. In unserem Beitrag stellen wir den Arbeitsablauf, die Auswertung sowie erste Ergebnisse aus forensischen Proben vor.



## Unterscheidung von eineiigen Zwillingen mit Hilfe von Next Generation Sequencing

B. Rolf

Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Deutschland

Eineiige Zwillinge sind per Definition genetisch identisch. Als Spurenleger an einem Tatort oder als Putativväter in einem Abstammungsfall sind sie somit mit den klassischen Methoden der forensischen Genetik nicht unterscheidbar. Aufgrund von theoretischen Überlegungen [Krawczak et al., FSI Genetics 6, 129–130 (2012)] war aber davon auszugehen, dass *die novo* Mutationen, die nach der Spaltung der frühen Blastocyste in zwei Embryonen auftreten, zu minimalsten genetischen Unterschieden führen sollten.

Wir haben mit Hilfe der Next Generation Sequencing Technologie die kompletten Genome von einem eineiigen Zwillingespärchen und dem Kind von einem der beiden Zwillinge mit sehr hoher Abdeckung sequenziert. Nach bioinformatischer Auswertung konnten wir einzelne Mutationen nachweisen, die sogar an das Kind vererbt wurden. Die Befunde wurden mit klassischer Sanger-Sequenzierung bestätigt und belegen, dass Zwillingfälle „lösbar“ sind [Weber-Lehmann et al., FSI Genetics, in press].

## Zur Sequenzierung vollständiger mitochondrialer Genome aus Haarschäften

W. Parson<sup>1,2</sup>, G. Huber<sup>1</sup>, A.W. Röck<sup>1</sup>, C. Strobl<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Gerichtliche Medizin, Medizinische Universität Innsbruck, Österreich

<sup>2</sup> Penn State Eberly College of Science, University Park, PA, USA

Haarschäfte sind häufig beobachtete biologische Spuren an Tatorten. Sie enthalten in aller Regel nicht genügend Kern-DNA, weshalb im Rahmen einer molekulargenetischen Analyse nur mitochondriale (mt)DNA Marker erfolgreiche Ergebnisse liefern. Mit der klassischen Kettenabbruch-Sequenziermethode nach Sanger werden routinemäßig die mitochondriale Kontrollregion oder die darin enthaltenen hypervariable Segmente sowie vereinzelte Marker der Kodierungsregion untersucht. Die daraus gewonnene Sequenzinformation besteht aus ca. 600 bis 1200 Nukleotiden und bietet eine durchschnittliche Diskriminationskraft von ca. 97-99% (in urbanen Populationen).

Die in den letzten Jahren entwickelten neuen Sequenziermethoden (Massive Parallelsequenzierung, „Next Generation Sequencing“) zeichnen sich durch stark erhöhte Sequenzabdeckung und Sequenztiefe aus. Diese Merkmale dienen der forensischen Anwendung im Sinne einer umfangreicheren Untersuchungsmöglichkeit bei gleichbleibender DNA-Ausgangsmenge. Die Diskriminationskraft der Analyse erhöht sich dadurch auf >99%. Im Vortrag wird die Sequenzierung des gesamten mitochondrialen Genoms aus DNA-Extrakten von Haarschäften gezeigt. Damit kann die gesamte genetische Information der mtDNA (entspricht 16.5 kbp) dargestellt und die Diskriminationskraft dieser Analytik maximiert werden.

## **Auswertung und Ergebnisse des Knochenringversuches 2012**

U.-D. Immel<sup>1</sup>, S. Lutz-Bonengel<sup>2</sup>, R. Lessig<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Martin-Luther-Universität Halle, Halle (Saale), Deutschland

<sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Deutschland

Für die Identifizierung von unbekanntem Personen ist oft eine molekulargenetische Untersuchung das Mittel der Wahl. In der Regel handelt es sich aber um Verstorbene welche einen entsprechenden Grad der Autolyse erreicht haben, die eine Verwendung von üblichen Ausgangsmaterialien nicht mehr erlaubt. Knochen sind dabei ein Gewebe, welche noch am längsten eine erfolgreiche Untersuchung ermöglicht. Zur Qualitätskontrolle dieser oft nicht einfachen Untersuchungen existiert bisher kein Ringversuch. Es wurden Knochen von bekannten verstorbenen Personen (Vollkörperspender der Anatomie) unter definierten Bedingungen gelagert und anschließend Proben davon an die Ringversuchsteilnehmer versendet. Die Auswertung der von 33 Teilnehmern des Knochenringversuches eingereichten Ergebnisse für die unterschiedlichen Module (autosomale STRs, Y-STRs, X-STRs, ergänzende autosomale STRs, mtDNA) wird vorgestellt.

## Genetische Analyse beim Plötzlichen Kindstod: Bedeutung mitochondrialer Polymorphismen

J. Steinhard, S. Schumann, S. Köhnemann, M. Schürenkamp, M. Vennemann, H. Pfeiffer  
Institut für Rechtsmedizin, Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Deutschland

Die mitochondriale DNA (mtDNA) kodiert 37 Gene, die unter anderem für Proteine zur ATP-Synthese von zentraler Bedeutung sind. In der Literatur wurde bereits ein Zusammenhang zwischen einer verminderten ATP-Verfügbarkeit und dem Auftreten des Plötzlichen Kindstod (Sudden Death Infant Syndrome; SIDS) diskutiert.

Am Institut für Rechtsmedizin Münster wurden zwei Multiplex-Assays zur Analyse von mtDNA entwickelt. Ein Assay typisiert 32 Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) und ermöglicht eine Diskrimination von 42 verschiedenen mtDNA-Haplogruppen.

Mit Hilfe des zweiten DNA-Assays können 37 bekannte, pathogene Mutationen der mtDNA analysiert werden. Es wurden 290 SIDS-Proben auf ihre Haplogruppe und 37 mögliche pathogene Mutationen untersucht und mit 150 Kontrollproben verglichen.

## Genetische Analyse beim Plötzlichen Kindstod – Teil II: Das Hannoveraner Kollektiv

K. Lärer<sup>1</sup>, M. Vennemann<sup>1,2</sup>, T. Rothämel<sup>1</sup>, M. Klintschar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover, Deutschland

<sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland

Eine verminderte ATP-Versorgung wurde bereits als ein möglicher Auslöser für das Auftreten des plötzlichen Säuglingstodes diskutiert. Da die mitochondriale DNA (mtDNA) mehrere Gene enthält, deren Produkte an der ATP-Synthese beteiligt sind, erscheint ein Zusammenhang zwischen mtDNA-Polymorphismen und SIDS (engl. *sudden infant death syndrome*) möglich. In dieser Studie wurden daher 22 mitochondriale SNPs (engl. *single nucleotide polymorphisms*) analysiert, die insgesamt 25 mitochondriale Haplogruppen definieren.

365 SIDS-Fälle und 409 Kontrollen wurden mit Hilfe eines Multiplex-Assays einer Minisequenzierung unterzogen.

Das vergleichsweise heterogene SIDS-Kollektiv wurde entsprechend der SIDS-relevanten Parameter (Geschlecht, Alter, Todeszeit und Schlafposition) in Untergruppen aufgeteilt. Sechs mitochondriale SNPs konnten identifiziert werden, die statistisch signifikant unterschiedliche Allelfrequenzen zwischen einer SIDS-Untergruppe und der Kontrollgruppe zeigten. In diesem Vortrag werden die erzielten Daten präsentiert und im Vergleich zu dem ebenfalls hier vorgestellten SIDS-Kollektiv aus Münster vergleichend diskutiert.

## Estimating the age of a bloodstain using RNA markers

L. Böhme, D. Zubakov, M. Kayser

Erasmus MC University Medical Center Rotterdam, Forensic Molecular Biology, Nederland

A well-known limitation to most forensic blood evidence analysis is the inability to determine the time when evidence was left at a crime scene. It has been suggested that the rate of RNA degradation is correlated with the age of the sample and thus can be used for forensic purposes to estimate the age of a bloodstain. The objective of this study was to find alternative markers to the ones previously published in order to estimate the age of a bloodstain. Previous studies focused on single genes. Here, expression microarrays were employed to estimate the RNA degradation on a whole genome scale.

Blood was drawn from six individuals at two occasions and two sample sets with different timescales (first up to 210 days, second up to 94 days) were set up using cotton swabs. RNA was isolated from swabs at the various *ex vivo* stages using TRI reagent. Transcripts of previously published markers and markers selected from microarray analysis were evaluated with reverse transcription real-time PCR and data were analyzed by establishing the delta Ct. Statistical analysis was carried out with Excel and SPSS.

RNA was recovered from swabs up to seven months old. Multiple individual genes with different rates of RNA degradation were ascertained with the help of microarray data. Those genes showed a correlation similar to previously published markers. For the first sample set, three selected mRNA markers in combination allow time estimation spanning seven months with the accuracy of  $\pm 36$  days. In this sample set, two markers are also significantly associated with age spanning 0 to 5 days. Univariate  $R^2$  values show that these two markers account for 39.2% and 42% of the variance in five days intervals. For a second sample set spanning 52 days, two selected markers allow time estimation with the accuracy of  $\pm 3$  days.

We present new mRNA markers to be used along with the ones previously published, including two markers that show high resolution in a more narrow time window which may be useful for short time-interval age estimation. Since experiments were set up under laboratory conditions, future studies need to consider different environmental circumstances.

## Buschfleisch in der Schweiz!?

N. V. Morf<sup>1</sup>, K. L. Wood<sup>2</sup>, R. Köppel<sup>3</sup>, N. Felderer<sup>3</sup>, M. Daniels<sup>3</sup>, B. Tenger<sup>2</sup>, A. Kratzer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Zürich, Institut für Rechtsmedizin Zürich, Schweiz

<sup>2</sup>Tengwood Organisation, Wallisellen, Schweiz

<sup>3</sup>Kantonales Labor Zürich, Schweiz

Flughäfen sind wichtige Drehscheiben für den Buschfleischhandel. Unter Buschfleischhandel versteht man die illegale Vermarktung von Wildfleisch (hauptsächlich afrikanischen Ursprungs), dabei handelt es sich oftmals um Fleisch von geschützten Tierarten. Mitunter kann ein Fleischstück durch morphologische Eigenschaften der ursprünglichen Tierart zugeordnet werden, aber für eine exakte taxonomische Bestimmung ist eine genetische Charakterisierung notwendig. Wir validierten eine auf mtDNA basierende Methode, um Tierarten genetisch zu bestimmen und um das Ausmass des Buschfleischhandels in der Schweiz zu ermitteln. Diese Methode besteht aus einer Multiplex-PCR mit acht verschiedenen Primern. Die Primer unterscheiden sich in der Spezifität, das Cytochrom b (cyt b) Gen von verschiedenen Tierklassen (Säugetiere, Fische und Vögel) zu amplifizieren. Nach erfolgreichem PCR kann die erhaltene Sequenz mit cyt b Einträgen einer DNA-Datenbank (NCBI Nucleotide database) verglichen werden, um so die Tierart zu identifizieren. Es wurden 250 Proben von vermeintlichem Buschfleisch analysiert, welche an den Schweizer Flughäfen Zürich und Genf konfisziert wurden. In 97.6% aller Proben war genügend DNA vorhanden, um den Abschnitt des cyt b Gens zu sequenzieren. Zwei Drittel der so analysierten Fleischproben stammten von Wildtieren, wovon ein Drittel CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) gelistet/geschützt sind. Unsere validierte Methode ermöglicht ein praktisches und einfaches Vorgehen um nicht identifizierte Proben einer Tierart zuzuordnen.

## **Sekretifizierung anhand von DNA-Methylierungsmustern**

J. Teschner, M. Nagy

Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

Für die Rekonstruktion eines Tatherganges ist oftmals nicht nur der Erhalt eines DNA-Profiles von Bedeutung, sondern auch die Identifizierung einer Sekretart. Die heute gängigste Methode, welche in den meisten forensischen Laboren angewandt wird, beruht auf Basis einer Immunochromatographie. Diese läuft über eine Antigen-Antikörper-Reaktion auf Proteinbasis. Einen neuen Ansatz für die Sekretifizierung bietet eine DNA-basierte Methode, die Körperflüssigkeiten anhand von sekretspezifischen Methylierungsmustern unterscheidet. DNA-Methylierungen kommen nur am Cytosin von sogenannten CpGs vor, welche auch nur in CpG-Inseln stabil sind. Bei CpG-Inseln handelt es sich um CpG reiche Bereiche, die vor Genen auftreten und dort eine genregulatorische Funktion übernehmen können, das heißt, sie entscheiden über Aktivität und Inaktivität eines Gens. So kann die Untersuchung von CpG-Inseln vor sekretspezifischen Proteinen und die daraus entstehenden Methylierungsmuster zur Differenzierung einzelner Sekrete genutzt werden. Im Gegensatz zum Protein-gekoppelten Sekret-nachweis kann mit Hilfe der DNA-basierten Methode der Sekretifizierung, die genetische Analyse und die Sekretbestimmung in einer einzelnen Spurenabnahme durchgeführt werden.

Es soll der Entwurf einer Multiplex-Reaktion präsentiert werden, der eine Unterscheidung unterschiedlicher Sekrete in einem Reaktionsansatz ermöglicht. Um zwischen verschiedenen Körperflüssigkeiten unterscheiden zu können, wurden nach Datenbankrecherche CpG-Stellen sekretspezifischer Gene untersucht. Zur hier vorliegenden Analyse von Körperflüssigkeiten wird die extrahierte DNA einzelner Sekrete mit einem methylierungssensitiven Restriktionsenzym geschnitten. In der anschließenden PCR werden dann nur die nicht geschnittenen methylierten Abschnitte der DNA amplifiziert und mittels fluoreszenzmarkierten Primern in der Kapillarelektrophorese detektiert.

## **Entwicklung und Evaluation von real-time immuno-PCR Verfahren zu Identifizierung von Speichel-, Urin-, Blut- und Sperma**

D. Kazdal, K. Bender, R. Urban

Institut für Rechtsmedizin Mainz, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Deutschland

Die Immuno-PCR (iPCR) ist eine hochsensible Methode zum Nachweis von Marker-proteinen. Sie basiert auf der ELISA-Technik, jedoch ist hier der Detektions-Antikörper nicht mit einem Enzym gekoppelt, sondern mit einem DNA-Strang (Detektionskonjugat). Durch den Einsatz der real-time PCR lassen sich kleinste Mengen dieser DNA-Markierung und somit auch indirekt des Markerproteins nachweisen. Mit Hilfe der iPCR ist es also möglich die hohe Spezifität eines Immunoassays mit der exponentiellen Amplifikation der PCR zu kombinieren.

Das Verfahren bietet außerdem die Möglichkeit den Überstand aus der Probeninkubation weiter zu verwenden, so dass man dasselbe Probenmaterial beispielsweise für eine STR-Analyse nutzen kann.

Für die Entwicklung von Nachweisverfahren für Speichel, Urin, Blut oder Sperma auf Basis einer iPCR wurden Antikörper gegen die Markerproteine  $\alpha$ -Amylase, Uromodulin, Hämoglobin und Semenogelin gesucht und getestet.

Mit geeigneten Antikörpern wurden Detektionskonjugate hergestellt. Dazu wurden künstliche DNA-Stränge kovalent an die Antikörper gebunden. Die Kopplungsreaktion konnte derart verfeinert werden, dass 0,2 mg Antikörper (ursprünglich > 4 mg) für eine erfolgreiche Kopplung ausreichend waren.

Die Detektionskonjugate wurden flüssigchromatographisch aufgereinigt, bevor sie in iPCR-Verfahren eingesetzt und getestet werden konnten.

Zur Optimierung wurden zunächst verschiedene Fängerantikörper, sowie unterschiedliche Konzentration dieser Fängerantikörper und der Detektionskonjugate getestet. Mit den vielversprechendsten Kombinationen wurden folgende Versuchsreihen zur Evaluierung durchgeführt:

- Bestimmung der Nachweisgrenzen anhand von Verdünnungsreihen
- Test auf Kreuzreaktivität mit entsprechenden tierischen Körperflüssigkeiten und weiteren humanen Körperflüssigkeiten
- Verifizierung anhand mehrerer humaner Proben
- Durchführung einer STR-Typisierung im Anschluss an den Proteinnachweis
- Untersuchung selbsthergestellter Spuren: Frische Abriebe, Witterungsproben, Langzeitproben



## **Co-Extraktion und Analyse von DNA und RNA aus biologischen Spuren im Schußwaffeninneren zur Opferindividualisierung mit simultaner Gewebetypisierung**

C. Lux<sup>1</sup>, C. Schyma<sup>1,2</sup>, B. Madea<sup>1</sup>, C. Courts<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin, Universität Bonn, Deutschland

<sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Universität Bern, Schweiz

Spuren von Backspatter, die nach suizidalen oder homizidalen aufgesetzten oder extremen Nahschüssen aus dem Inneren von Feuerwaffen gesichert werden, können wertvolle forensische Belege darstellen. Erste systematische Untersuchungen der Persistenz und Überdauerungsfähigkeit solcher Spuren, insbesondere von Opfer-DNA im Waffeninneren liegen bereits vor. Ziel dieser Studie war, die Nukleinsäureanalytik für solche Spuren auf RNA auszuweiten, um bei gleichzeitiger Extraktion eine parallele Analyse von DNA zur Individualisierung von Opfern und RNA zur Typisierung von Geweben zu ermöglichen.

Zunächst wurden hierfür geeignete mRNA- und micro-RNA-Kandidaten zur Gewebeidentifikation ausgewählt und mittels quantitativer PCR empirisch validiert. Anhand der Spuren aus experimentellen Schüssen auf ballistische Modelle wurde dann ein Ko-Extraktionsverfahren für DNA und RNA etabliert und die Analysierbarkeit von RNA aus solchen Backspatter-Spuren aufgezeigt. In einer dritten Phase wurden Proben aus Schußwaffen gewonnen, die bei echten Schußdelikten gegen menschliche Ziele eingesetzt worden waren, und mit dem Verfahren analysiert.

In dieser Studie zeigen wir erstmals die Möglichkeit der Ko-Extraktion von DNA und RNA aus Spuren aus dem Waffeninneren auf und demonstrieren die parallele Durchführbarkeit und Aussagenkomplementarität der beiden Analyseverfahren.

## Hotspots und postmortem damage – Zur Problematik der mitochondrialen DNA-Sequenzierung bei der Analyse von Brandknochen

J. Zander, M. Tsokos, M. Nagy

Abteilung für Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

Die Analyse der mitochondrialen DNA ist ein etablierter Bestandteil der forensisch-genetischen Diagnostik. Die hohe Kopienzahl mitochondrialer Genome gewährleistet eine erfolgreiche Amplifikation selbst wenn die nukleare DNA weitgehend degradiert oder limitiert ist.

Nicht nur zu Lebzeiten, sondern auch nach dem Tod eines Lebewesens kann DNA Degradation vorliegen, wobei diese proportional zur Länge der postmortalen Periode ansteigt. Zusätzlich verändern sich durch das Einsetzen der Autolyse sowohl molekulare Zellbestandteile als auch die DNA. Während dieser Zersetzungsprozesse kommt es zur Zerlegung der DNA-Stränge und zum Auftreten von Strukturveränderungen an den Basenpaaren, die zu Reproduktionsfehlern in der PCR führen und damit indirekt Lesefehler bei der Sequenzierungsreaktion hervorrufen. Diese Strukturveränderungen werden als *damage* bezeichnet und können vermehrt an Positionen, wo Punktmutationen im Genom vorkommen, auftreten. Da diese Stellen im Genom besonders aktiv sind und vor allem postmortal hier häufig Veränderungen beobachtet werden, bezeichnet man sie in der *ancient DNA* Forschung auch als *mutational hotspots*. Es wird vermutet, dass diese Bereiche aufgrund der Autolyse nach dem Tod strukturlabil und damit anfälliger für diese Art der DNA-Veränderung sind.

Mehr noch als der zeitliche Faktor der postmortalen Periode beeinflusst allerdings die Umwelt den Erhalt der DNA. Daher treten postmortale Veränderungen gehäuft bei der Untersuchung der mitochondrialen DNA bei Brandleichen auf und zeigen sich durch das Vorliegen von heteroplasmatischen Stellen im Genom.

In der vorliegenden Studie wurden hierzu Brandknochen mithilfe der optimierten mitochondrialen Mini-Mito-Methode nach Eichmann & Parson (2008) untersucht, um einen Überblick über die Häufigkeit solcher auftretender postmortaler Veränderungen in Abhängigkeit von den verschiedenen Verbrennungsgraden zu erhalten.

## **Vergleich von zwei verschiedenen Silica-basierenden Extraktionsmethoden für die Isolierung von DNS aus Knochen und Zähnen.**

J. Rothe, M. Nagy

Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften,  
Charité-Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

Die DNS Extraktion aus Skelettmaterialien ist ein sehr aufwendiges Verfahren bei dem Kleinstmengen an DNS aus einem kompakten Gewebe gewonnen werden sollen. Neben den notwendigen, erhöhten Sicherheitsmaßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen und zusätzlichen Verfahrensschritten wie die Herstellung und Dekalzifizierung des Knochenmehls, ist die DNS Extraktion aus Knochen und Zähnen weiterhin erschwert durch die große Variabilität des Materials. Diese Unterschiede entstehen grundsätzlich durch die verschiedenen Liegezeiten und Umweltbedingungen, die den Grad der Konservierung der DNS sowie auch der Verunreinigung im Wesentlichen bestimmen. Dem gegenüber steht der allgemeine Wunsch der Etablierung einer standardisierten optimalen Extraktionstechnik, welche für alle Skelettmaterialien jeglicher Art eingesetzt werden kann. Wie schon die Vielzahl von publizierten Extraktionsmethoden für Knochen und Zähne vermuten lässt, ist eine solche absolute Methode nur schwer zu entwickeln. Dies wurde auch sehr deutlich während der Etablierung der verschiedenen Extraktionsmethoden in unserem Labor, welche jeweils unterschiedliche Vor- und Nachteile aufzeigten. Hier möchten wir zwei Extraktionstechniken vorstellen, welche sich hauptsächlich durch die Verwendung einer Silica-Membran (Mini Elute Purification Kit, Qiagen) oder Silica beschichteten Eisenkugeln (Investigator Kit, Qiagen) unterscheiden. Obgleich beide Methoden eine Silica-basierende Technologie nutzen, ergeben sich bedeutende Unterschiede bezüglich der extrahierten DNS Menge sowie der erhaltenen Reinheit der Probe. Unsere Analysen zeigen, dass beide Methoden für die DNS Isolierung aus Knochen und Zähnen hervorragend geeignet sind, ihr Einsatz jedoch von der Qualität des vorliegenden Materials abhängig gemacht werden sollte, um bestmögliche Ergebnisse zu erzielen.

## **Preliminary results of the Collaborative exercise on DNA Typing of Bone samples**

Vanek D.<sup>1</sup>, Dubska J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CharlesUniversity in Prague, 2<sup>nd</sup> Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Forensic DNA Service, Prague, Czech Republic

All participants of the Bone Workshop (Prague, Czech Republic, 2012) were able to participate in Collaborative exercise on DNA Typing on Bone samples. Participating laboratories received 2 tubes with bone powder from 2 skeletons of different age (approx. 600 and 100 years) as well as the suggested protocol for DNA extraction. Those preliminary results are compiled from the results we received from 18 laboratories with 11 more still due to submit their results. The presenting author will describe the sample preparation and comparison of different DNA extraction procedures and DNA typing results from participating laboratories including the following data:

- The amount of bone sample used for DNA extraction (in mg)
- Detailed DNA extraction protocol (including elution volume)
- DNA quantitation procedure and results (including sample curve when quantified by RT-PCR)
- PCR cycling protocol including the name of the amplification kit, PCR cycling protocol (number of cycles, PCR enhancers, etc.), name of the thermocycler AND /OR primers used for mtDNA sequencing analysis.
- DNA profiles (STR autosomal/gonosomal) and mtDNA haplotype (differences to rCRS)

Remark: The results are presented on behalf of participating laboratories.

## **Die softwaregestützte Mischspurenbegutachtung**

S. Willuweit, P. Entz, P. Otremba, M. Nagy

Abteilung Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und forensische Wissenschaften, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Deutschland

Es gibt viele Gründe für das stetig anwachsende Volumen an Mischspuren: effektivere DNA-Extraktionsmethoden, sensitivere STR-Multiplex Kits, neue Analysegeräte, weiterentwickelte Auswertesoftware usw. Kurz: eine Mischspur stellt immer häufiger die molekularbiologische Grundlage der Spurenbegutachtung dar.

Ausgehend von einer umfangreichen Evaluation bestehender Methoden und Ansätze wird eine Implementierung der Likelihood-Quotienten-Methode zur softwaregestützte Mischspurenbegutachtung präsentiert. Als Grundlage dafür wird die in unserem Labor durchgeführte Kalibrierung von Drop-In- und Drop-Out-Ereignissen zur empirischen Ableitung von Modellparametern erläutert, sowie auf unseren Ansatz zum Verarbeiten, Validieren und Aktualisieren der dieser Methode zugrunde gelegten Populationsdaten eingegangen. Im Ergebnis, mit besonderem Augenmerk auf die gutachterliche Hypothesenbildung, werden unsere bisherigen Erfahrungen und einige Fallbeispiele zur statistischen Bewertung von Mischspuren (insbesondere bei Spuren im LCN-Bereich) diskutiert. Dabei wird ausblickend auch auf verschiedene Bewertungsmethoden der Signifikanz gebildeter Likelihood-Quotienten eingegangen werden.

## Datenbankrecherche von Mischspuren

U. Stiehm, B. Rolf

Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Deutschland

Die DNA Analysedatei wurde 1989 vom Bundeskriminalamt ins Leben gerufen. Bisher können lediglich Personenmuster und Spurenprofile mit nur einem Verursacher gespeichert werden. Es lassen sich aber Spurenprofile mit bis zu vier Allelen pro Locus recherchieren. Somit können Muster von Spuren, die durch genau zwei Personen verursacht wurden, mit der DNA Datenbank abgeglichen werden.

Da in der Datenbank noch Profile mit 5 oder 8 Merkmalsystemen gespeichert sind, werden im Einzelfall bei der Mischspurenrecherche mehrere Treffer generiert, deren Überprüfung viel Zeit in Anspruch nimmt. Bei diesen Mischungen kann man aber in einigen Fällen anhand der Peakhöhen bereits bestimmte Genotypen ausschließen. Über die Eingabemaske in der Datenbank ist es ebenfalls möglich, die Zahl der unspezifischen Treffer zu minimieren. Dabei ist eine definierte Abfolge der Allele für die entsprechenden Systeme einzuhalten. Der zugrundeliegende Suchalgorithmus und erfolgreiche Mischspurenrecherchen werden anhand von Fallbeispielen präsentiert.

## Auswertung der Befragung zur Analyse und Beurteilung von Mischspuren

J. Sanft<sup>1</sup>, K. Anslinger<sup>2</sup>, U-D. Immel<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Rechtsmedizin Jena, Fürstengraben 23, 07743 Jena

<sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin München, Nußbaumstraße 26, 80336 München, Deutschland

<sup>3</sup> Institut für Rechtsmedizin Halle, Franzosenweg 1, 06112 Halle/Saale, Deutschland

Im Sommer 2013 wurden an alle deutschsprachigen Labore, welche DNA-Spurenuntersuchungen durchführen, Fragebögen zur Analyse und Beurteilung von Mischspuren versandt. Dieser wurde durch Mitglieder der ISFG in Zusammenarbeit mit der Projektgruppe „Biostatistische DNA-Berechnungen“ der LKÄ und des BKA erstellt. Durch die Erhebung sollte eine Übersicht erlangt werden, wie insbesondere Mischspuren in den teilnehmenden Laboren gehandhabt werden. Zum einen sollte festgestellt werden, durch welche Untersuchungen die Ergebnisse erlangt werden und weiterhin auch, wie diese Ergebnisse biostatistisch beurteilt bzw. verbal interpretiert werden.

Die erhobenen Daten sollen der Spurenkommission zur Erstellung von ergänzenden Empfehlungen zur Berechnung und Interpretation von Mischspuren zur Verfügung gestellt werden.

## **Entwicklung eines innovativen forensischen DNA-Quantifizierungs- und Evaluierungssystems: Quantifiler® Trio und Quantifiler® Human PLUS DNA Quantification Kit**

G. Weichhold

Life Technologies GmbH, Darmstadt, Deutschland

Die Quantifizierung forensischer DNA-Proben gehört seit einigen Jahren zum Standard in der forensischen DNA-Analytik. Gering konzentrierte Proben mit zusätzlich problematischem Hintergrund wie Degradierung und Inhibition sind dabei nicht selten.

Während diesem Umstand bei den STR-Kits bereits Rechnung getragen wurde und inhibitionsresistente Puffersysteme sowie in zunehmendem Maße mini STR-Systeme in die Kits implementiert wurden, ist bisher eine entsprechende Adaption im Quantifizierungsbereich ausgeblieben.

Mit Einführung einer neuen Generation von Quantifizierungskits, den Quantifiler® Trio und Quantifiler® Human PLUS DNA Quantification Kits der Firma Life Technologies™, findet eine Anpassung an diese Entwicklung statt. Beide Kits verfügen über ein den aktuellen STR-Kits vergleichbar robustes Puffersystem gegenüber PCR-Inhibition. Darüber hinaus werden durch Verwendung von homogen über das Genom verteilten multicopy Zielsequenzen Sensitivitäten erreicht, die bis in den Subpikogramm-Bereich hineinreichen. Zusätzlich ermöglichen beide Kits eine Aussage über den Grad der Degradation der DNA. Der Quantifiler® Trio DNA Quantification Kit beinhaltet außerdem ein zusätzliches Y-chromosomales Amplikon, was die präzise Bestimmung des Anteils männlicher DNA in Mischspuren erlaubt.

Mit diesem Wissen über die DNA-Proben ausgestattet, kann einfach und sicher die passende STR-Strategie für die nachfolgende Analyse gewählt werden.

In unserer Präsentation werden Daten aus der Validierung gezeigt und die weitergehenden Möglichkeiten von Quantifiler® Trio und Quantifiler® Human PLUS für die Fallarbeit demonstriert.

## Don't wait - Just GO! Neuste Entwicklungen zur direkten Amplifizierung von Referenzproben und zum erweiterten CODIS/ESS Format

A. Prochnow, B. Alsdorf, M. Breitbach, L. Bochmann, D. Müller, M. Scherer  
QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland

Referenzproben sind typischerweise von guter Qualität und verfügen über ausreichend DNA, so dass das Ergebnis der STR Analyse besser abschätzbar ist als bei forensischen Probenmaterialien aus der Fallarbeit. Daher kann die STR Analyse von Referenzproben durch Direktamplifizierung von FTA Stanzungen oder Lysaten von Wangenschleimhautabstrichen rationalisiert werden, womit die DNA Aufreinigung sowie Quantifizierung hinfällig sind.

Basierend auf der Chemie der sehr schnellen und robusten Investigator Plus STR Kits wurden nun STR Produkte für die direkt-PCR entwickelt, die **Investigator GO! Kits**. Diese Assayformate umfassen die gängigen Markersets der CODIS (Investigator IDplex GO!) sowie ESS Systeme (Investigator ESSplex SE GO!), bei denen sowohl Blut als auch Epithelzellen der Wangenschleimhaut auf FTA oder anderen Papier sowie von Wattestäbchen eingesetzt werden können. Je nach Probentyp konnte dabei die PCR Reaktionsgeschwindigkeit auf nur 48 min reduziert werden. Zudem wurde eine neuartige 5 Minuten Lyse bei Raumtemperatur etabliert, so dass das Lysat als PCR Template direkt in die PCR eingesetzt werden kann. Imbalancen oder Dropouts basierend auf seltenen Mutationen in der Primerbindungsstelle von vWA, 16S539 und SE33 wurden durch die Implementierung von neuen SNP-Primern behoben, so dass die Investigator GO! Kits zu sehr ausgewogenen DNA Profilen führen, was sich wiederum in einer erhöhten Durchlaufrate im Labor für alle gängigen Referenzproben widerspiegelt.

Neben Daten aus der Entwicklung der Investigator GO! Kits anhand verschiedener Probentypen, deren Vorteile für die Routineanwendung, sowie Vergleiche zu anderen kommerziellen Lösungen, werden zukünftige Kitkonfigurationen vorgestellt, die auf dem erweiterten CODIS/ESS Markersets basieren.

## **Amplicon Rx™: effiziente Post-PCR Aufreinigung von Multiplex-Reaktionen.**

B. Siebertz<sup>1</sup>, U. Schacker<sup>1</sup>, A. Sinelnikov<sup>2</sup>, K. Reich<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Galantos Genetics GmbH, Universitätscampus Mainz, Deutschland

<sup>2</sup> Independent Forensics, 500 Waters Edge Suite 210, Lombard, Illinois 60148, USA

Drop-out Peaks and Peaks, die kleiner sind als der gesetzte Grenzwert, sind ein allgemein bekanntes Phänomen und immer wieder ein Problem für die forensische DNA-Analyse von Spurenmaterial. Verursacher dieser Effekte kann degradierte DNA sein, eine geringe Ausgangsmenge an DNA, oder verschiedene Inhibitoren, je nach Spurenräger, die die Qualität der Amplifikation in der PCR beeinflussen. Die Aufreinigung der Multiplex-PCR Reaktion dient speziell der Steigerung der elektrokinetischen Injektion der amplifizierten DNA-Fragmente während der Kapillarelektrophorese.

Die gängigen Standard-Protokolle für die Auftragung der Proben auf die Kapillarelektrophorese nutzen nur 4-8% der tatsächlichen PCR-Reaktionen. Die restlichen 92-96% der amplifizierten Fragmente bleiben ungenutzt. Amplicon Rx™ führt eine gezielte Selektionierung der amplifizierten PCR Produkte durch und verwirft den größten Teil der nicht eingebauten Primer, dNTPs und Salze, die ansonsten mit den DNA-Fragmenten um die Aufnahme auf die Kapillarelektrophorese konkurrieren. Das Ergebnis dieses Effekts ist eine 7-20 fache Signalverstärkung der spezifischen DNA-Fragmente.



## Die Crux mit der Stichprobe

F. Götz

Qualitytype GmbH, Moritzburger Weg 67, 01109 Dresden, Deutschland

Allelfrequenzen bilden eine wichtige Grundlage für die Auswertung biostatistischer Fragestellungen im Bereich der Forensik und Abstammungsbegutachtung. Dabei taucht immer wieder die Frage zum minimal erforderlichen Stichprobenumfang für die Allelfrequenzbestimmung auf. Dieses Thema wurde in den vergangenen Jahren in der Literatur kontrovers diskutiert. Erst im Jahr 2013 wurde der minimale Stichprobenumfang zur Veröffentlichung von Allelfrequenzdaten in Journal „Forensic Science International Genetics“ für autosomale Marker auf 500 Probanden angehoben [FSI Gen.7 (2013) 217-220]. Den Einfluss des Stichprobenumfangs auf den Fehler der ermittelten Allelfrequenzen haben wir mit Hilfe von Genotyp-Simulationen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht für fiktive Populationsgrößen analysiert und ausgewertet. Daten, signifikanten Effekte und Schlussfolgerungen im Zusammenhang mit diesem Vorgehen stellen wir in unserem Beitrag ausführlich dar.

## Veranstaltungsorte:

Donnerstag, 20.02.2014 bis 22.02.2014

Erstes Treffen am Donnerstag  
im **TREIBHAUSKELLER**  
"unterm Volksgarten"

"Get together party" mit Livekonzert

Einlass ab 19:45 Uhr

Beginn des Livekonzerts 20:30 Uhr

Angerzellgasse 8, A-6020 Innsbruck

Telefon +43(0)512-572000

<http://www.treibhaus.at/>



*Das Treibhaus befindet sich in der Innenstadt von Innsbruck, von Congress Innsbruck knapp 5 Gehminuten entfernt.*



## CONGRESS INNSBRUCK

Rennweg 3, A-6020 Innsbruck  
(Eingang auf der Innseite!)

**Forensische Biostatistik am Donnerstag und Anwendertreffen  
am Donnerstag und Freitagmorgen**

Räume Brüssel und Strassburg im Erdgeschoss, Raum Innsbruck im 2. Obergeschoss.

## 34. SPURENWORKSHOP

Raum Innsbruck im 2. Obergeschoss

### Begleitende Ausstellung

CASINO-FOYER im 2. Obergeschoss

### Pausencatering am Freitagnachmittag und Samstag

CASINO- und KRISTALL-FOYER im 1. und 2. Obergeschoss

**Galadinner mit DJ** in der "**DOGANA**" einst Opernhaus der Landesfürstin Claudia von Medici und Ballsaal des Wiener Hofes im Erdgeschoss

Einlass ab 19:30 Uhr, Beginn 20:00 Uhr

*kein Dresscode*

## Überblick



## Ansprechpartner vor Ort

**r-km**  
**RIEGGER - KONGRESSMANAGEMENT**

Im Grün 4  
 D-79252 Stegen b. Freiburg  
**Öffnungszeiten Kongressbüro:**  
 Freitag, 21.02.2014 11 - 18:30 Uhr  
 Samstag, 22.02.2014 8:30 - 14:30 Uhr

Telefon: +49 (0)7661/99 0 37  
 Mobil: +49 (0)160/552 552 0  
[riegger@r-km.de](mailto:riegger@r-km.de), [www.r-km.de](http://www.r-km.de)



**Institut für Gerichtliche Medizin**  
**Medizinische Universität Innsbruck**

Müllerstraße 44  
 A-6020 Innsbruck

Sekretariat: Brigitte Knapp  
 Telefon +43 512 9003-70600  
[gmi@i-med.ac.at](mailto:gmi@i-med.ac.at)

## Herzlichen Dank für Ihre Unterstützung

### Begleitende Industrieausstellung

Stand bei Drucklegung

abf diagnostics GmbH, Kranzberg

biotype Diagnostic GmbH, Dresden

Eurofins Medigenomix Forensik, Ebersberg

Galantos Genetics GmbH, Mainz

Hamilton Robotics GmbH, Martinsried

Illumina GmbH Deutschland, München

Life Technologies GmbH, Darmstadt

Lumatec GmbH, Deisenhofen

Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren

Mactech Buncak AG, Duggingen

Optimal Systems Vertriebs-GmbH, Jena

Prionics AG, Schlieren

Promega GmbH, Mannheim

QIAGEN GmbH, Hilden

Qualitype GmbH, Dresden

Zyma Research Europe GmbH, Freiburg i. Br.

applied  
biosystems®  
by *life* technologies™

 Mactech

 QIAGEN®

Außerdem:

SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht ▪ Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart