



Deutschen Gesellschaft
für Abstammungsbegutachtung

Deutschsprachige Arbeitsgruppe
der ISFG



Gemeinsame Jahrestagung in Mainz, 18. – 19. Juni 2010

KURZFASSUNG DER VORTRÄGE

Freitag, 18. Juni 2010

25 Jahre „Genetic Fingerprinting“ - ein Anlass für einen Rückblick auf die Geschichte der Forensischen Genetik

Szibor, R.

Institut für Rechtsmedizin, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Sir A. J. Jeffreys eröffnete im März 1985 mit seiner Publikation "Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA" die Ära der forensischen Molekulargenetik. Die Grundlagen für die forensische Serogenetik wurden aber schon 1901 mit der Entdeckung des ABO-Systems gelegt. Diese genannten Ereignisse sind jedoch nur besondere Meilensteine in einer für die Abstammungsbegutachtung relevanten und langen Geschichte der biologischen Forschung. Anlässlich des 25 jährigen Jubiläums des "Genetic Fingerprinting" wird versucht, einen kurzen Abriss der Geschichte der Forensischen Genetik darzustellen.

Bedeutung einer uniparentalen Disomie (UPD) für die Abstammungsbegutachtung

Zang, K.

IGD Saar GmbH

Die UPD beim Menschen entsteht durch eine fehlerhafte Aufteilung eines Chromosomenpaars der 1. oder 2. meiotischen Teilung oder auch in einer der ersten postzygotischen mitotischen Teilungen. Eine solche Fehlverteilung kann bei beiden Geschlechtern auftreten. Die Folge ist, dass bei einem Kind die beiden Partner eines Chromosomenpaares (oder Teile davon) von einem Elternteil stammen und vom anderen Elternteil keiner.

Die Mendel'sche Gesetze sind eine wesentliche Grundlage für die Abstammungsbegutachtung.

Durch diesen Mechanismus werden sie unterlaufen. Bei der molekulargenetischen Untersuchung finden sich dann bei dem betreffenden Kind in einem oder mehreren auf dem betreffenden Chromosom lokalisierten ‚Systemen‘ nur von der Mutter bzw. nur vom Vater stammende Merkmale. Dadurch kann eine Ausschlusskonstellation vorgetäuscht oder verdeckt werden.

In vielen Fällen führt die entstandene genetische Imbalance zu klinischen Auffälligkeiten, die den Verdacht auf eine UPD wecken können. Ein hoher Prozentsatz ist jedoch unauffällig.

In diesem Referat werden (a) die unterschiedlichen Entstehungsmechanismen einer uniparentalen Hetero- und Isodisomie, (b) die unterschiedlich Häufigkeit beim weiblichen und männlichen Geschlecht und (c) die unterschiedliche Häufigkeit bei den einzelnen Chromosomen dargestellt.

Es werden die möglichen Konsequenzen für die Abstammungsbegutachtung diskutiert.

X-chromosomale STRs in der Forensik

Edelmann, J., Hering, S. und Szibor, R.

Institut für Rechtsmedizin der Universitäten Leipzig und Magdeburg

Der Vortrag gibt eine Übersicht zum gegenwärtigen Stand der Validierung von ChrX-STRs für die forensische Anwendung und zeigt die wichtigsten Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe.

Zu den Besonderheiten der ChrX-Marker gehört, dass sie durch das Auftreten von Rekombination mit autosomalen STRs vergleichbare Eigenschaften besitzen, aber auch einem streng geschlechtsabhängigen Vererbungsmodus unterliegen und messbare Haplotypen aufweisen. Der reguläre X-chromosomale Erbgang ist charakterisiert durch die Transmission des ChrX von Müt-

tern auf Söhne und Töchter sowie von Vätern ausschließlich auf Töchter. Daraus resultieren eine eingeschränkte Anwendbarkeit und gleichzeitig ein besonderes Potential dieser Marker im Abstammungstest.

Die Anwendung von ChrX-Markern konzentriert sich neben Vaterschaftsnachweisen für Töchter, Vaterschaften mit verwandten PV, Mutter/Sohn- oder Schwesterschaftsnachweisen, hauptsächlich auf die Klärung von Defizienzfällen.

Der erste Teil unseres Projektes bestand in der Suche nach potentiellen polymorphen Markern auf dem ChrX und Prüfung ihrer Eignung. Die Validierung der STRs beinhaltet die allgemein üblichen Punkte sowie erste Aussagen zur Lokalisation der Marker. Der zweite Teil umfasste die genaue Beschreibung der Lage der Polymorphismen auf dem ChrX, die Ermittlung ihrer genetischen Distanzen, Aussagen zu bestehenden Kopplungen, Prüfung gekoppelter Marker auf Kopplungsungleichgewicht und die Charakterisierung von Kopplungsgruppen, um Haplotypfrequenzen eng gekoppelter Markercluster in der forensischen Fallarbeit nutzen zu können. Haplotypen wurden durch die Untersuchung männlicher Individuen ermittelt und die Prüfung der Vererbungsstabilität der Kopplungsgruppen erfolgte durch Familienuntersuchungen (Großvater-Mutter-Sohn Trios). Besondere Bedeutung kommt dabei der rekombinationsfreien Centromerregion zu.

Mit dem Argus-X12 Testkit (Biotype) verfügen wir gegenwärtig über ein hoch informatives Instrumentarium, um spezielle Abstammungsnachweise und Defizienzfälle effektiv zu lösen. Weiterhin ist mit einer online verfügbaren Datenbank (www.chrx-str.org) Zugang zu bisher publizierten Daten gegeben. Es werden Fallbeispiele zur Anwendung von ChrX-STRs vorgestellt.

Gegenwärtiger Untersuchungsschwerpunkt ist die ergänzende Markerkategorie der dialleli-schen INDEL-Polymorphismen des ChrX, um ein Instrumentarium für degradierte DNA zu schaffen.

Insertions- und Deletionspolymorphismen - eine sinnvolle Ergänzung in der Abstammungsbegutachtung?

Poetsch, M, Schwark, T. und von Wurmb-Schwark, N.

Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Essen und Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Kiel

So genannte Indels oder DIPs – Insertions- und Deletionspolymorphismen - ,können seit dem Herbst letzten Jahres schnell und einfach mit Hilfe des Mentype®DIPplex Amplifizierungskit der Firma Biotype analysiert werden. Neben Amelogenin enthält der Kit insgesamt 30 - über 19 autosomale Chromosomen verteilte – diallelische Indels mit einer maximalen Amplikonlänge von 160 bp und einem Mindestabstand von 10 Mbp zu gängigen STRs und SNPs. Der Kit wird von der Firma Biotype als optimale Ergänzung für die Abstammungsbegutachtung angeboten. In einer Pilotstudie mit 20 Triplett-Ausschlussfällen, 10 Vater-Kind oder Mutter-Kind Ausschlussfällen, 20 Fällen mit Mutationen und 15 Fällen mit der Fragestellung Vollgeschwisterschaft/Halbgeschwisterschaft sollen erste Aussagen über Aussagekraft dieses Kits in der Abstammungsbegutachtung getroffen werden.

LIMS für Abstammungslabore

Götz, F.

Qualitytype AG

Die gesetzlichen und Qualitätssicherungsanforderungen an Abstammungslabore sind heute schon sehr hoch. Daher ist eine lückenlose und nachvollziehbare Dokumentation aller Arbeiten im Labor unumgänglich. Hinzu kommen aber auch Anforderungen im Bereich Labormanagement um Untersuchungen schnell, qualitativ hochwertig und kostengünstig durchzuführen.

Ein Labormanagementsystem kann hier die täglich Arbeit vereinfachen und stellt zudem einen sicheren Weg dar den gesetzlichen Anforderungen gerecht zu werden.

Erste Erfahrungen mit einer neuen Multiplex-PCR für die Abstammungsbegutachtung (*Investigator IDplex®*)

Immel, U.D.

Institut für Rechtsmedizin, Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

Das Investigator® IDplex PCR Amplification Kit ist eine Multiplex-Anwendung für die 13 sogenannten CODIS (Combined DNA Index System) Marker sowie D2S1338, D19S433 and Amelogenin. Die 15 polymorphen STR-Loci D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, CSF1PO, FGA, TH01, TPOX und vWA sowie der Geschlechtsmarker Amelogenin werden simultan in einem PCR-Ansatz amplifiziert.

Dieses neue PCR-Kit eignet sich sowohl für forensische Fragestellung als auch für die Abstammungsbegutachtung. Das Kit wurde speziell für die schnelle und zuverlässige Erstellung von DNA-Befunden aus Blutproben bzw. Abstrichen der Wangenschleimhaut von Vergleichspersonen sowie aus Spuren entwickelt.

Erste Erfahrungen mit dem Investigator® IDplex PCR Amplification Kit bei der Analyse für Abstammungsgutachten werden vorgestellt.

Zwei unterschiedliche mitochondriale Genome in mütterlich verwandten Personen

Lutz-Bonengel, S., Sänger, S., Niederstätter, H., Huber, G., Pollak, S. und Parson, W.

Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Freiburg und Institut für gerichtliche Medizin, Medizinische Universität Innsbruck

Nach derzeitigem Wissensstand wird das menschliche mitochondriale Genom entlang der mütterlichen Linie vererbt. Von paternalen Vererbung wurde bisher nur ein einziges Mal berichtet (Schwartz and Vissing, 2002). In diesem besonderen Fall handelte es sich um einen Myopathie-Patienten, der sowohl den mütterlichen als auch den väterlichen mitochondrialen Haplotyp im Muskel aufwies.

Nun konnten wir eine Mischung von zwei mitochondrialen Haplotypen im Blut einer gesunden Frau beobachten. Was sich zuerst als Kontamination darstellte, erwies sich als eine in vivo vorliegende Mischung von zwei mitochondrialen Haplo-

typen, die sich unterschiedlichen Haplogruppen (hg V und hg U4c1) zuordnen lassen. Die Untersuchung von WSA, Haaren und Einzelzellen und von maternal verwandten Personen erbrachte überraschende Ergebnisse.

Typisierungsqualität in Abhängigkeit von unterschiedlichen PCR-Volumina

Muche, M. und Martin, R.

Institut für Blutgruppenserologie und Genetik, Hamburg

Die Reduzierung des Volumens der PCR-Reaktion bei kommerziell erhältlichen Untersuchungskits ist inzwischen weit verbreitet und gilt allgemein für Proben ausreichender Güte als unproblematisch. Ein derartiges Verfahren ist allerdings im jeweiligen Laborkontext zu validieren, da die Zunahme stochastischer Effekte und stärker ausgeprägte Intra- und Inter-Locus-Imbalancen zu erwarten sind.

Eine entsprechende Studie durch den Vergleich der Amplifikation identischer Proben mit vollem und reduzierten Ansatz zeigt, dass zwar tatsächlich statistisch signifikant Imbalancen in höherem Maß beobachtet werden, dass bei angepasster Wahl der Analyseparameter – zumindest für Proben guter Qualität – trotzdem eine hinreichende Ergebnishüte erzielt wird. Allelic Dropouts wurden bei unserem Probenmaterial nicht beobachtet.

Prospektiv wären die Ergebnisse durch die Erhöhung der Probenzahl und/oder die Einbeziehung von problematischem Probenmaterial abzusichern.

Hochdurchsatz-Vaterschaftsanalysen bei Schafen

Rolf, B. und Brendel, T.

Abteilung für Forensische Genetik, Eurofins Medigenomix GmbH, Martinsried

Im Auftrag einer Schafzüchtervereinigung haben wir in gesamt 9722 Schafe (224 Böcke, 5971 Lämmer und 3527 Muttertiere) genotypisiert. Ziel der Untersuchung war die Klärung der Abstammung der Lämmer zum Erstellen von Zuchtbüchern. Der Vortrag beschreibt die verwendeten Methoden zur Extraktion, die untersuchten PCR Marker und die Auswertungsstrategie. Darüber

hinaus werden die Ergebnisse präsentiert und der Einfluss der Typisierung der Mutterschafe auf die Zuordnung der Lämmer zu den Böcken diskutiert.

Einsatz der SNP-Analytik bei einem Vaterschaftsfall mit 3 Ausschlüssen

Maurer, U. und Olek, K.

L.f.A. Labor für Abstammungsbegutachtungen GmbH, Rheinbach

Die Untersuchung eines klassischen Terzett-Falls mit dem PowerPlex 16 – Kit ergab in 2 Markersystemen einen Ausschluss. Die zusätzliche Analyse von 6 weiteren STR-Markern zeigte eine dritte Ausschlusskonstellation. Nach den Kriterien der Richtlinien für die Erstattung von Abstammungsgutachten ist der dreifache

Ausschluss formal als Ausschluss von der Vaterschaft anzusehen. Die statistische Berechnung ergab jedoch unter Einbeziehung der Ausschlüsse einen W-Wert von 99,9376 %. Aufgrund des ermittelten W-Wertes wurde zur Absicherung der Abstammung die SNP-Analyse eingesetzt. Mit Hilfe der Primer-Extension-Reaktion

(ABI PRISM® SnaPshot™-Kit) wurden 51 SNPs analysiert und ausgewertet. Zur Bestimmung der Allelfrequenz wurden 58 nicht miteinander verwandte europäische Männer und 71 nicht miteinander verwandte europäische Frauen untersucht. In keinem der 51 untersuchten SNPs konnte ein Ausschluss festgestellt werden, die statistische Berechnung ergab einen W-Wert von 99,9994 %.

Nachweis fetaler Blutgruppen aus mütterlichem Blut unter Einbeziehung von 40 SNPs als interner Kontrolle

Doescher, A. und Schunter, M.

Blutspendedienst N.S.T.O.B., Institut Bremen-Oldenburg

Einführung: Der Nachweis MHN-relevanter fetaler Blutgruppen aus dem Plasma schwangerer Frauen gewinnt zunehmend an diagnostischer Bedeutung. Die Genotypisierung erfolgt durch die PCR-Amplifikation bestimmter Gensequenzen beziehungsweise den Nachweis charakteristischer Polymorphismen. Die Interpretation der Genotypisierung gestaltet sich bei negativen Ergebnissen

schwierig, da nicht unterschieden werden kann, ob a) eine mangelnde Sensitivität der PCR-Methode vorliegt, es b) zum Ausfall einzelner PCR-Reaktionen gekommen ist oder ob c) das ungeborene Kind *RHD*-negativ ist. Es wurde eine Methode entwickelt, in der im Rahmen einer Multiplex-PCR 40 SNP's als interne Kontrollen eingesetzt werden, die das Vorhandensein fetaler DNA nachweisen sollen. Die Auswahl der eingesetzten SNP's erfolgte in Anlehnung an die Veröffentlichung der "SNP for ID" Datenbank.

Material und Methoden: 128 Proben (jeweils fetale & maternale DNA) wurden in einem Multiplex-PCR Ansatz auf die *RHD*-spezifischen Exons 3,4,5,7 und insgesamt 40 SNP's verteilt auf 3 Primer-Poole untersucht. Der Nachweis der Amplikons erfolgte mittels "Single base extension" (SBE) und der GeneScan-Methode in einem ABI 310. Die Ergebnisse der *RHD*-Typisierung wurden entweder mit den Resultaten der Fruchtwasseruntersuchungen (n=51) oder mit einer TaqMan-PCR verglichen (n=77). Die Frequenz der SNP's wurde berechnet und mit den Angaben aus der "Allele frequencies database" (ALFRED) verglichen.

Ergebnisse: Mit zwei Ausnahmen zeigte die berechnete Frequenz der SNP's eine sehr gute Übereinstimmung mit den Angaben zur deutschen Population in der oben genannten Datenbank. In 95% der Proben konnten unterschiedliche SNP-Muster in fetaler und maternaler DNA gezeigt werden, 5% der Proben zeigten dagegen keine Unterschiede. In 5 von 40 als *RHD*-negativ vortypisierten Proben konnte keine interne positive Kontrolle nachgewiesen werden, weitere 6 Proben zeigten ein falsch positives Signal für die Bestimmung des *RHD*. Kein Fall wurde beobachtet, in dem eine falsch negative *RHD*-Typisierung bei gleichzeitiger Detektion der positiven internen Kontrolle erfolgte.

Schlußfolgerung: Die gleichzeitige Amplifikation von SNP's und *RHD*-spezifischen Sequenzen ermöglicht den Einsatz einer internen positiven Kontrolle bei der pränatalen Blutgruppenbestimmung, ohne dass eine paternale DNA-Probe in die Untersuchung einbezogen werden muss. Die Methodik der "single base extension" eröffnet die vergleichsweise einfache Möglichkeit, in die bestehenden SNP-Poole statt *RHD*-spezifischer Sequenzen andere Blutgruppenpolymorphismen wie z.B. *KEL*, *RHE* oder *RHC* zu integrieren.

Neue STR-Kits für die Abstammungsbegutachtung

Starke, C

Qiagen GmbH

Seit April diesen Jahres bietet QIAGEN seine neue Produktlinie Investigator STR Kits für die genetische Identifizierung an. Dabei stehen Technologien zur Analyse autosomaler und gonosomaler Loci ebenso zur Verfügung wie innovative Tri- und Hexaplex Produkte für Screening, Low-Template und kombinatorische Strategien. Das neue Portfolio komplettiert QIAGENS führende Technologien für die Probenaufreinigung, Probenmanagement und Automation im Bereich der genetischen Identifizierung.

Der Vortrag gibt einen Überblick über die neuen Produkte speziell für die Abstammungsbegutachtung. Hierbei werden die Kitkonfigurationen und –spezifitäten des neuen Investigator IDplex, HDplex sowie das Argus X-12 Kit gezeigt und anhand von Kasuistiken aus der Fallarbeit ihre Vorteile für die Abstammungsbegutachtung demonstriert.

[Samstag, 19. Juni 2010](#)

Rechtliche Rahmenbedingungen des Gendiagnostikgesetzes

Genenger, A.

Institut für deutsches und europäisches Arbeits- und Sozialrecht

Der Vortrag hat eine allgemeine wie konkrete rechtliche Betrachtung des Gendiagnostikgesetzes zum Gegenstand. Denn Beginn wird eine kurze Darstellung der bisherigen "Anläufe" zur Schaffung eines Gendiagnostikgesetzes bilden, welche dann zur aktuellen Fassung des Gesetzes (inklusive kurz vor Inkrafttreten durchgeführter Änderungen) überleiten soll. Nach einem Überblick über die Systematik des Gendiagnostikgesetzes gebührt der Schwerpunkt des Vortrags den Regelungen über die Abstammungsbegutachtung und soll insbesondere dazu beitragen, dies seitens des Gesetzgebers nicht immer nachvollziehbare Verweisungstechnik von den speziellen Abstammungsgutachten-Vorschriften auf die allgemeinen Vorschriften so verständlich zu machen,

dass der Ablauf des abstammungsgutachterlichen Verfahrens aus rechtlicher Sicht klarer wird.

Weitere Rechtsfragen des gerichtsverwertbaren privaten Abstammungsgutachtens in Deutschland

Rittner, Ch. und Rittner, N.

Institut für Rechtsmedizin, Kaiserslautern

Nach den Entscheidungen des BGH und EVerfG 2006/07 ist ein nicht richterlich konformes, nicht konsentiertes Privatgutachten nicht beweiserwertbar. Seit Feb. 10 erfordert das GenDG eine individuelle Aufklärung und Einwilligung einer Person in ein genetisches DNA-Gutachten (§ 17). Seit 2009 kann eine fehlende Einwilligung durch das Gericht ersetzt werden (§ 1598a BGB). Das sich anschließende Vaterschaftsgutachten ist jedoch nicht gesetzlich geregelt. Aus dieser unklaren Gesetzeslage ergeben sich umfangreiche, über die Anforderungen des GenDG hinausgehende Rechtspflichten des Gutachters in Bezug auf den/die privaten Auftraggeber. Diese werden durch Fallbeispiele belegt.

Die Rolle der Gendiagnostik-Kommission bei der Umsetzung des Gendiagnostikgesetzes

Schneider, P.M.

Institut für Rechtsmedizin, Köln

Die Gendiagnostik-Kommission (GeKo), eine interdisziplinär zusammengesetzte, unabhängige Kommission von 13 Sachverständigen aus den Bereichen Medizin und Biologie, zwei Sachverständigen aus den Fachrichtungen Ethik und Recht sowie drei Vertretern von Patienten- und Verbraucherorganisationen sowie aus Selbsthilfeorganisationen behinderter Menschen, erstellt in Bezug auf den allgemein anerkannten Stand der Wissenschaft und Technik Richtlinien. Der gesetzliche Richtlinienauftrag, der in § 23 Gendiagnostik-Gesetz (GenDG) im Einzelnen dargelegt ist, betrifft insbesondere die Beurteilung genetischer Eigenschaften in verschiedenen medizinischen Zusammenhängen, die Anforderungen an die Qualifikation, die für bestimmte Tätigkeiten nach dem Gesetze erforderlich sind, Anforderungen an die Inhalte der Aufklärung und genetischen Bera-

tung sowie an die Durchführung genetischer Analysen genetischer Proben, Anforderungen an die vorgeburtliche Risikoabklärung und an die Durchführung genetischer Reihenuntersuchungen.

Die Gendiagnostik-Kommission wurde vom BMG im November 2009 erstmals auf Basis des Gendiagnostik-Gesetzes vom 31. Juli 2009 berufen und hat mittlerweile drei Sitzungen abgehalten. Zur Erfüllung der zahlreichen Aufgaben wurde eine Reihe von Arbeitsgruppen gebildet, in denen die jeweiligen Richtlinien gemäß §23 erarbeitet werden sollen. Im Vortrag wird über die aktuellen Themenschwerpunkte der Kommissionsarbeit berichtet.

Fromelles War Graves Project: Identification of skeletal remains from WW1

Ch. Winkler und Thomson, J.

Institut für Blutgruppenforschung LGC GmbH, Köln

Erster Weltkrieg: Der Angriff auf die deutschen Stellungen beim nordfranzösischen Fromelles sollte eigentlich die festgefahrenen Gefechte der Sommeschlacht rund 80 Kilometer südlich entlasten, doch die Attacke endete in einem blutigem Desaster. Am Ende des Gemetzels, das sich mehr als 24 Stunden hinzog, waren etwa 1500 Briten und 1500 Deutsche tot oder verwundet. Doch am schwersten hatte es die Australier getroffen: 5533 Soldaten waren vermisst, getötet oder verletzt.

Mehr als 90 Jahre später, im Mai 2008, haben Forscher ein Massengrab in einem Waldstück entdeckt, in dem sie die Gebeine von bis zu 400 britischen und australischen Soldaten vermuteten, die die Deutschen nach der Schlacht dort begraben haben sollen. Von einem Team aus Archäologen und Gerichtsmedizinern unter Schirmherrschaft der Commonwealth-Kriegsgräberkommission konnten schließlich die Überreste von 250 britischen und australischen Soldaten geborgen werden. LGC wurde damit beauftragt, die gefallen Soldaten anhand von DNA-Analysen zu identifizieren, um die Toten mit militärischen Ehren auf einem neu geplanten Soldatenfriedhof bestatten zu können.

PowerPlex® ESX und ESI - 17 STR-Loci nicht nur für die forensische Fallarbeit

Loffeld, B.

Promega GmbH, Mannheim

Seit Herbst letzten Jahres bietet die Promega GmbH mit den neuen PowerPlex® ESX und ESI Systemen ein Komplettsystem an, das alle 12 Marker des neuen Europäischen Standardsatzes berücksichtigt. Zusätzlich enthalten die Systeme neben D2S1338, D16S539 und D19S433 den besonders aussagekräftigen SE33 Marker. Durch diese neuartige Zusammensetzung erhöht sich die statistische Ausschlusswahrscheinlichkeit nicht nur bei der forensischen Fallarbeit, sondern auch bei Referenzproben, wie sie bei Vaterschaftsanalysen verwendet werden. Das Konzept der beiden PowerPlex® ESX und ESI Systemen beruht darauf, dass es zwei unabhängige STR-Systeme mit unterschiedlichen Primersets sind.

Zusätzlich sind die Systeme extrem unempfindlich gegen PCR-Inhibitoren. Durch die sehr hohe Sensitivität und dem Einsatz kurzer Amplikons kann auch bei degradiertem und geringem DNA-Material ein vollständiges STR-Profil erstellt werden.