



35. SPURENWORKSHOP

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

DEUTSCHE GESELLSCHAFT
DGRM
FÜR RECHTSMEDIZIN



gednap
German DNA Profiling



Berlin, 26.-28. Februar 2015

www.spurenworkshop.de

Donnerstag, 26.02.2015



Forensische Biostatistik

eine Fortbildungsveranstaltung der Spurenkommission

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

Hörsaal 3 (Forum 3, EG), Teilnahmegebühr: 50 Euro / Person



Forensic DNA Technology

14:00 - 17:30 Uhr

Hörsaal 3 (Forum 3, EG)

Kontakt: Kathleen.Polten@LifeTech.com

13:00 - 18:00 Uhr

Sitzung der Spurenkommission

Seminarraum 2 (Forum 3, 1. OG)

Freitag, 27.02.2015



User Meeting

9:00 - 12:00 Uhr

Audimax (Forum 3, EG)

Kontakt: Nicole.Siffling@Promega.com



Brunch-Seminar

9:00 - 12:00 Uhr

Hörsaal 3 (Forum 3, EG)

Kontakt: Anke.Prochnow@qiagen.com



User Meeting

9:30 - 12:00 Uhr

Kursraum 1 (Forum 3, 2. OG)

Kontakt: PValk@illumina.com



Spurensuche mit Licht

9:00 - 12:00 Uhr

Seminarraum 2 (Forum 3, 1. OG)

Kontakt: Alexander.Jochum@lumatec.com



Anwenderseminar

9:00 - 12:00 Uhr

Kursraum 2 (Forum 3, 2. OG)

Kontakt: Jlvanovic@mn-net.com



Liebe Kolleginnen und Kollegen,

willkommen in Berlin beim 35. Spurenworkshop. Wir freuen uns sehr, Sie vom 26. bis 28. Februar 2015 als Gäste begrüßen zu dürfen.

Die wissenschaftlichen Veranstaltungen werden an der Charité stattfinden, dem größten Universitätsklinikum Europas, das vor mehr als dreihundert Jahren gegründet wurde.

Für die Tage des Workshops steht uns das Lehrgebäude des Campus Virchow-Klinikum zur Verfügung. Der Donnerstagsvormittag wird mit den Statistikseminaren ausgefüllt sein. Donnerstagnachmittag und Freitagvormittag ist traditionell den Anwendertreffen der Firmen vorbehalten. Auf interessante wissenschaftliche Vorträge sowie die Präsentation der Ringversuchsergebnisse können wir uns am Freitagnachmittag und am Samstagvormittag freuen. Die Industriesausstellung findet im Foyer des Lehrgebäudes statt.

Für das Rahmenprogramm nutzen wir die vielfältigen Angebote, die eine Stadt wie Berlin bietet. Zum „Get together“ am Donnerstagabend treffen wir uns im „Zhou's Five - das größte und modernste Asia Buffet Restaurant Berlins - mit einem einmaligen 50 Meter Buffet. Den Gesellschaftsabend am Freitag werden wir gemeinsam in einem der historischen Wasserwerke Berlins, am Hohenzollerndamm, erleben. Hier verbinden sich künstlerische Darbietungen mit lukullischen Genüssen an festlich gedeckten Tischen. Und danach wird der DJ den Tänzer in Ihnen wecken.



Es lohnt sich, einen Urlaub an die Tagung anzuschließen, um Berlins kulturelles, architektonisches und kulinarisches Potential zu entdecken. Lassen Sie sich überraschen!

Marion Nagy und Lutz Roewer

**Institut für Rechtsmedizin
Charité - Universitätsmedizin Berlin**

Abteilung Forensische Genetik
Augustenburger Platz 1, D-13353 Berlin

Telefon: +49(0)30 450 525032

Fax: +49(0)30 450 525912

Wissenschaftliches Programm

	Freitag, 27.02.2015	
08:00-12:00 Uhr	Sitzung der Spurenkommission Forum 4, EG, Seminarraum Forensische Genetik	
10:00-12:00 Uhr	Workshop der UFG (nur gemeldete Teilnehmer) Forum 3, 1. OG, Seminarraum 1	
Zeit	Eröffnung	Forum 3, EG, Audimax
13:00-13:30 Uhr	<p>Begrüßung:</p> <p>Prof. Dr. med. Michael Tsokos Direktor des Instituts für Rechtsmedizin - Universitätsmedizin Berlin</p> <p>Matthias Scheller Direktor des Klinikums - Charité Universitätsmedizin Berlin</p> <p>Dir LKA Christian Steiof Leiter des Landeskriminalamtes Berlin</p> <p>Prof. Dr. med. Thomas Bajanowski Präsident der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin</p> <p>Prof. Dr. rer. nat. Peter Schneider Vorsitzender der Spurenkommission der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin</p>	
	Wissenschaftliches Programm	
	Vorsitz: Uta Immel und Richard Zehner	
13:30-14:45 Uhr	<p>Aufbruch ins Ungewisse: Persistenz von Hautkontaktpuren im Rahmen von Einbruchsszenarien <u>Céline Pfeifer</u>, Julia Frenzel, Erich Miltner, Peter Wiegand Institut für Rechtsmedizin Ulm</p>	
	<p>Latente Fingerspuren auf Leichenhaut und deren DNA-Typisierung <u>H-J. Weisser</u>¹, A. Seul², F. Dormann², D. Färber² Institut für Rechtsmedizin Freiburg¹ Bundeskriminalamt ZD31 – Tatortgruppe²</p>	
	<p>Geht's noch? - Potential von microRNA zur Spurencharakterisierung <u>G. Kulstein</u>, E. Miltner, P. Wiegand Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Ulm</p>	
	<p>Visuelle und bildgebende Darstellung von Rückschleuderspuren und Wundkanal bei simultaner Analyse von DNA und RNA C. Schyma¹, C. Lux², M. Grabmüller², J. Euteneuer², B. Madea², <u>C. Courts</u>² ¹ Institut für Rechtsmedizin, Universität Bern, Schweiz ² Institut für Rechtsmedizin, Universität Bonn, Deutschland</p>	
	<p>Evaluierung von directPCR zur Spurenanalyse nach Sexualdelikten <u>Christian Lischka</u>¹, Shanan S. Tobe², Yuvaneswari Chandramoulee Swaran³, Lynn Dennany⁴, Lindsey Welch⁴, Marianne Schürenkamp¹, Ulla Sibbing¹, Heidi Pfeiffer¹, Marielle Vennemann^{1,4} ¹Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster,²School of Biology, Flinders University, Adelaide, Australien, ³Royal Police Forensic Laboratory, Kuala Lumpur, Malaysia, ⁴Centre for Forensic Science, University of Strathclyde, Glasgow, Großbritannien</p>	

Freitag, 27.02.2015

Zeit	Vortrag
	<p>Y-STR Analyse als unverzichtbarer Standard bei der Analyse von Kontaktspurens aus Sexualverbrechen <u>Josephine Purps</u>, Marion Nagy, Lutz Roewer Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin, Charité-Universitätsmedizin Berlin</p>
14:45-15:15 Uhr	Kaffeepause
	Vorsitz: Marielle Vennemann und Cornelius Courts
15:15-16:30 Uhr	<p>Vergleich der Co-Extraktion von Inhibitoren zwischen zwei verschiedenen Silica-basierenden Extraktionsmethoden für die Isolierung von DNS aus Knochen und Zähnen. <u>Jessica Rothe</u>, Marion Nagy Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité-Universitätsmedizin Berlin</p>
	<p>Vergleichende Studie zweier Nachweismethoden von Samenflüssigkeiten <u>Sabine Köthke</u>, Christine Plager Institut für Blutgruppenforschung LGC Forensics GmbH</p>
	<p>Einfacher Nachweis von Menstruationsblut durch immunchromatographischen Schnelltest <u>Hannah Holtkötter</u>, Marianne Schürenkamp, Alina Glaub, Lisa Dierig, Ulla Sibbing, Heidi Pfeiffer, Marielle Vennemann Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster</p>
	<p>Molekularpathologische Diagnostik an Leichenblut: Modell einer CMV-spezifischen RT-PCR und Betrachtung möglicher Einflüsse durch postmortales AngioCT <u>Michael J. Schwerer</u>, Stefanie Lochner, Andreas Stöver, Oliver Peschel, Matthias Graw, Florian Fischer Institut für Rechtsmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München</p>
	<p>Untersuchung des Einflusses verschiedener labortechnischer Verfahren zur daktyloskopischen Spurensuche auf die nachfolgende DNA-Analyse <u>Viviane Amajuru</u>^{1,2}, Gunnar Bläß¹ und Marc Trimborn¹ ¹ Landeskriminalamt, Berlin - Kriminaltechnik, ² Hogeschool Van Hall Larenstein, NL</p>
	<p>Kontamination - ein vielschichtiges Problem R. Nixdorf¹, <u>F. Götz</u>² ¹ Landeskriminalamt Sachsen, Dresden ² Qualitype GmbH, Dresden</p>
16:30-16:45 Uhr	Kurze Pause
16:45-18:15 Uhr	<p>Ergebnisse der GEDNAP-Ringversuche 48 und 49 <u>Carsten Hohoff</u>, Katrin Schnöink, Bernd Brinkmann Institut für Forensische Genetik GmbH, Münster</p>
19:30 Uhr (Einlass 19:00 Uhr)	Abendveranstaltung im „Alten Wasserwerk“

Samstag, 28.02.2015

Zeit	Vortrag	Forum 3, EG, Audimax
	Vorsitz: Walther Parson und Volker Weirich	
09:00-10:40 Uhr	Neues aus den Gremien <u>Martin Eckert</u> Bundeskriminalamt, KT31, Humanspuren, Wiesbaden	
	Blick über den Teich - Bericht aus den Arbeitsgruppen der Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM) <u>Lutz Roewer</u> Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin und Forensische Wissenschaften, Charité – Universitätsmedizin Berlin	
	Zum Stand der Entwicklung und Anwendung probabilistischer Software für die Interpretation von komplexen DNA-Spuren <u>Peter M. Schneider</u> Institut für Rechtsmedizin der Universität zu Köln	
	Biostatistische Bewertung von Datenbanktreffern nach Mischspurenrecherche <u>Anke Heinrich</u> ¹ , Burkhard Rolf ¹ , <u>Rolf Fimmers</u> ² ¹ Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, ² IMBIE Universitätsklinikum Bonn	
	eDNA - Expert Software System for DNA Profile Evaluation and Interpretation in Forensic Casework <u>Simon Dornseifer</u> , Berit Haldemann, Ulrich Neuhaus-Steinmetz Der Polizeipräsident in Berlin, Landeskriminalamt, Kriminaltechnik (LKA KT42) Berlin	
	Techniken zur digitalen Bilderfassung des nahen Infrarotspektrums (NIR) für Anwendungen in den Bereichen Rechtsmedizin/Biologische Spurenkunde/KT <u>M.M. Schulz</u> ¹ , T. Gilg ¹ , M. Graw ¹ , M. Hein ² , P. Kühnel ² , V. Sterzik ³ ¹ Institut für Rechtsmedizin, München ² Kriminalpolizeiinspektion, Augsburg ³ Institut für Rechtsmedizin, Würzburg	
	"Proof-of-Principle“-Studie zur Analyse kurzer mitochondrialer Fragmente mittels NGS-Technologie <u>Judith Zander</u> ¹ , Jochen Hecht ² , Marion Nagy ¹ ¹ Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin ² Berlin-Brandenburger Centrum für Regenerative Therapien, Charité – Univ.-Medizin Berlin	
	T-Zell-Rezeptorprofile zur Unterscheidung monozygoter Zwillinge <u>Bettina Seemann</u> ¹ , Leon Kuchenbecker ¹ , Mikalai Nienen ¹ , Claus-Eric Ott ² , Nina Babel ¹ , Marc Trimborn ³ , Jochen Hecht ¹ ¹ Berlin-Brandenburger Centrum für Regenerative Therapien, Charité – Universitätsmedizin Berlin, ² Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Charité – Universitätsmedizin Berlin, ³ Landeskriminalamt Berlin	
10:40-11:10 Uhr	Kaffeepause	

Samstag, 28.02.2015

Zeit	Vortrag
	Vorsitz: Patricia Entz und Peter Wiegand
11:10-12:50 Uhr	Investigator ESSplex SE QS - Der nächste Technologieschritt für die Analyse der europäischen STR Marker inklusive des neuen Quality Sensors D. Müller, M. Breitbach, M. Scherer, <u>A. Prochnow</u> QIAGEN GmbH, Hilden, Germany
	Analyse von forensischen STR und SNP Markern mittels zielgerichteter NGS auf dem MiSeq FGx System <u>D. Heisswolf</u> ¹ , E. Guzman ² , K. Stephens ² , J. Walsh ² , J. Varlaro ² , C.L. Holt ² ¹ Illumina GmbH, München ² Illumina Inc., San Diego, USA
	NGS - Vision oder wertvolle Ergänzung im Portfolio der forensischen DNA-Analyse Anke Kruger, Thomas Simon, Gottfried Weichhold, <u>Philipp Habermeier</u> Thermo Fisher Scientific, Darmstadt
	Forensische Spurenanalytik mittels MiniSTRs und NGS: Möglichkeiten und Grenzen Alexander Thielen ¹ , Martin Däumer ¹ , Richard Zehner ² , <u>Bernhard Thiele</u> ¹ ¹ Institut für Immunologie und Genetik, Kaiserslautern ² Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Frankfurt
	Analyse und Interpretation von schwierigen Proben: Wie das Zusammenspiel eines geeigneten Quantifizierungskits mit dem richtigen STR-Assay die Fallarbeit kritischen Spurenmaterials erleichtern kann <u>F. Di Pasquale</u> , S. Cornelius, M. König, A. Prochnow QIAGEN GmbH, Hilden, Germany
	Next Generation Entomology: MACE zur de novo Transkriptom Analyse von Calliphora vicina Puppen <u>Barbara Karolina Zajac</u> ¹ , Ralf Horres ² , Jens Amendt ¹ , Marcel A. Verhoff ¹ , Richard Zehner ¹ ¹ Institut für Rechtsmedizin, Universitäts Klinikum Frankfurt – Goethe Universität, Frankfurt am Main, ² GenXPro GmbH, Frankfurt am Main
	Die Killer-Kuh Verona - DNA-Untersuchungen in einem speziellen Tötungsfall <u>Burkhard Rolf</u> Eurofins Medigenomix Forensik GmbH
	Möglichkeiten und Grenzen eines voll-integrierten Next-Generation-LIMS <u>Tobias Pöhlmann</u> OPTIMAL SYSTEMS Vertriebsgesellschaft Jena mbH
12:50 Uhr	Schlussworte
13:00 Uhr	Abschiedsimbiss

Aufbruch ins Ungewisse: Persistenz von Hautkontakts Spuren im Rahmen von Einbruchsszenarien

Céline Pfeifer, Julia Frenzel, Erich Miltner, Peter Wiegand
Institut für Rechtsmedizin Ulm

Die Sensitivität heutiger STR-Analyse-Methoden ermöglicht es mittlerweile Profile auch aus geringen DNA-Antragungen wie Hautkontakts Spuren zu erheben. Die Interpretation dieser Ergebnisse unter möglichen Antragungsszenarien ist jedoch häufig nicht evident. Bei einem bearbeiteten Fall ergab sich die Fragestellung zur Persistenz von Hautabriebspuren: Kann die DNA eines Tatverdächtigen an einem Werkzeug gefunden werden, wenn eine andere Person dieses in der Zwischenzeit benutzt hat?

Im Vorversuch wurde eine Reihe an Werkzeugen untersucht, die häufig bei Wohnungseinbruchsdelikten verwendet werden: Zwei Personen benutzten die Werkzeuge nacheinander mit definierten Tätigkeiten; die letzte der beiden entweder mit oder ohne Handschuhe. So wurde gezeigt, dass eine Griffmaterialabhängigkeit besteht und das Profil eines ersten Nutzers durch die Tätigkeit eines zweiten nicht verdrängt werden muss; weder bei Nutzung von Handschuhen noch bei direktem Hautkontakt.

Um zu prüfen, wie die Persistenz von der Tätigkeit beeinflusst wird, wurde nun der Versuch durch Szenarien ergänzt, die nah an einem wirklichen Einbruchsgeschehen angelehnt sind: Einbruchswerkzeuge wurden von einer zweiten Person für Aufbruchstätigkeiten benutzt, die STR-Profile der Hautkontakts Spuren ausgewertet und die Allele dem Erst- bzw. Zweitnutzer zugeordnet. Die Ergebnisse zeigen, dass Antragung und Persistenz der Hautkontakts Spuren nicht nur vom Objektmaterial sondern auch der Art des Kontakts abhängt. Dies zeigt sich bei Zweitnutzung sowohl mit als auch ohne Handschuhe.

Latente Fingerspuren auf Leichenhaut und deren DNA-Typisierung

H-J. Weisser¹, A. Seul², F. Dormann², D. Färber²
Institut für Rechtsmedizin Freiburg¹
Bundeskriminalamt ZD31 – Tatortgruppe²

Das vorgestellte EU-Projekt galt dem Nachweis von Täter-Opferkontakten an der Hautoberfläche. Hierzu wurden von Projektteilnehmern aus vier europäischen Ländern Fingerabdrücke und Griffspuren auf Leichenhaut angelegt und diese zur Sichtbarmachung mit Magnet- oder Rußpulver daktyloskopisch behandelt und fotografiert. Zur DNA-Typisierung der Spuren wurden Abriebe mittels Nylon- oder Baumwolltupfer angefertigt und einer STR-Typisierung zugeführt. Die Ergebnisse der über 900 analysierten Spuren und die daraus resultierenden Empfehlungen werden dargestellt.

Geht's noch? – Potential von microRNA zur Spurencharakterisierung

G. Kulstein, E. Miltner, P. Wiegand
Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Ulm

Die RNA-Identifizierung von Körperflüssigkeiten (oder Humangeweben) hat sich in den letzten Jahren als aussichtsreiche Entwicklung für die Charakterisierung biologischer Spuren erwiesen. MicroRNA (miRNA) ist dabei auf Grund ihrer geringen Größe (18-24 Nukleotide) und ihrer Stabilität auch für die Analyse degradierter Spuren geeignet. Speziell in Spurenfällen, in denen konventionelle Vortestverfahren an ihre Grenzen stoßen, wie z.B. bei Fällen mit latenten Antragsungen, Asservaten mit Erdantragsungen oder auch Mischspuren kann der Einsatz von miRNA zu aussagekräftigeren Ergebnissen führen. Zusätzlich bietet die Untersuchung von miRNA weitere Vorteile: So kann die simultane Analyse von RNA und DNA aus einer einzigen Probe zur Beschleunigung des Arbeitsablaufes im Labor beitragen, ohne dass zusätzliches Probematerial verbraucht werden muss.

Im Rahmen unserer Studie wurden zunächst unterschiedliche Extraktionsprotokolle für die Ko-Extraktion von DNA und miRNA ausgewertet. Anhand von Quantifizierungs- und Expressionsdaten wurde das effektivste Protokoll für die Ko-Extraktion bestimmt. Anschließend wurden aktuelle Kasuistiken mit kontextuell brisanten Fragestellungen sowohl mit konventionellen Methoden zur Bestimmung der Gewebespezifität als auch mit miRNA-Analytik bearbeitet. Das Potential der miRNA-Analytik wurde im Vergleich zu dem etablierten Ablauf im DNA-Labor anhand von ausgewählten Kriterien (Kosten | Zeit | Qualität | Quantität) evaluiert.

Visuelle und bildgebende Darstellung von Rückschleuderspuren und Wundkanal bei simultaner Analyse von DNA und RNA

C. Schyma¹, C. Lux², M. Grabmüller², J. Euteneuer², B. Madea², C. Courts²

¹ *Institut für Rechtsmedizin, Universität Bern, Schweiz*

² *Institut für Rechtsmedizin, Universität Bonn, Deutschland*

Rückschleuderspuren (Backspatter), die bei aufgesetzten oder extremen Nahschüssen entstehen, und in der Feuerwaffe sowie am Schützen und in dessen Umfeld nachgewiesen werden, können wertvolle forensische Anhaltspunkte zur Rekonstruktion eines Tathergangs sein. Die vollständige Analyse des Spurenbildes nach einem Schuß auf ein biologisches Ziel muß daher neben morphologischen Befunden auch die Untersuchung von Backspatter umfassen. Wir stellen einen integrativen Forschungsansatz vor zur sowohl visuellen Darstellung als auch bildgebenden Diagnostik von Backspatter und Wundkanal bei simultaner Analyse von im Backspatter enthaltener DNA und RNA. Hierfür wurde die „triple contrast“-Methode entwickelt, die auf einer dreifachen Dotierung ballistischer Modelle mit Acrylfarbe, einem Röntgenkontrastmittel und menschlichem Blut beruht.

Wir konnten zeigen, daß die Komponenten der Mischung keinen schädlichen Einfluss auf die Nachweisqualität der jeweils anderen Komponenten haben und daß die Anwendung der „triple contrast“-Methode bei Schüssen auf ballistische Modelle eine umfassende Auswertung des entstehenden Spurenbildes durch optische und radiologische Darstellung sowie molekularbiologische Analyse von DNA und RNA aus Backspatter ermöglicht.

Evaluierung von directPCR zur Spurenanalyse nach Sexualdelikten

Christian Lischka¹, Shanani S. Tobe², Yuwaneswari Chandramoulee Swaran³, Lynn Dennany⁴, Lindsey Welch⁴, Marianne Schürenkamp¹, Ulla Sibbing¹, Heidi Pfeiffer¹, Marielle Venne-
mann^{1,4}

¹ Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

² School of Biology, Flinders University, Adelaide, Australien

³ Royal Police Forensic Laboratory, Kuala Lumpur, Malaysia

⁴ Centre for Forensic Science, University of Strathclyde, Glasgow, Großbritannien

Die Möglichkeit der molekulargenetischen Analyse von Spuren mit direkter PCR ohne vorherige DNA-Extraktion (directPCR) ist bereits seit einigen Jahren bekannt. So wurde bereits die erfolgreiche Direktanalyse von Blut, Speichel und Hautschüppchen beschrieben. Als wesentlicher Vorteil dieser Methode gegenüber der konventionellen DNA-Aufbereitung wird die Vermeidung möglicher DNA-Verluste durch eingeschränkte Extraktionseffizienz diskutiert.

Ziel dieser Studie war die Evaluierung von directPCR zur Analyse von Spuren nach Sexualdelikten. Vor allem sollte überprüft werden, ob directPCR auch an Spermatozoen erfolgreich durchgeführt werden kann. Darüber hinaus wurde ein Protokoll zur differentiellen Anreicherung von Spermatozoen aus gynäkologischen Abstrichen getestet.

Darüber hinaus wurde überprüft, ob verschiedene Spurensubstrate, vor allem verschiedene Kleidungsstoffe, einen Einfluss auf die direkte Amplifikation haben. So wurden Baumwoll- und Kunstfaserstoffe verglichen und mögliche inhibitorische Effekte indigo-gefärbter Denimstoffe auf verschiedene Multiplex-Kits untersucht

Die Ergebnisse dieser Studie werden vorgestellt und kritisch diskutiert.

Y-STR Analyse als unverzichtbarer Standard bei der Analyse von Kontakts Spuren aus Sexualverbrechen – Datenerfassung aus zwei Jahren Fallarbeit

J. Purps, M. Nagy, L. Roewer

Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin, Charité-Universitätsmedizin Berlin

„Die Y-STR Analyse ist Standard und aus dem forensischen Laboralltag nicht mehr wegzu-denken“, würde manch einer meinen bei so viel gegenwärtiger Aktivität auf diesem Sektor. Doch ist dies leider ein Irrtum. In der Realität setzt die Mehrzahl der forensischen Labore Y-STRs nur für ausgewählte Fälle oder überhaupt nicht ein, obwohl die Zahl der autosomal nicht-detektierbaren männlichen Profile in Mischspuren beträchtlich ist, wie die vorliegende Studie zeigt.

Kontakts Spuren, die bei sexuell motivierten Straftaten gesichert werden, gehören zu den am schwierigsten zu interpretierenden Spuren, da es sich hierbei fast immer um Mischungen aus einer weiblichen DNA-Hauptkomponente und einer männlichen Nebenkompente handelt, die überdies beide niedrige Zellzahlen aufweisen. Bei diesen Proben führt unser Labor seit nunmehr zwei Jahren routinemäßig zusätzlich zur autosomalen STR-Analyse parallel eine Y-STR Analyse durch, um keine Beweismittel zur Überführung eines männlichen Täters zu verlieren.

In dieser Studie stellen wir die Ergebnisse dieser dualen Strategie vor. Einbezogen werden ca. 2000 Kontakts Spuren aus ca. 300 Sexualstraftaten die im Zeitraum 2012-2014 in unserer Abteilung untersucht wurden. Alle Spuren wurden autosomal mit dem NGM-Select Kit (Applied Biosystems) und Y-chromosomal mit dem PowerPlex Y23 Kit (Promega) typisiert.

Die autosomalen Profile wurden hinsichtlich der Quantität und Qualität der männlichen Mischspurkomponente untersucht. Dazu wurde das Y-chromosomale Amplikon im Amelogeninsystem als Indikator verwendet. Bei Hinweis auf eine männliche Beimischung erfolgte eine Bewertung des Informationsgehaltes des männlichen STR-Profiles vor dem Hintergrund der weiblichen Signale. Parallel wurden die Y-STR Profile derselben DNA-Extrakte bewertet und kategorisiert. Als informativ gelten hier Teil- und Vollprofile einer männlichen Hauptkomponente. In 55% der Fälle, in denen autosomal KEINE männliche Komponente in der Mischung detektiert wurde, ließ sich mit der Y-STR Analyse männliche DNA überhaupt erst feststellen, teils sogar mit vollständigem Einzelprofil. Insgesamt wurde Y-chromosomal in 85% der Fälle ein Profil detektiert, wobei es in 60% der Fälle als informativ zu bewerten war und in 40% sogar ein vollständiges Einzelprofil lieferte.

Vergleich der Co-Extraktion von Inhibitoren zwischen zwei verschiedenen Silica-basierenden Extraktionsmethoden für die Isolierung von DNS aus Knochen und Zähnen.

Jessica Rothe, Marion Nagy

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

Die DNS Extraktion aus Skelettmaterialien ist ein sehr aufwendiges Verfahren, bei dem Kleinstmengen an DNS aus einem kompakten Gewebe gewonnen werden sollen. In unserem Labor werden für die DNS Extraktion aus Knochen und Zähnen zwei verschiedene Extraktionstechniken genutzt, welche sich hauptsächlich durch die Verwendung einer Silica-Membran (Mini Elute Purification Kit, Qiagen) oder Silica-beschichteten Eisenkügelchen (Investigator Kit, Qiagen) unterscheiden. Obgleich beide Methoden eine Silica-basierende Technologie nutzen, zeigten unsere Ergebnisse bedeutende Unterschiede bezüglich der extrahierten DNS Menge. Hierbei führte die DNS Isolierung mit Silica-Membranen zu höheren DNS Konzentrationen und ist demnach die bevorzugte Methode für stark degradiertes Probenmaterial. Demgegenüber steht jedoch die Co-Extraktion von Inhibitoren. Besonders Materialien wie Knochen und Zähne können abhängig von Liegezeiten und Umweltbedingungen hohe Konzentrationen an Inhibitoren aufzeigen. Zusätzlich kann bei ungenügender Dekalzifizierung Calcium als zusätzlicher Inhibitor auftreten. Um die Reinheit der Probe dem DNA Gehalt gegenüber zustellen, wurden beide Silica Methoden mit verschiedenen Inhibitoren getestet. Aus den Ergebnissen wird deutlich, dass die Silica-Beads eine stark minimierte Co-Extraktion an Inhibitoren gegenüber der Silica-Membran aufweisen. Als Konsequenz dieser Ergebnisse sollte die Wahl der Extraktionsmethode stark auf die Qualität des Materials abgestimmt werden, um bestmögliche Ergebnisse zu erzielen. Gleichzeitig halten wir es für wichtig, Erfahrungen mit der Einschätzung von Probenmaterialien zu sammeln und auszutauschen.

Vergleichende Studie zweier Nachweismethoden von Samenflüssigkeiten

Sabine Köthke, Christine Plager
Institut für Blutgruppenforschung LGC Forensics GmbH

Hinsichtlich der optimalen Bearbeitung von potentiellen Mischproben aus Samenflüssigkeit und Vaginalsekret, die im Rahmen von Sexualverbrechen typischerweise vorliegen, wurden zwei kommerziell erhältliche Immunoassay-Kits vergleichend untersucht: das SERATEC® PSA Semiquant und das RSID®-Semen.

Beide Kits weisen die Bestandteile von Samenflüssigkeiten durch die Detektion von Ejakulat-spezifischen Proteinen, wie das Prostata-spezifische Antigen (PSA) bzw. Semenogelin, nicht aber das Spermium selbst nach. In Abhängigkeit des jeweiligen Vortestergebnisses wird die DNA-Probe unterschiedlichen Analyseprozessen unterzogen, was wiederum maßgeblich für den Typisierungserfolg der Spur ist. Die Ergebnisse zu Verdünnungsreihen von Ejakulat, Mischungen mit Vaginalsekret sowie der Nachweis auf verschiedenen Trägermaterialien hinsichtlich der Sensitivität und Qualität beider Immunoassay-Kits werden präsentiert.

Einfacher Nachweis von Menstruationsblut durch immunchromatographischen Schnelltest

Hannah Holtkötter, Marianne Schürenkamp, Alina Glaub, Lisa Dierig, Ulla Sibbing,
Heidi Pfeiffer, Marielle Vennemann
Institut für Rechtsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Bei der Klärung eines Sexualdeliktes kann die korrekte Bestimmung einer Blutungsquelle wichtige Informationen zum Tathergang liefern: peripheres Blut könnte auf eine traumatische Blutungsquelle hindeuten, während Menstruationsblut als Indiz für eine natürliche Blutungsursache zu werten wäre.

Während der Menstruation gerinnt Blut zunächst kurzfristig, wird jedoch durch Fibrinolyse wieder verflüssigt, was das einfache Abfließen der Menstruationsflüssigkeit ermöglicht. Dadurch enthält Menstruationsblut sog. D-Dimere, die als Fibrin-Abbauprodukte bei der körpereigenen Fibrinolyse entstehen.

Das Ziel dieser Studie war die forensische Validierung eines einfach anzuwendenden Schnelltests zum Nachweis von D-Dimeren, um eine rasche Identifizierung von Menstruationsblut zu ermöglichen.

Das Clearview® Simplify D-Dimer Kit (Alere, Köln) enthält einen immunchromatographischen Teststreifen, der einen einfachen und schnellen Nachweis von D-Dimeren ermöglicht. Somit liefert er als Spurenvortest einen Hinweis auf das Vorliegen von Menstruationsblut.

Für die Validierung der Nachweisgrenze des Tests wurden sowohl flüssige als auch getrocknete Menstruationsblutproben (unverdünnt bis 1:100) eingesetzt. Es wurden Vaginalsekret, Blut, postmortales Blut, Speichel, Sperma und Urin hinsichtlich möglicher Kreuzreaktionen mit anderen Körperflüssigkeiten getestet.

Schließlich wurde die Robustheit des Nachweises an Mischungen mit anderen Körperflüssigkeiten überprüft und die Variabilität zwischen Individuen und zwischen den Tagen der Menstruation analysiert.

Die Ergebnisse der Validierung werden präsentiert und kritisch diskutiert.

Molekularpathologische Diagnostik an Leichenblut: Modell einer Cytomegalievirus-spezifischen Real-time-PCR und Betrachtung möglicher Einflüsse durch postmortales AngioCT.

Michael J. Schwerer, Stefanie Lochner, Andreas Stöver, Oliver Peschel, Matthias Graw,
Florian Fischer

Institut für Rechtsmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München

Hintergrund:

Molekularpathologische Diagnostik hält zunehmend Einzug in die rechtsmedizinische Praxis. Gleichzeitig gewinnt das postmortale AngioCT immer weiter an Bedeutung als unterstützende Diagnostik vor einer gerichtlichen Obduktion. Hierzu wird der Leichnam mit lipophilem Kontrastmittel, gelöst in flüssigem Paraffin, über das arterielle und venöse System perfundiert. Das Leichenblut liegt somit bei der Sektion als Mischung mit lipophilem Medium vor.

Fragestellungen:

Ist natives Leichenblut für molekularpathologische Diagnostik geeignet? Und beeinflusst das lipophile Kontrastmittel einer postmortalen AngioCT-Untersuchung ggf. deren Ergebnisse?

Material und Methoden:

Aus asserviertem Oberschenkelvenenblut von 13 Obduktionsfällen des Münchener Institutes aus dem Jahr 2013 wurde mittels Magnetpartikeltechnik (Fa. Abbott, Wiesbaden) DNA extrahiert. In keinem der Fälle lag terminal eine Cytomegalievirus (CMV)-Virämie vor. Vergleichend wurden Blutproben, die vor und nach der Kontrastmittelperfusion gesichert wurden extrahiert. Die Blutproben nach Kontrastmittelperfusion wurden zum einen homogen mit Kontrastmittel durchmischt, zum anderen nach grober Abtrennung des Blutes vom Medium nach Sedimentation aufgearbeitet. Alle Extraktionsansätze wurden mit 5×10^3 Genkopien einer artifiziellen CMV-DNA-Sequenz angereichert. Es folgte eine Real-time-PCR (Fa. Abbott, Wiesbaden) unter Verwendung einer internen Amplifikationskontrolle ebenso wie für CMV-DNA positiver und negativer Kontrollansätze.

Ergebnisse:

Bei regelrechter Amplifikation der externen Positivkontrollen und ausbleibender Fluoreszenzzunahme in Bindung an die Negativkontrolle war in allen Fällen ein positiver Nachweis der zugesetzten CMV-Gensequenz zu führen. Hierbei waren in 7 von 13 Fällen alle 3 Ansätze positiv. Fehlende Nachweise für CMV-DNA waren in 3 Fällen im Blut vor Kontrastmittelgabe, in 1 Fall in mit Kontrastmittel durchmischem Blut nach AngioCT und in 3 Fällen im Sediment des Blutes nach Kontrastmittelgabe zu beobachten. Für CMV-DNA negative Ansätze zeigte in 2 von 7 Fällen eine positive, in 5 von 7 Fällen eine native interne Amplifikationskontrolle.

Schlussfolgerungen:

Molekularpathologische Diagnostik an Leichenblut zeigt nach unserer modellhaften Untersuchung an einem begrenzten Stichprobenumfang in knapp der Hälfte der Fälle Ausfälle positiver Nachweise, hier von Virus-DNA. Diese sind bei oftmals negativer interner Amplifikationskontrolle zumindest mehrheitlich einer PCR-Inhibition zuzuschreiben. Doppelte, besser dreifache Extraktionsansätze sind zu empfehlen. Der Amplifikationserfolg eines Ansatzes ist hierbei unabhängig von der An- oder Abwesenheit paraffingelösten lipophilen Kontrastmittels im Extraktionssubstrat.

Untersuchung des Einflusses verschiedener labortechnischer Verfahren zur daktyloskopischen Spurensuche auf die nachfolgende DNA-Analyse

Viviane Amajuru^{1,2}, Gunnar Bläß¹ und Marc Trimborn¹

¹ Landeskriminalamt Berlin - Kriminaltechnik, ² Hogeschool Van Hall Larenstein, NL

Daktyloskopie und DNA-Analyse sind Routineverfahren bei der Untersuchung von Kriminalfällen. Häufig müssen daher beide Individualisierungstechniken parallel an einem Untersuchungsgegenstand durchgeführt werden. Oft entsteht dadurch eine Spurenkonzurrenz, bei der die daktyloskopische Untersuchung vor der DNA-Analyse durchgeführt werden muss. Unabhängig vom erhöhten Kontaminationsrisiko stellt sich die Frage, inwieweit die verwendeten Verfahren zur Sichtbarmachung latenter daktyloskopischer Spuren die Qualität der nachfolgenden DNA-Analyse beeinträchtigen können. Möglicherweise aufgrund der Vielfalt der daktyloskopischen Untersuchungsmethoden existieren überraschend wenig verlässliche Ergebnisse zu dieser Fragestellung, besonders im Bezug auf minimale DNA-Mengen (Low Copy Number-DNA/Trace-DNA).

Wir haben anhand definierter Zellmengen den Einfluss von zwei daktyloskopischen Untersuchungsmethoden, Cyanacrylat-Bedampfung (CA) und Hochvakuum-Metallbedampfung (HV/VMD) auf nachfolgende DNA-Untersuchungen untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die Behandlung mit Cyanacrylat unabhängig vom Zeitpunkt der Bedampfung und von der untersuchten Oberfläche auch bei geringen DNA-Mengen keinen reproduzierbaren negativen Einfluss auf die nachfolgende DNA-Analyse hat, während HV/VMD die Qualität nachfolgender DNA-Analysen deutlich beeinträchtigt.

Kontaminationen – Ein vielschichtiges Problem

R. Nixdorf ¹, F. Götz ²

¹Landeskriminalamt Sachsen, Dresden

²Qualitype GmbH, Dresden

Aktuelle Methoden zur Analyse forensischer DNA-Spuren sind hochempfindlich und in der Lage selbst aus geringsten Mengen Materials verwertbare DNA-Profile zu liefern. Auf Grund dieser hohen Empfindlichkeit erhöht sich jedoch auch die Wahrscheinlichkeit des Erfassens verunreinigender DNA in Proben und Kontrollen. Kontaminationen können während des gesamten Prozesses beginnend mit der Spurensicherung auftreten und sind nicht immer zu vermeiden. Daher ist es entscheidend mögliche Kontaminationen frühzeitig zu entdecken und zu verifizieren. Hierzu werden zum Beispiel zum Teil sehr umfangreiche Datenbanken mit genetischen Profilen von Labormitarbeiter oder Ermittlungsbeamten verwendet. Diese Profildatenbanken sind jedoch aus Datenschutzsicht sehr problematisch, da sie einen erheblichen Eingriff in das Recht auf informationelle Selbstbestimmung dieser Personen darstellen.

Im Rahmen des Vortrages werden verschiedene praktische Lösungen aus dem Landeskriminalamt Sachsen zur Aufdeckung von Kontaminationen im Rahmen der gelten Datenschutzregelungen vorgestellt und diskutiert.

Neues aus den Gremien

Martin Eckert

Bundeskriminalamt, KT31, Humanspuren, Wiesbaden

Relevante Änderungen und neue Voraussetzungen für die polizeiliche DNA-Analyse von Spuren- und Personenproben in Deutschland.

Blick über den Teich – Bericht aus den Arbeitsgruppen der Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM)

Lutz Roewer

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

Die Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM) ist ein beim FBI angesiedeltes Forum, dessen Aufgabe die Diskussion und Evaluation forensischer DNA-Analysemethoden ist. Im Rahmen von SWGDAM arbeiten Wissenschaftler und Analysten aus DNA-Laboratorien der USA gemeinsam mit internationalen Gästen, die aufgrund ihrer Expertise für spezifische Arbeitsgruppen eingeladen werden, z.B. mitochondriale DNA, Populationsgenetik, Statistik und YSTRs. Die wichtigste Aufgabe von SWGDAM ist die ständige Revision der QAS (Quality Assurance Standards) für die verschiedenen Methoden, die für alle US-Labors bindenden Charakter haben. SWGDAM reagiert relativ schnell auf die Entwicklung neuer Methoden und richtet entsprechend zusätzliche Meetings aus und setzt neue Arbeitsgruppen ein. Der Autor berichtet aus zwei Arbeitsgruppen.

Zum Stand der Entwicklung und Anwendung probabilistischer Software für die Interpretation von komplexen DNA-Spuren

Peter M. Schneider

Institut für Rechtsmedizin der Universität zu Köln

Seit der Veröffentlichung der ISFG DNA-Kommission mit wissenschaftlichen Empfehlungen zur biostatistischen Bewertung von STR-Befunden unter Berücksichtigung von möglichen Drop-out und Drop-in Ereignissen (Gill et al., *Forensic Sci. Int. Genetics* 2012, 6, 679-688) sind eine Reihe von Software-Anwendungen entwickelt worden, mit denen komplexe DNA-Mischspuren analysiert und biostatistisch bewertet werden können. Der Einsatz solcher Software setzt in jedem Fall eine umfassende Schulung und gute Kenntnisse der Anwendung biostatistischer Berechnungen auf Grundlage von Likelihood-Quotienten voraus. Es gibt inzwischen eine Vielfalt unterschiedlicher Programme, die z.T. kommerziell angeboten werden und z.T. dem sog. „Open source“ Entwicklungsbereich zugeordnet werden können. Wesentlich für die jeweils zugrundeliegende Auswertung ist vor allem die Unterscheidung der Analyseverfahren in teilkontinuierliche und vollkontinuierliche Modelle (semi-continuous and fully continuous models) ohne bzw. mit Berücksichtigung der individuellen Peakhöhen. Der Vortrag soll dazu dienen, einen Überblick über den aktuellen Stand auf diesem sich schnell entwickelnden Gebiet zu geben.

Biostatistische Bewertung von Datenbanktreffern nach Mischspurenrecherche

Anke Heinrich¹, Burkhard Rolf¹, Rolf Fimmers²

¹ Eurofins Medigenomix Forensik GmbH

² IMBIE Universitätsklinikum Bonn

Die deutsche DNA Analyse Datei lässt die Recherche von Mischspuren mit bis zu 4 Allelen pro Genort zu. Dabei kann es zu Treffern mit gespeicherten Personenprofilen kommen. Im Idealfall werden zwei Personen getroffen, die das Mischprofil in der Spur mit 16 Systemen vollständig erklären.

Für die biostatistische Bewertung solcher Treffer bietet sich das Likelihood-Ratio Verfahren an, um die möglichen Entstehungsszenarien der Mischspur zu bewerten.

In dem Vortrag sollen einige Fallbeispiele aus der Praxis und die statistische Beurteilung solcher Treffer vorgestellt werden.

eDNA - Expert Software System for DNA Profile Evaluation and Interpretation in Forensic Casework

Simon Dornseifer[#], Berit Haldemann[#], Ulrich Neuhaus-Steinmetz^{*}

Der Polizeipräsident in Berlin, Landeskriminalamt, Kriminaltechnik (LKA KT42), Berlin,

Funded by EU via ISEC - Prevention of and Fight against Crime

[#]Equal contributors; ^{*}contact: Dr.Ulrich.Neuhaus-Steinmetz@polizei.berlin.de

The aim of eDNA is to speed up forensic DNA analysis by intelligent visual support of profile evaluation and match interpretation, as well as, automated report generation. Due to widely recognised severe backlogs in forensic DNA casework, there is a strong need for the substitution of the slow and laborious way to compare genotypes manually, i.e. on paper with pen and highlighter.

The currently developed expert software system is anticipated to evolve into a powerful analysis tool for DNA casework within the next year (2015) providing an intuitive graphical user interface (GUI) and the following features:

- Combination of replicate measurements to assess reproducibility
- Classification of DNA profiles according to
 - Completeness of marker systems
 - Contributors (including detection of major dominant contributors, dominant contributors and stochastic effects in mixtures)
 - Evaluation of usability for national DB entry (DAD)
- Comparison and matching of DNA profiles for the identification of known and unknown individuals in single-source and mixed-source profiles
- Automated report generation, including tables and text blocks
- Fast and easy data import and export routines
 - Covering standard input formats (e.g. GeneMapper[®])
 - Customizable output formats
 - Interfaces to local LIMS and other external software (e.g. statistic tools)

eDNA will have an immediate and enduring effect on forensic DNA casework. While the evaluative work and the efforts necessary for report writing will be reduced, the quality of the outcome will be improved.

As a result, the work of the forensic DNA expert will be facilitated to a large extend.

Techniken zur digitalen Bilderfassung des nahen Infrarotspektrums (NIR) für Anwendungen in den Bereichen Rechtsmedizin / Biologische Spurenkunde / Kriminaltechnik.

M.M. Schulz¹, T. Gilg¹, M. Graw¹, M. Hein², P. Kühnel², V. Sterzik³

¹Institut für Rechtsmedizin, München

²Kriminalpolizeiinspektion, Augsburg

³Institut für Rechtsmedizin, Würzburg

Die visuelle Wahrnehmung des menschlichen Auges ist auf die Reflektions- bzw. Absorptionseigenschaften von Oberflächen im Wellenlängenbereich zwischen ca. 400 und 700 nm beschränkt. Im unsichtbaren, nahen Infrarotbereich NIR (ca. 800 bis 1400 nm) weisen viele Stoffe ein unterschiedliches Verhalten auf und es ergeben sich neue Bildeindrücke, die sich in vielerlei Hinsicht als sehr nützlich erweisen, beispielsweise bei der Differenzierung von Blutspuren auf dunklen Textilien.

Im Rahmen des Vortrages werden momentan verfügbare technischen Lösungen zur bildmäßigen Erfassung und digitalen Dokumentation des NIR-Spektrums vorgestellt und an Hand von Beispielen die Anwendungsmöglichkeiten und Grenzen der verschiedenen Techniken diskutiert.

„Proof-of-Principle“-Studie zur Analyse kurzer mitochondrialer Fragmente mittels NGS-Technologie

Judith Zander¹, Jochen Hecht², Marion Nagy¹

¹ Forensische Genetik, Institut für Rechtsmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin

² Berlin-Brandenburger Centrum für Regenerative Therapien, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Neueste technische Fortschritte lassen Next Generation Sequencing zu einer verlässlichen Alternative für die klassische Sanger-Sequenzierung werden. In diesem Verfahren der Hochdurchsatz-Sequenzierung können Tausend bis zu Millionen Sequenzierreaktionen gleichzeitig ablaufen, wodurch eine Mehrfachablesung der Sequenzen und damit eine höhere Sensitivität und Detektierbarkeit (Detektion von Mutationen im Erbgut) ermöglicht werden. Der Blick der Genetik auf das Genom wird damit um ein Vielfaches schärfer.

Zwar ist die Next Generation Sequencing Technologie noch relativ teuer und aufwendig, jedoch steht diesem Fakt der hohe Grad an Erkenntniszugewinn gegenüber. Dies könnte vor allem auch bei sehr alter, stark degradiertem DNA von großer Bedeutung sein, da diese mittels NGS-Verfahren noch erfolgreich untersucht und ein genetisches Profil von archäologischen Funden, uralten Knochen oder durch Umwelteinflüsse stark beschädigten Proben erzeugt werden sollte.

Vorgestellt werden soll eine „Proof-of-principle“-Studie zu ersten NGS-Analysen kürzerer Fragmente mitochondrialer DNA mit der Illumina-Technologie. Das Ausmaß an Informationszugewinn wird anhand ausgewählter Beispiele von schwierigen forensischen Probenmaterialien dargestellt.

T-Zell-Rezeptorprofile zur Unterscheidung monozygoter Zwillinge

Bettina Seemann¹, Leon Kuchenbecker¹, Mikalai Nienen¹, Claus-Eric Ott², Nina Babel¹, Marc Trimborn³, Jochen Hecht¹

¹ Berlin-Brandenburger Centrum für Regenerative Therapien, Charité – Universitätsmedizin Berlin

² Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Charité – Universitätsmedizin Berlin

³ Landeskriminalamt Berlin

Monozygote Zwillinge sind durch forensische Standardtests nicht zu unterscheiden, da sie auf Grund ihrer Abstammung von ein und derselben befruchteten Eizelle identische DNA besitzen. Sie können sich jedoch in somatischen Mutationen unterscheiden, die durch Fehler bei der DNA-Replikation nach der Trennung der Blastozyste entstehen. Mit den aktuellen Next-Generation Sequencing-Technologien ist es inzwischen möglich ganze Genome in einer Tiefe zu analysieren, die die Analyse somatischer Mutationen erlaubt.

Kürzlich wurde bereits gezeigt, dass sich die Bestimmung somatischer Mutationen grundsätzlich zur Unterscheidung monozygoter Zwillinge in einem forensischen Kontext eignen kann. Der Aufwand für diese Methode ist jedoch nach wie vor sehr hoch, da hierfür mindestens zwei Genome in hinreichend großer Tiefe sequenziert werden müssen.

Wir verfolgen daher einen weiteren Ansatz zur genetischen Unterscheidung monozygoter Zwillinge. Hierfür nutzen wir die Sequenzierung von T-Zell-Rezeptoren (TCR), um individuelle Unterschiede auf DNA-Ebene zu ermitteln. T-Zellen sind Zellen des adaptiven Immunsystems, die beispielsweise für die Abwehr von Virusinfektionen eine zentrale Rolle spielen. Die Erkennung eines Antigens durch eine T-Zelle erfolgt über spezifische Rezeptoren, die während der Reifung einer T-Zelle durch Mutationen und Umlagerungen im Bereich des TCR-Lokus eine für jeden T-Zell-Klon eindeutige genomische Sequenz erhalten. Da diese Umlagerungen und Mutationen zufällig entstehen, sollten sich hier auch zwischen ansonsten genetisch nahezu identischen Personen deutliche Unterschiede zeigen. Insbesondere im Blut findet sich eine große Zahl von T-Zellen. Blutspuren müssen in der forensischen Fallarbeit sehr häufig untersucht werden. Es sollte daher geprüft werden, ob sich mit diesem Untersuchungsansatz monozygote Zwillinge anhand von Blutspuren unterscheiden lassen. Die bisherigen Ergebnisse legen nahe, dass eine Identifikation anhand der TCR-Signatur möglich ist. Die Sequenzierung von T-Zellrezeptoren würde somit eine zusätzliche, vergleichsweise unaufwendige Möglichkeit darstellen, um bei Vorliegen geeigneten Spurenmaterials forensische Fälle mit Beteiligung monozygoter Zwillinge zu lösen.

Investigator ESSplex SE QS - Der nächste Technologieschritt für die Analyse der europäischen STR Marker inklusive des neuen Quality Sensors

D. Müller, M. Breitbach, M. Scherer, A. Prochnow
QIAGEN GmbH, Hilden, Germany

Die Einführung des neuen europäischen STR Sets (ESS) hat zu einer Vereinheitlichung und Standardisierung der Datenbanken und deren Abgleiche in Europa geführt. Für die Analyse dieser 17 Loci sind seither verschiedene Multiplex-PCRs entwickelt worden, die hohe technische Ansprüche erfüllen. Basierend auf der neusten PCR Chemie FRM 2.0, stellt QIAGEN nun die Weiterentwicklung und damit den nächsten Technologieschritt der ESS-Analyse vor, das **Investigator ESSplex SE QS** Kit, welches zudem über eine interne Performancekontrolle, dem sogenannten „Quality Sensor“ verfügt.

In der Spurenanalytik werden forensische Gutachter oft mit der Interpretation von ungewöhnlichen STR Ergebnisse konfrontiert, die eine zeitintensive Interpretation erfordern. Was ist die Ursache, dass kein Peak im Elektropherogramm sichtbar ist? Ist die Probe inhibiert oder degradiert? Mit Hilfe des neuartigen Quality Sensors ist es nun möglich, diese Fragen zu beantworten und dadurch die am besten geeignete Strategie zur weiteren Bearbeitung der Probe zu wählen.

Der **Quality Sensor** ermöglicht die Unterscheidung zwischen:

- Erfolgreiche PCR
- Ergebnislose PCR
- Degradierete DNA
- Inhibierte Probe
- Keine Template-DNA im Ansatz

Zudem konnte durch die neue PCR-Chemie die Reaktionsgeschwindigkeit auf nur 60 min reduziert sowie eine einfache manuelle und automatisierte Handhabung ermöglicht werden. Imbalancen oder Dropouts basierend auf seltenen Mutationen in der Primerbindungsstelle von vWA, 16S539 und SE33 wurden behoben und die Allelleiter um weitere 50 Allele aufgestockt.

Neben Daten aus der Entwicklungsarbeit und internen Validierung des Investigator ESSplex SE QS Kits anhand verschiedener simulierter Spurentypen und den Vorteilen des Kits für die Routineanwendung in der forensischen Fallarbeit, werden erste Feldtestdaten der externen Evaluierung gezeigt.

Analyse von forensischen STR und SNP Markern mittels zielgerichteter Next Generation Sequenzierung auf dem MiSeq FGx System

D. Heisswolf¹, E. Guzman², K. Stephens², John Walsh², J. Varlaro², and C.L. Holt²

1. Illumina GmbH, München

2. Illumina Inc., San Diego, USA

Seit über 20 Jahren sind kriminaltechnische DNA-Untersuchungen integraler Bestandteil des Strafjustizwesens. Während dieser Zeit wurden die DNA-Analysenmethoden nach und nach weiterentwickelt, die Nachweissysteme wurden sensitiver und einige manuelle Prozessschritte durch Laborautomation ersetzt. Die Art und Weise, wie die Daten erzeugt und ausgewertet werden, hat sich jedoch kaum verändert. Die Stärken der aktuellen Analyseworkflows konnten so im Laufe der Zeit weiter ausgeschöpft werden. Allerdings sind diese in gewissen Aspekten limitiert: So ist es bislang lediglich möglich, die Länge der STR (short tandem repeat) Allele auszuwerten. Zudem können nur ein paar Dutzend Marker in einem einzigen Analysesystem kombiniert werden, wodurch leider mehrere Untersuchungsmethoden bzw. Workflows und parallele Bearbeitung derselben Probe für einen umfassenden Informationsgewinn notwendig sind.

Next Generation Sequencing (NGS) eröffnet neue Möglichkeiten, die Limitierungen der aktuell gängigen Systeme zu durchbrechen. Der größte Vorteil ist die signifikante Steigerung der Anzahl und Art von Markern, welche gleichzeitig untersucht werden können. Autosomale STRs, die für die neue Methode die Brücke zu etablierten kriminaltechnischen Datenbanken schlagen, können mit X- und Y-STRs und einer Auswahl von SNP-Markern kombiniert werden, um auch Identitätsanwendungen zu unterstützen und weitere wertvolle kriminaltechnische Informationen zu liefern. Zudem sind NGS Assays im Vergleich zu Systemen auf Basis der Kapillarelektrophorese nicht durch die Fragmentgröße und Fluoreszenzfarbstoffe limitiert. Insbesondere können SNP Marker im Assay so designiert werden, dass sie sehr kurze Amplikons generieren und so die Informationsausbeute von degradierten Proben maximiert wird, bei denen lange STRs dagegen normalerweise ausfallen.

Ein nutzerfreundliches Analysesystem sowie maßgeschneiderte Auswertesoftware bieten einen weitgehend vertrauten Workflow und ermöglichen so einen möglichst einfachen Technologiewechsel. Gleichzeitig werden die Anwender in die Lage versetzt, den Informationswert, der aus den forensischen Proben generiert wird, zu maximieren. Durch die Flexibilität sowie die unterstützte Applikationsbreite der NGS Methode, bietet sich ein großer potentieller Spielraum für künftige Erweiterungen der Einsatzmöglichkeiten.

Das MiSeq FGx System von Illumina ist das erste NGS System, das speziell für forensische Anwendungen entwickelt wurde und macht die Sequenzierungs-basierte forensische Analyse für alle Labore zugänglich. Wir werden Ihnen die Systembestandteile, Testchemie sowie die maßgeschneiderten Datenauswertetools vorstellen und Ihnen Daten präsentieren, die die signifikanten Vorteile von Sequenzierungs-basierten Ansätzen in der Forensik veranschaulichen.

Next Generation Sequencing - Vision oder wertvolle Ergänzung im Portfolio der forensischen DNA-Analyse?

Anke Kruger, Thomas Simon, Gottfried Weichhold, Philipp Habermeier
Thermo Fisher Scientific

Mit zunehmendem Interesse an Next Generation Sequencing (NGS) beginnt die forensische Forschung bisherige technologische Hürden hinter sich zu lassen. Mit der Möglichkeit, hunderte Marker parallel zu genotypisieren, werden zukünftig NGS-basierte Assays zunehmend wertvolle Zusatzinformationen zu denen der bereits etablierten Methoden liefern. Die gleichzeitige Analyse von SNP Markern, die Identitäts-, Abstammungs- und/oder Phänotyp-spezifische Aussagen ermöglichen, und STR Markern in einer einzigen Reaktion erhöht die Diskriminierungsstärke gegenüber herkömmlichen STR Kits. Aus ein und derselben DNA-Probe können so weitere nützliche investigative Hinweise erhalten werden.

Thermo Fisher Scientific präsentiert die neuesten Entwicklungen für die forensische DNA-Analyse auf Basis der Ion Torrent Technologie. Bereits verfügbare Lösungen für die gezielte Sequenzierung forensisch relevanter Marker auf Basis der AmpliSeq Technologie werden vorgestellt sowie erste Schritte zur Integration eines NGS-basierten Arbeitsablaufs in die forensische DNA-Untersuchung werden aufgezeigt.

Forensische Spurenanalytik mittels MiniSTRs und Next Generation Sequenzierung: Möglichkeiten und Grenzen

Alexander Thielen¹, Martin Däumer¹, Richard Zehner², Bernhard Thiele¹

¹ Institut für Immunologie und Genetik, Kaiserslautern

² Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Frankfurt

Hintergrund: Bei stark degradierter DNA kann es bei der Standard-STR-Analytik von DNA im Spurenbereich zu Allelausfällen kommen. Die Verwendung kürzerer PCR-Produkte (MiniSTRs; Butler et. al 2003) führt in vielen Fällen zu einer geringeren Ausfallrate. Zugleich ermöglichen MiniSTRs die Verwendung von Next Generation Sequenzier (NGS) Plattformen mit begrenzter Leseweite als Detektionssystem.

In dieser Arbeit stellen wir ein „proof-of-concept“ für die Analyse von MiniSTRs auf einer NGS Plattform in Kombination mit einer automatisierten Auswertung vor.

Material & Methoden: Alle Primer für insgesamt 16 Systeme (CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, Penta D, Penta E, D2S1338) wurden mit P5 und P7 Illumina tags synthetisiert. Die Amplifikation erfolgte mittels Multiplex PCR mit 30 Zyklen, gefolgt von einer zweiten DNA barcode PCR. Mehrere Testreihen zur Bestimmung der optimalen Zusammensetzung des Primergemisches sowie der Sensitivität wurden durchgeführt, ebenso ein Vergleich der Befunde von authentischem Spurenmaterial mit den Befunden von Powerplex ESI und AmpFLSTR® NGM Select™).

Die Analyse der aktuellen GEDNAP Ringversuchsproben 48 und 49 erfolgte im Vergleich zur Fragmentanalyse mittels AmpFLSTR® Identifier® PCR Amplification Kit .

Die Amplikate wurden auf einem Illumina MiSeq System sequenziert und anschließend automatisch vorausgewertet.

Ergebnisse: Spuren DNA mit DNA Konzentrationen zwischen 14 und 460pg/µl konnten erfolgreich amplifiziert und im MiSeq System sequenziert werden. Mischungen konnten klar detektiert werden.

Der Vergleich mit den Befunden der kommerziellen STR Kitsi zeigte weitestgehend Übereinstimmungen. Das vWA Allel 14 wird jedoch nur schwach amplifiziert und kann nach Detektion im MiSeq System kaum von Stutter Peaks unterschieden werden.

Bei den GEDNAP Ringversuchsproben wurden 196 Allelsysteme verglichen. 2 Allele wurden im NGS Ansatz nicht bzw. nur in ganz geringen Mengen (<1%) detektiert (vWA-14 & D2S1338 -27). Alle anderen Marker stimmten überein und es wurden keine zusätzlichen Allele gefunden. Jedoch zeigte sich in 2 Proben eine erhöhte Auflösung, wobei jeweils ein Allel eindeutig zwei unterschiedlichen Sequenzen gleicher Länge zugeordnet wurde.

Schlussfolgerung: In diesem proof-of-concept Ansatz konnten wir zeigen, dass MiniSTRs erfolgreich mit NGS Methoden in der forensischen Spurenanalyse verwendet werden können. Die Vorteile dieser Methodik sind das höhere Auflösungsvermögen, die größere Robustheit gegenüber Degradation der DNA, sowie die mögliche Automatisierung der Auswertung.

Vor einer Routineanwendung muss jedoch noch die Automatisierung vervollständigt und in weiteren Versuchen die Robustheit der Methode gezeigt werden.

Analyse und Interpretation von schwierigen Proben: Wie das Zusammenspiel eines geeigneten Quantifizierungskits mit dem richtigen STR-Assay die Fallarbeit kritischen Spurenmaterials erleichtern kann

F. Di Pasquale, S. Cornelius, M. König, A. Prochnow
QIAGEN GmbH, Hilden, Germany

Die Qualitäts- und Prozesssicherung der DNA Analyse gewinnt heutzutage in jedem einzelnen Arbeitsschritt der forensischen Fallarbeit immer mehr an Bedeutung.

Kernprozess des Arbeitsablaufes ist nach wie vor die STR Analyse. Um diese sicherer zu gestalten, wurde eine interne Performancekontrolle, der sogenannte Quality Sensor (QS) entwickelt und in verschiedene STR-Produkte integriert. Mit Hilfe dieses neuartigen Quality Sensors ist es nun möglich, weiterführende Informationen aus dem Profil herzuleiten und damit das STR-Ergebnis besser zu interpretieren, um dadurch die am besten geeignete Strategie zur weiteren Bearbeitung der Probe zu wählen.

Anhand von Fallbeispielen mit verschiedensten degradierten und inhibierten Proben wird das Zusammenspiel der DNA Quantifizierung mittels Investigator Quantiplex HYres und der STR-Analyse mittels Investigator 24plex QS exemplarisch präsentiert. Die Ergebnisse zeigen, dass Investigator Quantiplex HYres eine sehr schnelle, sensitive und robuste DNA Quantifizierung ermöglicht, die eine verbesserte Korrelation zu den STR Ergebnissen im Vergleich zu anderen Methoden darstellt. Die kombinierte Verwendung von beiden Produkten für die forensische Fallarbeit führt zu einer reduzierten Anzahl an zu wiederholenden Analysen, einem optimierten Arbeitsaufwand und dadurch einem effizienteren und kostengünstigeren Arbeitsablauf im Labor.

Next Generation Entomology

MACE zur *de novo* Transkriptom Analyse von *Calliphora vicina* Puppen (Diptera: Calliphoridae)

Barbara Karolina Zajac¹, Ralf Horres², Jens Amendt¹, Marcel A. Verhoff¹, Richard Zehner¹

¹Institut für Rechtsmedizin, Universitäts Klinikum Frankfurt – Goethe Universität, Frankfurt a.M.

²GenXPro GmbH, Frankfurt am Main

Die Bestimmung des minimalen postmortalen Intervalls (PMI_{min}) durch die Messung des Gewichtes oder der Länge nekrophager Schmeißfliegen, ist die Hauptaufgabe der Forensischen Entomologie und ist für die larvalen Stadien etabliert. Das larvale Stadium macht jedoch nur etwa 50% der gesamten juvenilen Entwicklung aus. Die Bestimmung des PMI_{min} mithilfe von Schmeißfliegenpuppen, also während der zweiten Hälfte der juvenilen Entwicklung, kann bisher nur durch das komplizierte Freipräparieren oder die Weiterzucht des lebenden Materials erfolgen. Genexpressionsanalysen erweisen sich hier als geeignete Erweiterung des Methoden-Spektrums.

Zur Etablierung neuer Marker für eine präzisere Altersbestimmung wurde eine *de novo* Transkriptom Analyse 15 verschiedener Entwicklungsstadien der Schmeißfliegenpuppen von *Calliphora vicina* durchgeführt. MACE „Massive Analysis of cDNA Ends“ ist eine innovative Methode, die kleinste Spuren von Transkripten in einer Probe mittels NGS detektiert und eine exakte Quantifizierung realisiert. Mit MACE wird die Analyse auf die 3'-Enden der Transkripte reduziert. Die erforderliche Sequenzabdeckung wird so, selbst bei seltenen Transkripten, bei einer bis zu 20 Mal niedrigeren Sequenziertiefe als bei RNA-Seq erreicht.

Bei einer Puppenentwicklung bei 17°C konnten insgesamt 53.538 verschiedene Transkripte identifiziert werden. Davon wurden 7.548 zu bekannten Insekten-Genen annotiert. Für jedes der 15 definierten Entwicklungsstadien konnten spezifische Transkripte ermittelt werden, deren Expression jeweils gegenüber der anderen Entwicklungsstadien signifikant erhöht war und somit potentielle genetische Marker für das jeweilige Stadium darstellen. Diese werden in qPCR Analysen getestet um geeignete Marker für jedes Stadium zu etablieren. Es werden zudem weitere Entwicklungstemperaturen untersucht, um die Reproduzierbarkeit der Aktivitätsmuster für unterschiedliche Temperaturen zu validieren um letztlich eine auf den Tag genaue Eingrenzung des Puppenalters zu ermöglichen. Darüber hinaus erlaubt die vorgenommene Analyse Einblicke in die Aktivität verschiedenster Gene während der Metamorphose und die Beziehung zwischen verschiedenen Genen. Die generierten Daten ermöglichen somit neben der vorgestellten Anwendung eine effiziente Identifizierung genetischer Marker für die unterschiedlichsten Anwendungen.

Die Killer-Kuh Verona - DNA Untersuchungen in einem speziellen Tötungsfall

PD Dr. Burkhard Rolf
Eurofins Medigenomix Forensik GmbH

Berichte über tödliche Unfälle von Wanderern nach Begegnungen mit Kühen waren im letzten Jahr häufig in der Presse zu finden. In so einem Fall haben wir im Auftrag eines Amtsgerichts eine DNA-Untersuchung vorgenommen, um die Kuh zu identifizieren. Ziel war es, Speichel der Kuh an der Opferkleidung zu finden. Zusätzlich wurden Kontrollspuren mit Speichel von anderen Kühen hergestellt, um herauszufinden, inwieweit überhaupt ein Nachweis von Kuh-DNA an Kleidung durch deren „Speichel“ möglich ist. An der Kleidung des Opfers konnte DNA der Kuh gesichert werden und zur Identifizierung der „Täterin“ genutzt werden. Der Fall und die erhaltenen DNA Befunde werden in dem Vortrag dargestellt.

Möglichkeiten und Grenzen eines voll-integrierten Next-Generation-LIMS

Tobias Pöhlmann

OPTIMAL SYSTEMS Vertriebsgesellschaft Jena mbH

In forensischen Untersuchungen steht die Reproduzierbarkeit und Datensicherheit des analytischen Prozesses im Mittelpunkt. In vielen Laboren werden die Probenvorbereitung, DNA-Isolierung, Amplifikation und genetische Analyse einschließlich der Interpretation der Daten in separaten Schritten und oft von unterschiedlichem Personal in verschiedenen Softwareanwendungen durchgeführt. Besonders bei der Verarbeitung und Interpretation der Daten müssen aufgrund der oft separaten Mess- und Auswertesysteme Daten übertragen; eventuell sogar manuell eingetragen werden, was zeitaufwendig ist und ein hohes Fehlerpotential mit sich bringt.

Das OS Forensic LIMS vereint erstmals sämtliche Laborprozesse und Gerätesysteme, die zur forensischen Analytik benötigt werden, in einem System. Es steuert benötigte Geräte zentral an, verarbeitet Messwerte und unterstützt den Nutzer bei der Interpretation der Daten. Das System bietet außerdem QM-Module, ein Daten-Management-System und einen besonders hohen Sicherheitsstandard. Durch die Verwendung von OS Forensic LIMS werden forensische Untersuchungen schneller, einfacher, zuverlässiger und effizienter.

Veranstaltungsorte:

Donnerstag, 26.02.2015 bis Samstag, 28.02.2015

A **Virchow-Klinikum, Forum 3,**
Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

Forensische Biostatistik,
Anwendertreffen,
35. Spurenworkshop,
begleitende Industrieausstellung,
Mittags- und Kaffeepausen



B **Zhou's Five Asia Buffet Restaurant**
Stephanstraße 41, 10559 Berlin
10 min Fußweg vom Forum 3
Tel.: 030 / 49 200 789
www.zhousfive.de

"Get together" am Donnerstagabend
Zwangloses Treffen ab 19:00 Uhr



C **ALTES WASSERWERK**
Hohenzollerndamm 208a, 10717 Berlin
Vom U-Bhf Westhafen mit U9 Richt. Rathaus Steglitz
bis Spichernstraße (9 min), dann 7 min Fußweg
Tel.: 030 - 88 91 07 76
www.wasserwerk-berlin.de

Abendveranstaltung am Freitag
mit Livekonzert des Andreas Hofschneider Quartetts und Sängerin Bettina
Labeau anschl. Tanz mit DJ, Einlass ab 19:00 Uhr, Beginn 19:30 Uhr

Ansprechpartner vor Ort



RIEGGER - KONGRESSMANAGEMENT

Im Grün 4
D-79252 Stegen b. Freiburg
Telefon: +49 (0)7661/99 0 37
Mobil: +49 (0)160/552 552 0
riegger@r-km.de, www.r-km.de

Öffnungszeiten Kongressbüro:

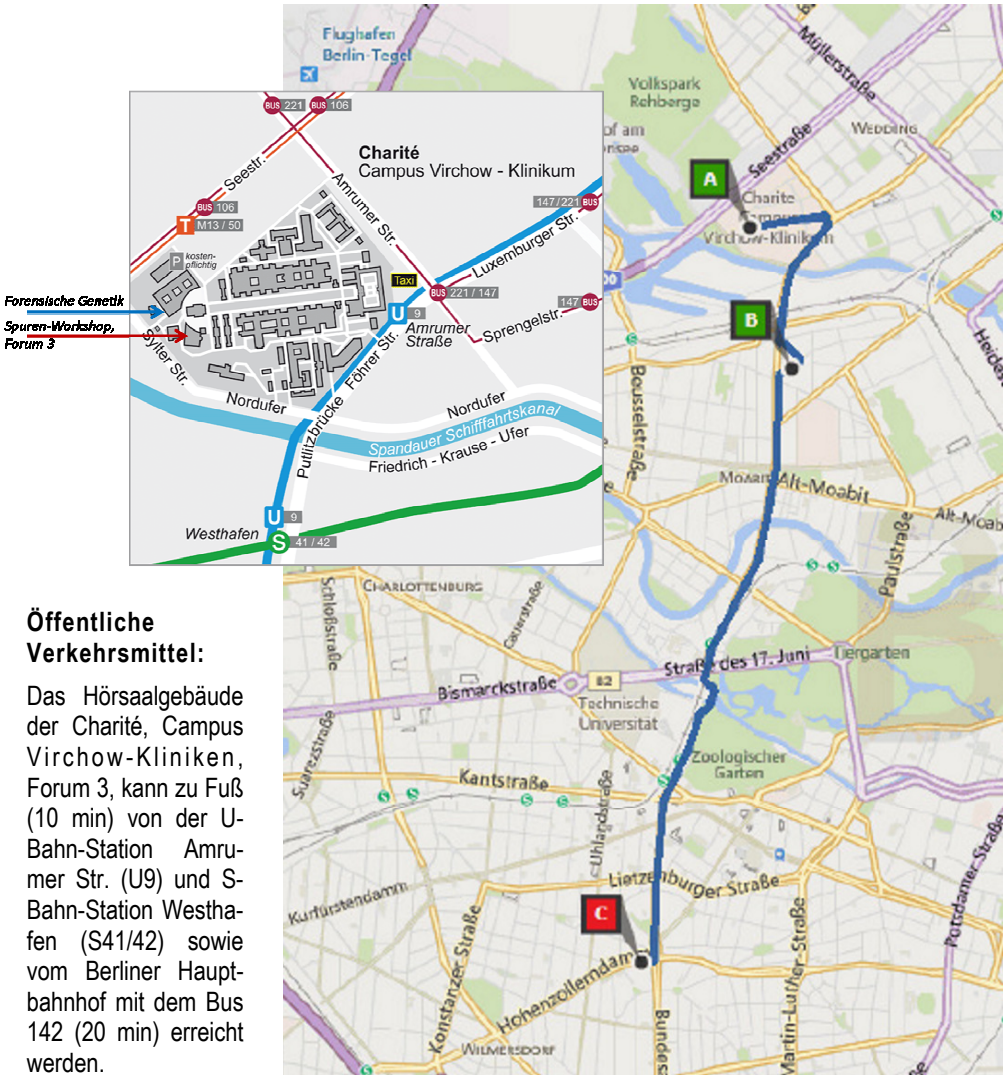
Freitag, 27.02.2015 11 - 18:30 Uhr
Samstag, 28.02.2015 8:30 - 14:30 Uhr

**Institut für Rechtsmedizin
Charité - Universitätsmedizin Berlin**

Abteilung Forensische Genetik
Augustenburger Platz 1, D-13353 Berlin
Telefon: +49(0)30 450 525032



... den Überblick behalten



Öffentliche Verkehrsmittel:

Das Hörsaalgebäude der Charité, Campus Virchow-Kliniken, Forum 3, kann zu Fuß (10 min) von der U-Bahn-Station Amrummer Str. (U9) und S-Bahn-Station Westhafen (S41/42) sowie vom Berliner Hauptbahnhof mit dem Bus 142 (20 min) erreicht werden.

Vom Flughafen Berlin-Tegel können Sie den Bus TXL /106 (ca. 25 min), oder das Taxi (10 min) nutzen.

Eine Übersicht über den öffentlichen Verkehr in Berlin gibt es auf: www.bvg.de
Eine genaue Karte finden Sie unter: bit.ly/fRdKeu

Empfehlungen:

- BVG-Fahrschein für den gesamten Nahverkehr - 4-Fahrten-Karte, Einzelfahrausweise Berlin AB, für 2 Std. = 9,00 €
- Kleingruppen Tageskarte (für bis zu 5 Personen) ab Entwertung bis zum Folgetag 3 Uhr = 16,90 €

Herzlichen Dank für Ihre Unterstützung

Begleitende Industrieausstellung

abf diagnostics GmbH, Kranzberg
coloprint GmbH, Düsseldorf
Galantos Genetics GmbH, Mainz
GenXPro GmbH, Frankfurt a.M.
Hamilton Bonaduz AG, Schweiz
integenX Europe
Illumina GmbH Deutschland, München
Kisker Biotech GmbH & Co. KG, Steinfurt
Life Technologies GmbH, Darmstadt
Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren
4 titude Ltd., Berlin

MacTech Buncak AG, Schweiz
NIPPON GENETICS EUROPE GmbH, Dueren
Promega GmbH, Mannheim

QIAGEN[®] QIAGEN GmbH, Hilden
Qualitype GmbH, Dresden
SERATEC Gesellschaft für Biotechnologie mbH,
Göttingen

Außerdem: bj-diagnostik GmbH, Göttingen
Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg
Lumatec GmbH, Deisenhofen
Optimal Systems Vertriebs GmbH, Jena
Sarstedt AG & Co., Nümbrecht

You'll always insist on Quality Sensor!

Interested? Visit our booth!

Internal STR performance control

- Detect false negatives
- Detect inhibition
- Detect degradation
- Available in ESS and CODIS expansion formats

For up-to-date licensing information and product-specific disclaimers, see the respective kit handbook or user manual.
Trademarks: QIAGEN[®], Investigator[®] (QIAGEN Group). © 2015 QIAGEN, all rights reserved.



Sample & Assay Technologies