Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

Wie ist die DNA an das Kleidungsstück gekommen?

Molekulargenetische Analysen zur Antragung und Übertragung von Epithelzellen

I n a u g u r a l – D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Janine Helmus geb. Allmann
aus Essen
2017

Dekan:	Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer
1. Gutachter:	Frau Prof. Dr. rer. nat. M. Poetsch
2. Gutachter:	Herr Priv.-Doz. Dr. rer. nat. L. Klein-Hitpaß

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Mai 2018

Publikationen

Helmus J, Bajanowski T, Poetsch M (2016):
DNA transfer - a never ending story. A study on scenarios involving a second person as carrier.
Int J Legal Med 130:121-125.

Poetsch M, Konrad H, Helmus J, Bajanowski T, von Wurmb-Schwark N (2016):
Does zero really mean nothing? – First experiences with the new PowerQuantTM system in comparison to established real time quantification kits.
Int J Legal Med 130:935-940.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung ... 7
1.1 DNA-Analyse in der forensischen Genetik ... 7
1.2 Short Tandem Repeats (STR) ... 8
1.2.1 Nomenklatur der STRs ... 10
1.2.2 Nomenklatur der Allele ... 11
1.3 Datenbank der Polizei für die Strafverfolgung ... 13
1.4 Identitätswahrscheinlichkeit ... 14
1.5 Mischspuren ... 14
1.6 Kontaminationsproblematik der Spuren-Asservate ... 15
1.7 Studiendesigns ... 16
1.8 Fragestellung ... 17
2. Material und Methoden ... 18
2.1 Probanden ... 18
2.1.1 Untersuchung getragener Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank ... 18
2.1.1.1 Material (Kleiderschrank/getragene Kleidung) ... 19
2.1.2 Untersuchung zur DNA-Übertragung ... 20
2.1.2.1 Material (DNA-Übertragung) ... 21
2.1.2.2 Versuchsszenarios zur DNA-Übertragung ... 21
2.2 Kontrolle ... 23
2.3 Sicherung der DNA-Antragungen ... 24
2.3.1 Abkleben von Textilien ... 24
2.3.2 Abreiben von Plastiktüten ... 24
2.4 DNA-Extraktion ... 24
2.4.1 Material ... 25
2.4.2 Durchführung der Lysereaktion ... 25
2.4.3 Durchführung der Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion ... 26
2.4.4 Mundschleimhautabriebe ... 26
2.5 Polymerase Kettenreaktion (PCR) ... 26
2.6 DNA-Quantifizierung ... 28
2.6.1 Geräte und Material ... 28
2.6.2 Methode allgemein ... 28
2.6.3 Methode speziell ... 30

2.7 Amplifikation der short tandem repeats 33
2.7.1 Geräte und Materialien 33
2.7.2 Laborprotokoll PowerPlex® ESX 17 Fast 33
2.8 Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese 35
2.8.1 Methode allgemein 35
2.8.2 Geräte und Material 35
2.8.3 Methode speziell 36
2.8.4 Auswertung – STR-Analyse 36
2.8.5 Mischspur - Spurenverursacher 37
3 Ergebnisse 39
3.1 Untersuchungen an Kleidung 39
3.1.1 Quantifizierungsergebnisse 39
3.1.2 Ergebnisse der STR-Analysen 40
3.1.2.1 Gesamtergebnisse der DNA-Analyse über alle Kleidungsstücke von getragener Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank 40
3.1.2.2 Ergebnisse der DNA-Analyse von getragener Kleidung in Bezug auf die Möglichkeit der Zuordnung (Träger) 42
3.1.2.3 Ergebnisse der DNA-Analyse von Kleidung aus dem Kleiderschrank in Bezug auf die Zuordenbarkeit (Besitzer) 43
3.1.2.4 Ergebnisse der DNA-Analyse getragener Kleidung in den vier zweiköpfigen Familien 45
3.1.2.5 Ergebnisse der DNA-Analyse von Kleiderschrank-Kleidung in vier Zwei-Personen-Familien 46
3.1.2.6 Ergebnisse der DNA-Analyse getragener Kleidung in drei- bis fünfköpfigen Familien 47
3.1.2.7 Ergebnisse der DNA-Analyse von Kleiderschrank-Kleidung in drei- bis fünfköpfigen Familien 49
3.2 Untersuchung von DNA-Übertragungswegen 50
3.2.1 Quantifizierungsergebnisse 50
3.2.2 Zuverlässigkeit der Daten 51
3.2.3 Ergebnisse der STR-Analyse 51
3.2.3.1 Spender- und Überträger-Profile in den verschiedenen Durchgängen 51
3.2.3.2 Plastik als finales Akzeptor-Material – Szenarien 1-3 und 6-8 52
3.2.3.3 Baumwolle als finales Akzeptor-Material – Szenarien 4, 5, 9 und 10 53
3.2.3.4 Überträgerhand mit oder ohne Handschuh 53
3.2.4 Unterschied zwischen DNA-freien und DNA-haltigen Gegenständen 54

4 Diskussion **54**
4.1 Methodik 54
4.1.1 Quantifizierungsergebnisse 56
4.1.2 Zuverlässigkeit der Ergebnisse 57
4.2 Untersuchung an Kleidung 58
4.2.1 DNA-Antragungen an getragener Kleidung 58
4.2.2 DNA-Antragungen an Kleidung aus dem Kleiderschrank 60
4.3 Tertiärer DNA-Transfer 62
4.3.1 Einfluss des verwendeten Materials 63
4.3.2 Einfluss der Handschuhe 65
4.3.3 Einfluss durch gewählte Spurenleger 66
4.3.4 Einfluss des Kontakts auf die Übertragung 67
4.4 Auswirkungen der Ergebnisse auf die forensisch-genetische Routine 67
5 Zusammenfassung **69**
6 Literatur **70**
7 Anhang **76**
7.1 Abkürzungsverzeichnis 94
8 Danksagung **96**
9. Lebenslauf **97**

1. Einleitung

Die molekulargenetische DNA-Analyse ist seit mehreren Jahren ein unverzichtbarer Baustein in polizeilichen Ermittlungsverfahren. Zelluläres Material aller Art, das von Täter, Opfer oder anderen Tatbeteiligten am Tatort zurückgelassen wurde, lässt sich mit ihrer Hilfe (meist) eindeutig der Ursprungsperson zuordnen. Durch immer leistungsfähigere Techniken können bereits kleinste Mengen an Spurenmaterial eine hohe Aussagekraft erlangen, denn schon kleinste DNA Mengen (Schneider et al. 2011) oder sogenannte low-copy number DNA (geringe Anzahl an DNA-Kopien) (van Oorschot and Jones 1997, Wickenheiser 2002, van Oorschot et al. 2010) können in der forensischen Molekulargenetik aufgrund der hohen Sensitivität der Methode analysiert werden. Der unumstritten hohe Identifizierungsgrad solcher Spuren kann schließlich bei Gericht urteilsentscheidend sein. Dadurch kommen bei Gericht immer spezifischere Fragestellungen auf, so zum Beispiel, wessen DNA-Profil an Kleidung aus dem Kleiderschrank zu erwarten ist, oder ob DNA einer Person über eine weitere Person an einen Gegenstand wie ein Portemonnaie übertragen werden kann.

Diese Fragen sind nicht leicht zu beantworten, wenn schon wenige (van Oorschot and Jones 1997, Schneider et al. 2011) bzw. einzelne Zellen ausreichen (Findlay et al. 1997, Elliott et al. 2003, Di Martino et al. 2004), um ein aussagekräftiges DNA-Profil zu erstellen.

Ein Mensch kann pro Stunde ca. 1,5 Millionen Hautschuppen verlieren (Klimek et al. 2013), die Hautregeneration unterliegt jedoch unterschiedlichsten Einflussfaktoren wie dem Alter, Umwelteinflüssen, der Körperlokalisation und Erkrankungen (Moll et al. 2005). Bei körperlicher Gewalt, wie z.B. einem Schlag mit der Faust, können bis zu 300 Hautzellen in einer Kontaktregion gefunden werden, bei denen es sich neben den Hautschuppen (Korneozyten) um bis zu 3% kernhaltige Zellen handeln kann (Hammer et al. 1997).

1.1 DNA-Analyse in der forensischen Genetik

Die genetische Unverwechselbarkeit zweier Individuen (Ausnahme eineiige Zwillinge) stellt die Grundlage der forensischen Genetik dar. Durch markante Unterscheidungsmerkmale kann von einem Teil (einer Spur) auf das Ganze (den Spurenleger) geschlossen werden. Früher wurden hierzu Blutgruppen, Plasmaprotein- wie auch intrazelluläre Isoenzympolymorphismen und HLA-Antigene analysiert (Prokop and Göhler 1988, Dettmeyer et al. 2014). Erst 1985 wurde durch Alec Jeffreys der „genetische Fingerabdruck“ entwickelt, der auf der Untersuchung von sog. Minisatelliten-DNA beruht (Jeffreys et al. 1985a, Jeffreys et al. 1985b, Jeffreys et al. 1985c). Minisatelliten sind individualtypische repetitive Sequenzen mit Wiederholungseinheiten von 8-100

Basenpaaren. Heute werden in der forensischen DNA-Analyse überwiegend kleinere, nicht kodierende DNA-Abschnitte (keine Gene) verwendet, die sog. Mikrosatelliten oder auch Short-Tandem-Repeats (STR).

1.2 Short Tandem Repeats (STR)

Bei den sog. STRs bestehen die wiederholt hintereinander auftretenden Muster von identischen Basenpaarabfolgen aus 2-7 Basenpaaren. Die Anzahl der verschiedenen Wiederholungen (Repeatmotive) stellt die individuelle Variable zwischen verschiedenen Menschen dar. STRs kommen auf jedem Chromosom in mehreren Regionen vor (ca. alle 10.000 Nukleotide) und machen ca. 3% des gesamten Genoms aus.

Heterozygote Allele homologer Chromosomen unterscheiden sich auf DNA-Ebene hinsichtlich ihrer Sequenz oder ihrer Länge, man spricht auch von DNA-Sequenzpolymorphismus oder DNA-Längenpolymorphismus (Abbildung 1). Homozygote Allele sind identisch.

Sequenzpolymorphismus

-------GGA**G**AAG**T**CAAA-------

-------GGA**T**AAG**G**CAAA-------

Längenpolymorphismus

-------(GATA)(GATA)(GATA)-------

3 Repeats

-------(GATA)(GATA)------

2 Repeats

Abbildung 1: Sequenzpolymorphismus und Längenpolymorphismus (verändert nach Butler, 2005).

Die konkrete Auswahl dieser STRs erfolgt im Wesentlichen nach folgenden Kriterien: Praktikabilität (hohe Diskrimination und geringe Mutationsrate), Variabilität (hohe Anzahl unterschiedlicher Allele und gleichmäßige Verteilung dieser Allele in der relevanten Bevölkerung) und Kombinierbarkeit (in Bezug auf die Amplifikation mit der PCR (siehe unten)). Mittels verschiedener käuflich erwerblicher oder selbst entworfener Multiplex-Kits können mehrere STRs gleichzeitig amplifiziert werden. Aus der DNA einer Person entsteht dann ein so genanntes DNA-

Profil, also ein Muster aus verschiedenen Zahlen, die bestimmten STRs zugeordnet werden. Zeigen das DNA-Profil einer Einzelspur vom Tatort (z.B. aus einer Blutantragung) und das DNA-Profil einer Vergleichsperson in allen untersuchten und auswertbaren STRs identische Zahlenwerte, kommt diese Person als Spurenleger in Betracht.

Im Jahre 1983 wurde durch Kary Mullis die Polymerase-Kettenreaktion entwickelt, die er 1986 veröffentlichte. Hierbei werden durch Primer flankierte DNA-Sequenzen (Abbildung 2) zyklisch vervielfältigt (Mullis et al. 1994). Um solche Primer (Starthilfen) zu erstellen, müssen die Regionen, die bestimmte STR-Abschnitte begrenzen, bekannt sein. In einer Multiplex-PCR, in der mehrere DNA-Regionen gleichzeitig amplifiziert werden, trägt der Forward-Primer meist einen Fluoreszenzfarbstoff, sodass die Allele mittels Fluoreszenzdetektion nach erfolgter elektrophoretischer Trennung differenziert werden können (Gassen 1994, Dorak 2006, Busch 2007, Müller 2016).

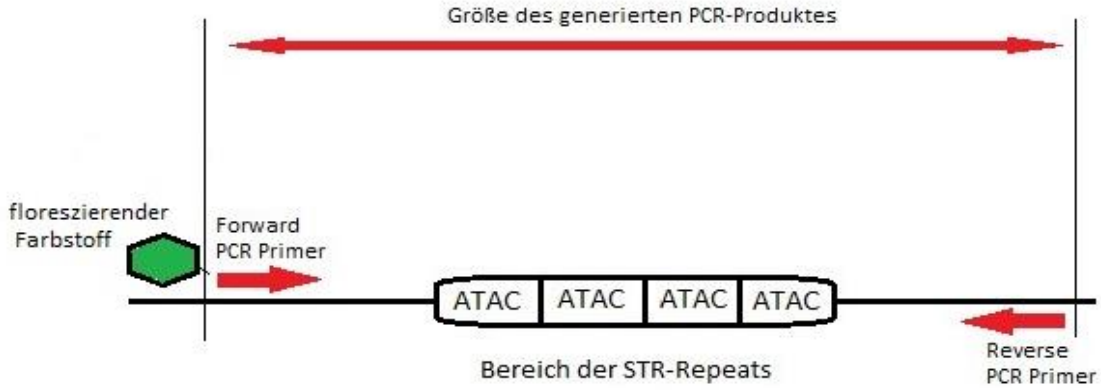

Abbildung 2: STR-Sequenz mit entsprechenden Primer Flankierungen für die PCR (verändert nach Butler, 2005)

Je nach Qualität der DNA (Erhaltungsgrad) bzw. Degeneration/Degradation können während des PCR-Prozesses Artefakte entstehen und zu unvollständigen STR-Profilen (allelic drop-out) führen. Das ist vor allem bei längeren Repeats der Fall, wenn bei einem heterozygoten Allelpaar nur ein Allel amplifiziert wird und damit eine falsche Homozygotie vorgetäuscht wird (Arismendi et al. 2004). Zur Vermeidung dieses Problems werden in der forensischen Genetik vorrangig Tetra- oder Pentanukleotidrepeats verwendet. Die generelle Unausgeglichenheit von Signalhöhenintensitäten bei heterozygoten Loci bis hin zum Ausfall eines Allels wird zurückgeführt auf die bevorzugte Amplifikation eines Allels (Kloosterman and Kersbergen 2003). Noch kürzere Repeats können zu sog. Stotterbanden führen (Slippage-Banden) (Walsh et al. 1996). Sie zeigen sich als um ein Repeat verkürzte „Stotterpeaks“ (Abbildung 3), die dadurch entstehen, dass bei der Elongation des

neusynthetisierten Stranges durch die Polymerase in den ersten PCR-Zyklen ein Repeat ausgelassen wird. Dadurch wird die Interpretation von DNA-Profilen, vor allem in Fällen mit Mischungen von DNA mehrerer Individuen (Mischspuren, Kap. 1.5), erschwert (Mullis et al. 1994, Butler 2005, Schneider et al. 2006, Butler 2011, Müller 2016, Schneider 2016).

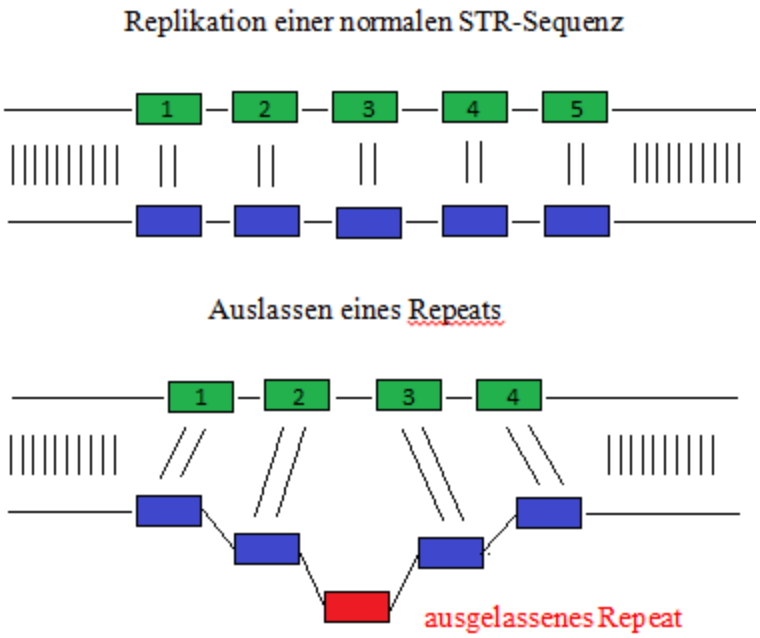

Abbildung 3: Entstehungsmechanismus von Stotterbanden (verändert nach Walsh et al. 1996).

Zudem können Allelausfälle durch Mutationen in den Primer-Bindungsstellen entstehen (Hellmann et al. 2001)

Durch Kontaminationen der PCR-Reagenzien oder DNA-Extrakte kann es zu zusätzlichen Allelen, sog. allelic drop-ins, kommen. Diese Art von PCR-Artefakten können manchmal nur schwer von Mischspuren unterschieden werden (Butler 2005, Butler 2011).

1.2.1 Nomenklatur der STRs

Die verwendeten STRs werden nach einem einheitlichen System benannt. Die Benennung setzt sich aus dem Gen-Namen und der Lokalisation des Introns zusammen. Zum Beispiel befindet sich der STR TH01 auf dem Tyroxinhydroxylase-Gen im Intron 1. Liegen STRs außerhalb von Genen, werden sie nach der jeweiligen Chromosomen-Nummer und der sog. Laufnummer benannt. Die Laufnummer bezieht sich auf die Reihenfolge der Loci auf dem Chromosom, in der die Marker entdeckt und beschrieben wurden (Butler 2005).

Als Beispiel die Aufschlüsselung folgenden STR-Markers: D 12 S 391

D	für DNA-Marker
12	auf Chromosom 12 lokalisiert
S	single copy sequence
391	der Locus auf Chromosom 12, der als 391. entdeckt wurde

1.2.2 Nomenklatur der Allele

Die Allelbenennung erfolgt abhängig von der Häufigkeit eines Repeats. Werden z.B. beim STR FGA in der molekulargenetischen Analyse die Allele 25 und 26 gefunden (Abbildung 4), weist die Person, von der die DNA stammt, auf dem einen Chromosom 25 und auf dem anderen 26mal den Tetranukleotidrepeat auf (Butler 2005).

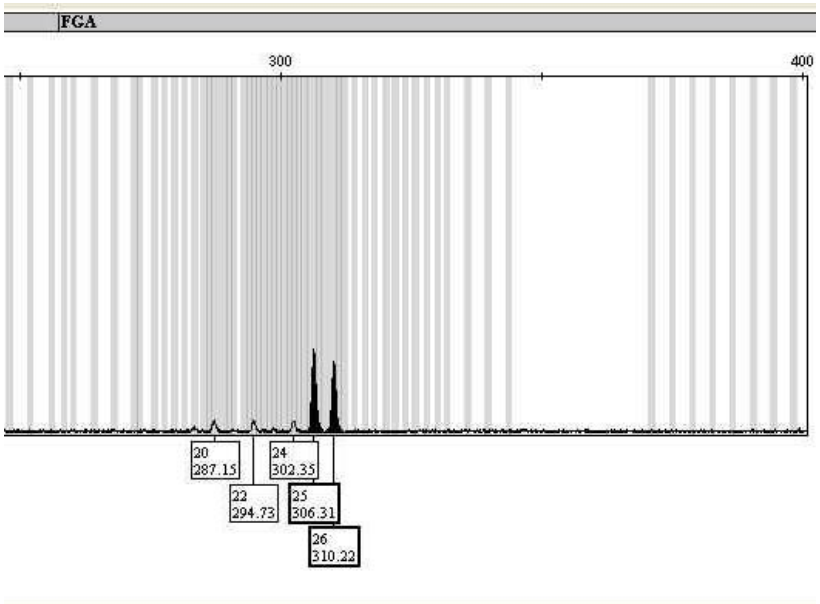

Abbildung 4: Beispiel STR des Locus FGA mit den Haupt-Allelen 25 und 26.

In der Natur auftretende Verkürzungen oder Verlängerungen der Tetranukleotideinheit werden als Mikrovarianten bezeichnet (Butler 2005, Butler 2011). Ein Allel mit 24 vollständigen Tetranukleotidrepeats und einem um eine Base verkürzten Repeat wird entsprechend als 24.3 bezeichnet (die „3“ steht hier für die drei Basen der unvollständigen Wiederholungseinheit). Diese Art eines Basenverlusts (Deletion) wird auch als Mikrovariante bezeichnet.

Tabelle 1: In dieser Studie relevante STR Loci (x=variable Base) (verändert nach Butler 2005)

Chromosom	STR-Locus	Repeat	Anzahl der Repeats	Kategorie
3p21.31	**D3S1358**	TCTx	11 – 20	compound
11p15.5	**TH01**	TCAT	5 – 11	simple
21q21.1	**D21S11**	TCTx	24.2 – 39	complex
18q21.33	**D18S51**	AGAA	9 – 28	simple
10q26.3	**D10S1248**	GGAA	8 – 19	simple
1q42	**D1S1656**	TAGAx	10 – 19.3	complex
2q35	**D2S1338**	TxCC	15 – 27	compound
16q24.1	**D16S539**	GATA	5 – 15	simple
22q12.3	**D22S1045**	ATT	8 – 19	simple
12p13.31	**vWA**	TCTx	11 – 21	compound
8q24.13	**D8S1179**	TCTx	8 – 18	compound
4q31.3	**FGA**	xTxx	16.2 – 43.2	complex hypervariable
2p14	**D2S441**	TCxA	8 - 17	compound
12p13.2	**D12S391**	AGAx	14 – 27	compound
19q12	**D19S433**	xAGG	9 – 18.2	compound
6q14	**SE33**	AAAG	6.3 – 36	simple

STR Sequenzen unterscheiden sich nicht nur in der Länge und Anzahl ihrer Repeats, sondern auch in der Genauigkeit ihres aufgestellten Musters. Man unterscheidet folgende Kategorien (Butler 2005, Butler 2011):

- Simple repeats: gleichmäßige Einheit aus identischer Länge und Sequenz

  (z.B. D10S1248: GGAA)

- Compound repeats: beinhalten zwei oder mehr anschließende simple repeats

  (z.B. D2S1338: TGCC, TTCC)

- Complex repeats: verschiedene Repeat-Blöcke aus unterschiedlichen Längeneinheiten oder Sequenzeinheiten (z.B. D1S1656: TAGA, TGA, TAGA, TAGG, TG)

- Complex hypervariable repeats: irreguläre Nukleotide, unterschiedlicher Länge, Sequenz und Position (z.B. FGA: TTTC, TTTTTTCT, CTTT, CTCC, TTCC)

Die im Rahmen dieser Studie verwendeten STRs sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

1.3 Datenbank der Polizei für die Strafverfolgung

1998 wurde in Deutschland eine DNA-Datenbank eingerichtet, die sog. DNA-Analysedatei, kurz DAD, des Bundeskriminalamts (BKA). In dieser Datenbank werden STR-Muster von (verurteilten) Tätern und von unbekannten DNA-Spuren, die an Tatorten gefunden wurden, eingestellt. Bei der Einführung der Datenbank bezog sich das nur auf erhebliche Straftaten wie Tötungsdelikte, schwere Körperverletzungen oder Sexualdelikte - mit zunehmendem Erfolg der Datenbank wurden immer mehr Delikte bis hin zu einfachem Diebstahl und Wirtschaftskriminalität mit einbezogen. So wurden z.B. durch das BKA 2009 70000 Personentreffer angegeben, welche zu 80% Diebstahlsdelikten zuzuordnen waren. Vergewaltigungen machten nur gut 3% und Tötungsdelikte knapp 1% der Treffer aus. Bei jeder Neueinstellung findet ein Abgleich mit bereits bekannten Profilen statt, sodass neue Straftaten bereits bekannten Tätern, aber auch unaufgeklärte Taten neu ermittelten Tätern zugeordnet werden können (Dettmeyer et al. 2014). In 2009 wurde per Gesetz festgelegt, die acht bislang in Deutschland verwendeten STR-Systeme (SE33, D21S11, VWA, TH01, FGA, D3S1358, D8S1179, D18S51) um fünf neue zu erweitern (D1S1656, D10S1248, D12S391, D2S441, D22S1045) und optional noch um drei weitere zu ergänzen (D2S1338, D16S539, D19S433), welche in anderen EU-Ländern verwendet werden (siehe Tabelle 1), um so eine einheitliche Basis für eine europaweite DNA-Analysedatei zu schaffen.

Schon anhand der acht Merkmalsysteme mit jeweils zwei Allelen ergab sich ein aus 16 Zahlen bestehendes, biostatisches Identifizierungsmuster, welches in Mitteleuropa (rein rechnerisch) durchschnittlich nur einmal unter mehreren hundert Milliarden Menschen anzutreffen ist und somit kann bei vollständiger Übereinstimmung zwischen zwei DNA-Profilen die Identität als „praktisch erwiesen“ gelten (Hohoff and Brinkmann 2003). Durch die Erweiterung auf insgesamt 16 DNA-Systeme (Identitätsmuster aus 32 Zahlen) wurde die Aussagekraft im innereuropäischen Vergleich und auch die für Mischspuren (siehe Kapitel 1.5) verbessert.

Mit Ablauf des ersten Quartals 2017 umfasste die DAD 1.172.987 Datensätze, welche sich grob aus ⅔ Personendatensätzen und ⅓ Spurendatensätzen zusammensetzt. Monatlich kommen ca. 8.400 neue Datensätze hinzu, wobei alte (abgelaufene Asservierungsfristen) im Gegenzug gelöscht werden (seit 1998 etwa 509.513). Insgesamt wurden seit Beginn der Dateierfassung 242.210 Treffer erzielt und dabei 191.392 Taten aufgeklärt, bei denen es sich hauptsächlich um Diebstahl und räuberische Erpressung handelte (Bundeskriminalamt 2017).

1.4 Identitätswahrscheinlichkeit

Es ist nicht nur wichtig zu wissen, ob eine Person als Spurenleger in Frage kommt, sondern auch wie wahrscheinlich es ist, dass nur diese Person der Spurenleger sein kann. Hierfür ist die Berechnung der sog. Genotyphäufigkeit, also wie oft ein bestimmtes STR-Muster in der Bevölkerung erwartet werden kann, notwendig.

Dazu müssen für jedes STR-System Einzelwahrscheinlichkeiten für die einzelnen Allele berechnet werden und diese für die zwei bei einer Person auftretenden Allele miteinander multipliziert werden (Produktregel). Anschließend muss eine Korrektur um den Faktor zwei erfolgen, da nicht gesagt werden kann, auf welchem der beiden Chromosomen welches Allel genau liegt (bei Heterozygotie). Bei Homozygotie wird der Wert entsprechend quadriert. Diese Einzelwahrscheinlichkeiten aus allen STR-Systemen werden schließlich miteinander multipliziert, sodass Werte in Höhe von bis zu eins unter einer Trilliarde Menschen entstehen können. Findet sich das DNA-Profil seltener als einmal unter der Weltbevölkerung, wird es als „praktisch erwiesen“ angesehen, dass die Person Verursacher der Spur mit dem identischen DNA-Profil ist.

1.5 Mischspuren

Eine Probe wird dann als Mischspur bezeichnet, wenn DNA von mehr als einer Person nachgewiesen werden kann. Ablesbar ist dies daran, dass in mindestens zwei STRs mehr als zwei

Allele gefunden werden (Abbildung 5, (Schneider 2016)). Bis zu vier Allele pro STR lassen entsprechend auf mindestens zwei unterschiedliche Spurenleger schließen, bei max. sechs Allelen pro STR wären es mindestens drei. Bei mehr als sechs Allelen pro Marker ist eine Festlegung auf die Anzahl der Spurenleger meist nicht mehr sinnvoll.

Auch bei der Auswertung von Mischspuren gilt: Eine Person, die mit allen Allelen in allen auswertbaren STRs vorhanden ist, gilt als Spurenleger. Wenn dies in weniger als der Hälfte aller auswertbaren STRs der Fall ist, ist diese Person als Spurenleger ausgeschlossen (Schneider et al. 2006, Schneider 2016). Siehe dazu auch Kapitel 2.8.5.

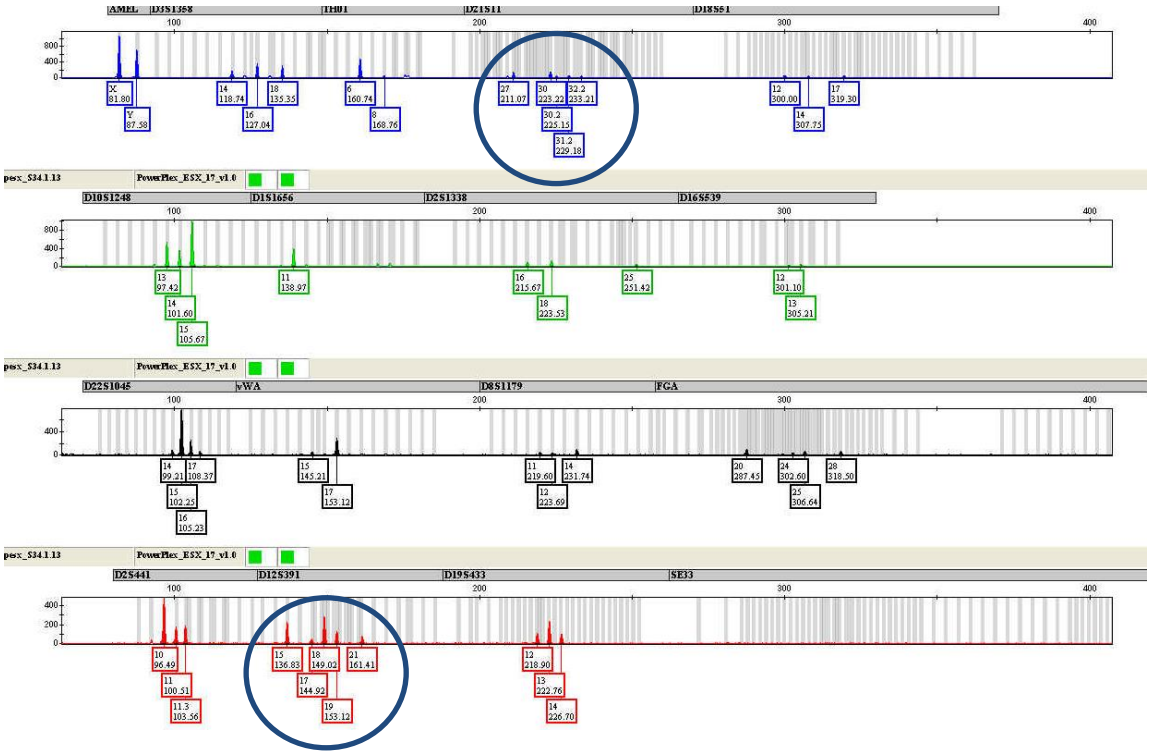

Abbildung 5: Beispiel einer möglichen Mischspur von mindestens drei Personen, da sich maximal fünf Allele in zwei STRs (eingekreist) befinden

1.6 Kontaminationsproblematik der Spuren-Asservate

Im Gegensatz zu Mundschleimhautproben, welche z.B. bei einem Vaterschaftstest oder als Proben für Vergleichspersonen verwendet werden, sind die DNA-Mengen an Asservaten von Tatorten im Allgemeinen eher gering. Hinzu kommt, dass diese DNA-Spuren oft schlecht erhalten (degradiert) oder verschmutzt (inhibiert) sind, sodass eine Weiterverarbeitung erschwert bis unmöglich wird. Degradation kann Folge eines naturgemäßen Abbauprozesses sein, der sog. Apoptose, oder auch

Folge chemischer Einflüsse z.B. dem Färben von Haaren. Inhibition kann durch Substanzen wie Huminstoffe, im Boden befindlich, oder auch Farbstoffe, z.B. in Textilien, entstehen. Durch Prä-PCR-Methoden (z.B. Phenolchloroform-Aufreinigung) wird versucht den Effekt der inhibitorischen Substanzen zu reduzieren (Müller 2009).

Entsprechend werden die molekulargenetischen Methoden immer ausgefeilter, was jedoch auch Risiken birgt. Wird z.B. die Anzahl der PCR-Zyklen angehoben, um eine geringe DNA-Menge zu vervielfältigen, können Artefakte entstehen oder kleinste Kontaminationen hochamplifiziert werden (Dettmeyer et al. 2014). Hier ist der Abgleich der Ergebnisse mit den Analysemustern der Mitarbeiter im Labor oder anderer an der Sicherung des Spurenmaterials beteiligter Personen eine unverzichtbare Kontaminationskontrolle.

1.7 Studiendesigns

Eine Kontamination von tatsächlich tatort-relevanten Spuren zu unterscheiden stellt das größte Problem dar (Rutty et al. 2000, Schwark et al. 2012, Verdon et al. 2013). Niemand kann sicher sagen, durch wen oder wann bestimmte DNA-Spuren an einen Tatort gelangt sind (Goray et al. 2012, Meakin and Jamieson 2013, Fonnelop et al. 2015, Szkuta et al. 2015). In diesem Zusammenhang wurden bereits viele experimentelle Studien durchgeführt und Fachbegriffe wie „primärer Transfer“ oder „sekundärer Transfer“ eingeführt. Unter einem primären Transfer versteht man die direkte, aktive DNA-Übertragung von einer Person an einen Gegenstand (van Oorschot et al. 2010), z.B. durch Berührung/Hautkontakt. Unter einem sekundären Transfer versteht man einen indirekten, passiven DNA-Übertragungsweg von einem Objekt auf ein anderes (Goray et al. 2010a, Goray et al. 2010b, Goray and van Oorschot 2015), wobei von einigen Arbeitsgruppen der Begriff „passiv“ sehr eng gefasst wird (nur Transfer, der nichts mit der Tat zu tun hat (Gill 2014)). Eine grundlegende Frage ist hier, ob die Person des Spurenlegers und/oder Überträgers einen Unterschied macht. Gibt es „gute“ oder „schlechte“ DNA-Spurenleger (Lowe et al. 2002, Phipps and Petricevic 2007) oder gibt jeder Mensch eine etwa gleiche Anzahl an Zellen bei z.B. einem Händedruck ab? Bei Untersuchungen im Hinblick auf diese Frage stellte sich heraus, dass es sowohl „intrinsische“ als auch „extrinsische“ Faktoren gibt, welche die Überträgereigenschaft bestimmen. Intrinsische Faktoren beinhalten individuelle Hautbeschaffenheiten, welche vom Alter (Poetsch et al. 2013), Geschlecht (Manoli et al. 2015) und dermatologischen Erkrankungen abhängen (Kamphausen et al. 2012). Extrinsische Faktoren umfassen die Oberflächeneigenschaften von Gegenständen, auf denen DNA hinterlassen wurde, und die Art der DNA-Gewinnung (Raymond et al. 2009, Goray et al. 2010a, Daly et al. 2012). Im Zuge dessen wurden bereits viele Szenarien mit unterschiedlichsten Übertragungswegen und verschiedenen Übertragungsmaterialien

nachgestellt und veröffentlicht (Goray et al. 2010b, Schwark et al. 2012, Fonnelop et al. 2015, Kamphausen et al. 2015, Szkuta et al. 2015).

Letztendlich sind die Möglichkeiten eines DNA-Transfers derart vielfältig, dass Richter, Staatsanwälte oder Verteidiger sich immer öfter dazu verleiten lassen, einfache oder komplexe Szenarien zu der Frage: „Wie kommt die DNA an den Tatort?“ zu konstruieren.

„Findet sich an einem Kleidungsstück nur DNA des Trägers?“

„Kann man ein DNA-Profil noch an einem gewaschenen Kleidungsstück finden?“

„Welches DNA-Profil ist an einem Kleidungsstück aus dem Kleiderschrank zu erwarten?“

„Kann DNA von einer Person von einem Gegenstand auf einen anderen Gegenstand übertragen werden?“

„Kann DNA von einer Person über eine weitere Person auf einen Gegenstand übertragen werden?“

Forensisch-genetische Gutachter müssen dann vor Gericht zu diesen Szenarien Stellung nehmen (können) und ihre Plausibilität beurteilen. Hier ist es wichtig, dass auf eine ausreichend große Datenbasis zurückgegriffen werden kann, um tatsächlich begründete Aussagen zu treffen.

1.8 Fragestellung

Für die Beurteilung dieser komplexen Fragestellungen wurden im Rahmen der vorliegenden Studie verschiedene Szenarien entworfen und ausgewertet. Der erste Teil der Untersuchung beschäftigte sich mit DNA-Antragungen an getragener Kleidung im Vergleich zu Kleidung aus dem Kleiderschrank. Folgende Hypothesen wurden dazu aufgestellt:

a. An getragener Kleidung finden sich neben der DNA des Trägers zusätzlich die DNA-Profile einiger/aller Familienmitglieder.

b. Nach einem Arbeits-/Schulalltag und damit verbundenem engerem Kontakt mit Kollegen oder Freunden kann deren DNA ebenfalls zu der Mischspur beitragen.

c. Da Kleidung aus der Waschmaschine kein vollständiges DNA-Profil mehr aufweist (Kamphausen et al. 2015), müsste an Kleidung aus dem Kleiderschrank nicht mehr der eigentliche Träger zu finden sein, sondern allenfalls das DNA-Profil der Person, die das Kleidungsstück nach der Wäsche aufgehängt/gebügelt/zusammengelegt hat.

Im zweiten Teil der Studie wurden Untersuchungen zur Übertragung von DNA zwischen unterschiedlichen Gegenständen durchgeführt. Hier sollten folgende Hypothesen überprüft werden:

d. Die DNA einer Person kann durch eine zweite Person (als Überträger) von einem Gegenstand auf einen anderen übertragen werden.

e. Die Übertragungswege hängen von in- und extrinsischen Faktoren ab, ähnlich wie bei einem primären oder sekundären Transfer bereits beschrieben.

f. Die DNA des ersten Spurenlegers stellt sich als dominante Komponente der Spur dar.

Durch diese Studien sollte die Aussagekraft von DNA-Profilen kritisch hinterfragt werden, besonders im Hinblick auf die hochsensitiven Auswertungsmethoden bei kleinsten Spurenmaterialien. Der Nutzen dieser Studie liegt in einer Erweiterung der Aussagekraft von (Misch-)Spuren in forensischen Routineuntersuchungen bei DNA-Antragungen an Tatorten.

2. Material und Methoden

Alle Proben wurden nach Genehmigung durch die zuständige Ethikkommission der Universität Duisburg-Essen und unter Beachtung der Deklaration von Helsinki sowie der nationalen Gesetzgebung generiert bzw. gesammelt und untersucht. Diese Analyse wurde im Zeitraum 2014-2015 im Institut für Rechtsmedizin am Universitätsklinikum Essen durchgeführt. Die Nummer des Ethikantrags lautet 10-4579.

2.1 Probanden

Für die im Folgenden erwähnten Probanden wurde im Vorhinein eine Hauterkrankung ausgeschlossen, um einen entsprechenden Einfluss auf die Ergebnisse wie bei Kamphausen et al. beschrieben, auszuschließen (Kamphausen et al. 2012). Das DNA-Profil jeder beteiligten Person wurde aus einem Mundschleimhautabstrich erstellt.

2.1.1 Untersuchung getragener Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank

An der Untersuchung von getragener Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank nahmen sieben Familien teil. Die Familiengröße variierte zwischen zwei und fünf Mitgliedern. Insgesamt nahmen 20 Probanden (acht Frauen, zwölf Männer), im Alter zwischen sieben und 58 Jahren (zum

Zeitpunkt der Untersuchung) an der Studie teil. Im Durchschnitt (arithmetisches Mittel) waren die Probanden 31,85 Jahre alt (Median 31 Jahre). Im Einzelnen sind die Familienkonstellationen in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Auflistung der Familien mit Mitgliederanzahl, Alter und Geschlecht (w=weiblich, m=männlich)

Proben Nummer	Familiengröße	Familienmitglieder
1A, 1B	2	29w, 29m
5A, 5B	2	56w, 58m
6A, 6B	2	39w, 55m
3A, 3B	2	47w, 16w
4A, 4B, 4C	3	31w, 31m, 8m
7A, 7B, 7C, 7D	4	41w, 40m, 10m, 7m
2A, 2B, 2C, 2D, 2E	5	48w, 49m, 17m, 14m, 12m

2.1.1.1 Material (Kleiderschrank/getragene Kleidung)

Es wurden von jedem Familienmitglied je ein getragenes Oberteil und ein Oberteil aus dem Kleiderschrank untersucht. Die Kleidungsstücke wurden durch die Probanden selbst mittels puder- und DNA-freien Handschuhen (Peha-soft® nitrile von Hartmann, Größe M und L) in eine DNA-freie Plastiktüte gegeben und der Untersucherin übergeben. Bei der Plastiktüte handelte es sich um eine gelbe Mülltüte aus dem Universitätsklinikums, welche zur Entfernung eventuell vorhandener DNA mit DanKlorix® in einer Verdünnung von 1:2 gewaschen (Schwark et al. 2012), danach gründlich mit klarem Wasser ausgespült und anschließend im Labor für DNA-Extraktion kontaminationsschonend über ein bis zwei Tage luftgetrocknet wurde.

Bei Sicherstellung des Materials wurden Notizen bezüglich der Tragedauer und des Wasch-/Trockenverhaltens in der jeweiligen Familie geführt. Als „Wäscher“ wird derjenige bezeichnet, der die Wäsche aufgehängt/getrocknet, zusammengelegt und in den Kleiderschrank eingeordnet hat. In zwei Haushalten (Nr. 3 und 6) wurde sich das Aufhängen/Trocknerbenutzen und Bügeln geteilt, sodass hier neben dem „Wäscher“ (Wäscheherausnehmer/Trockner) auch ein „Bügler“ betrachtet werden musste. Zusätzlich wurden Angaben über Größe, Material und Schnitt des jeweiligen Oberteils angefertigt (siehe Tabelle A0 im Anhang).

Insgesamt handelt es sich hauptsächlich um Baumwollkleidung mit 90-100% Baumwollanteil. Ein Kleidungsstück (Pulli) bestand zu 50% aus Polyester, des Weiteren waren drei Pullis aus Kaschmir Teil der Untersuchung.

Bei den getragenen Oberteilen wurde der Zeitraum des Tragens notiert (1-2 Tage). Insgesamt trugen acht der 20 Probanden das Oberteil zwei Tage. Das Oberteil war bei 13 der Probanden langärmlig und bei sieben kurzärmlig. Alle trugen ihr Oberteil zu Hause, 13 von ihnen zusätzlich auf der Arbeit oder in der Schule. Nur fünf von ihnen hatten darüber hinaus engeren Kontakt zu Freunden durch Besuch/außerschulische Aktivitäten.

Aus dem Kleiderschrank wurden elf langärmlige, acht kurzärmlige und ein ärmelloses Oberteil untersucht. 18 dieser Oberteile wurden auf der Leine getrocknet, wovon sieben durch den Mann im Hause aufgehängt wurden. Die beiden übrigen Oberteile wurden maschinell getrocknet. Alle untersuchten Objekte wurden von der Frau im Haus (Mutter) gefaltet, nachdem acht von ihnen gebügelt wurden (ebenfalls von der Mutter). Die genaue Liegedauer im Schrank konnte nicht bei allen Kleidungsstücken ermittelt werden. Sie variierte zwischen wenigen Tagen und Monaten. Da die Untersuchungen in den Wintermonaten stattfanden, lagen die elf langärmligen Oberteile im Schnitt fünf Tage, die acht kurzärmeligen und das ärmellose Oberteil im Schnitt 3,5 Monate im Kleiderschrank.

Jedes Kleidungsstück wurde in drei Regionen eingeteilt:

- Rechter Ärmel
- Linker Ärmel
- Rumpfvorderseite

Dementsprechend wurde jede Region für sich im Folgenden weiterbehandelt und einzeln ausgewertet.

2.1.2 Untersuchung zur DNA-Übertragung

An dieser Untersuchung nahmen drei Paare teil, die sich wie folgt zusammensetzten:

- zwei Frauen (39 Jahre und 48 Jahre)
- eine Frau (29 Jahre) und ein Mann (29 Jahre)
- eine Frau (48 Jahre) und ein Mann (57 Jahre)

Insgesamt waren es somit sechs Probanden, vier Frauen und zwei Männer, im Alter zwischen 29 und 57 Jahren (arithmetisches Mittel 41,67 Jahre, Median 43,5 Jahre). Alle Teilnehmer dieses Teils der Studie waren nicht miteinander verwandt und zeigten in Vorversuchen, dass sie durch

Berühren einer textilen Oberfläche im Sinne eines primären Transfers ausreichend DNA für eine molekulargenetische Analyse hinterlassen (Kamphausen et al. 2012, Kamphausen et al. 2015, Poetsch et al. 2016). Bei jedem Paar war jede Person einmal Spender und einmal Überträger.

2.1.2.1 Material (DNA-Übertragung)

Für die verschiedenen Übertragungswege wurden zum einen Nitril-Handschuhe (Marke Peha-soft® von Hartmann der Größen M und L) und zum anderen Baumwollhandtücher und Plastiktüten benötigt. Die Baumwollhandtücher aus der Wäscherei des Universitätsklinikums sowie die gelben Plastikmüllbeutel aus dem Lager des Universitätsklinikums wurden in gleichgroße Rechtecke von ca. 6 cm x 8 cm zugeschnitten. Um DNA-freies Material zu garantieren, wurden diese Zuschnitte mit DanKlorix® Hygienereiniger in einer Verdünnung von 1:2 gewaschen (Schwark et al. 2012), danach gründlich mit klarem Wasser ausgespült und anschließend im Labor für DNA-Extraktion kontaminationsschonend luftgetrocknet über ein bis zwei Tage. Zusätzlich wurden noch 1 Liter Zipper-Tüten aus Plastik der Marke Profissimo aus dem DM-Drogeriemarkt in gleicher Weise behandelt und für eventuell notwendige Aufbewahrungen von Probematerial bereitgestellt.

2.1.2.2 Versuchsszenarios zur DNA-Übertragung

Es wurde ein Versuchsaufbau aus drei Schritten kreiert, der im Folgenden als tertiärer Transfer bezeichnet wird (Abbildung 6).

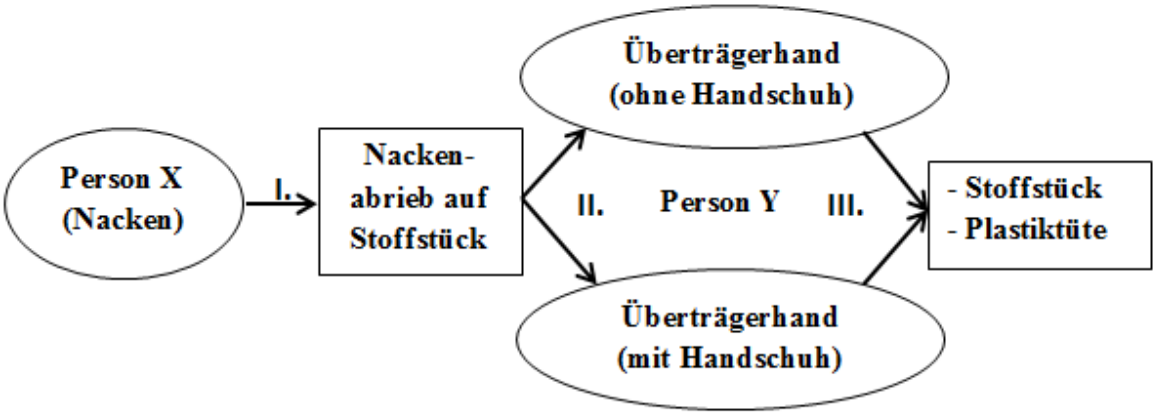

Abbildung 6: Versuchsaufbau mit Darstellung der drei Schritte (I-III), Person X ist der Spender, Person Y ist der Überträger

Der letzte Schritt (III.) wurde auf insgesamt zehn verschiedene Weisen vollzogen (Tabelle 3), um so die Möglichkeit eines tertiären Transfers genauer zu beleuchten. Da alle sechs Probanden einmal Überträger und einmal Spender waren und diese zehn Varianten insgesamt dreimal durchgeführt wurden, sind am Ende 180 Proben entstanden.

Tabelle 3: Verschiedene Varianten für den dritten Schritt. Jede Variante ist einmal mit (Variante 6-10) und einmal ohne Handschuhe (Variante 1-5) an den Händen des Überträgers durchgeführt worden

Variante	zu analysierender Gegenstand
1 / 6	DNA-freie Plastikfolie
2 / 7	Plastikfolie, vorher eine Stunde in der Hosentasche des Überträgers
3 / 8	Plastikfolie, nach Übertragung eine Stunde in der Hosentasche des Überträgers
4 / 9	DNA-freies Stoffstück
5 / 10	Stoffstück mit Handabrieb des Überträgers

Im ersten Schritt wurde die Spender-DNA durch Abreiben des Nackens von Person X gewonnen. Eigene Untersuchungen in der täglichen Routine sowie eine kürzlich durchgeführte Studie zeigten, dass man zuverlässig eine hohe Menge an DNA am Nacken einer Person bzw. am Kragen eines Kleidungsstück gewinnen kann (Kamphausen et al. 2015). Daher wurde mit dem vorher mit DanKlorix® behandelten, DNA-freien Stoffstück (6 cm x 8 cm groß) achtmal mit mittlerem Druck über den Nacken des Empfängers gerieben.

Im zweiten Schritt, dem sekundären Transfer, wurden diese Nackenabriebe auf die Hände des Überträgers abgerieben. Dabei trug der Überträger einmal Handschuhe und einmal nicht. Das Abreiben erfolgte mit mittlerem Druck. Je Durchgang wurde die Häufigkeit der Abriebe erhöht. Im ersten Durchgang wurde fünfmal, im zweiten achtmal und im letzten zehnmal über die Handfläche gestrichen (Abbildung 7).

Im dritten Schritt erfolgte die Übertragung an zwei verschiedene Materialien, Stoff und Plastik (Abbildung 8). Auch hier wurde je Durchgang die Abriebanzahl entsprechend dem zweiten Schritt erhöht (fünfmal, achtmal, zehnmal).

Abbildung 7: Abrieb der handschuhfreien Überträgerhand mit einem Stoffstück durch die Untersucherin

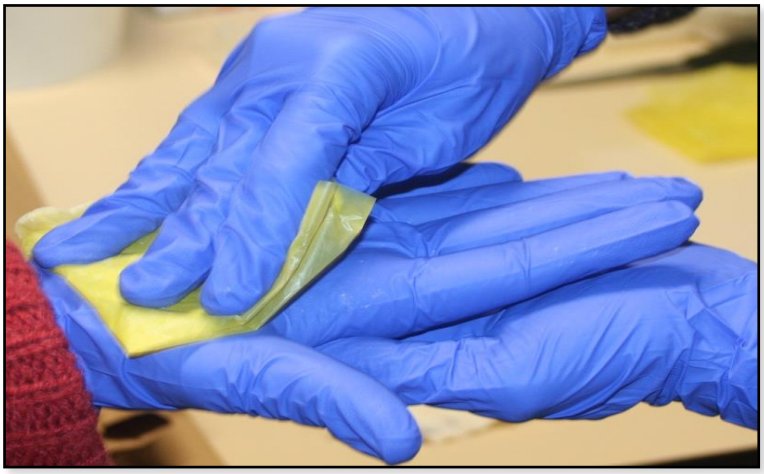

Abbildung 8: Abrieb der behandschuhten Überträgerhand mit einem Plastikstück durch die Untersucherin

2.2 Kontrolle

Im Rahmen jedes Versuchsszenarios wurde von den jeweiligen benutzten Spurenträgern vor Versuchsdurchführung eine (negative) Kontrolle angefertigt, um die Abwesenheit von DNA auf den gereinigten Materialien sicherzustellen. Die Kontrollen wurden auf die gleiche Art und Weise gewonnen wie die Proben des jeweils durchgeführten Szenarios (siehe Kapitel 2.3.1 und 2.3.2).

2.3 Sicherung der DNA-Antragungen

Alle Spurenträger (Kleidungsstücke, Handabriebe) wurden entsprechend routinemäßig durchgeführter Techniken im Alltag der forensischen Genetik gesichert, verarbeitet und ausgewertet. Es wurde vor und nach jedem Schritt eine gründliche Reinigung der Arbeitsflächen mittels 70%igem Alkohol durchgeführt.

2.3.1 Abkleben von Textilien

Die Textilstücke, Kleidung und Stoffstücke, wurden mittels eines einseitig klebenden Klebebandes abgeklebt. Die Größe des Klebestreifens variierte je nach abzuklebendem Gegenstand, wobei eine Länge von ca. 18 cm nicht überschritten wurde, um ein Verdrehen des Bandes zu vermeiden. Pro Stoffstück bzw. abzuklebender Kleidungsregion (rechter und linker Ärmel, Rumpfvorderseite) wurde ein Klebestreifen verwendet. Das am Klebeband anhaftende zelluläre Material wurde mittels eines in Lysepuffer (siehe Kapitel 2.4.1) getauchten Wattestäbchens abgerieben. Ein zweites trockenes Wattestäbchen kam anschließend zum Einsatz, um eventuelle Rückstände von zellulärem Material an der nun feuchten Oberfläche des Klebebandes aufzunehmen. Beide Wattestäbchenköpfe wurden gemeinsam in ein Eppendorf-Cap überführt und kontaminationsgeschützt bei geöffnetem Deckel 24 Stunden getrocknet oder direkt weiterverarbeitet.

2.3.2 Abreiben von Plastiktüten

Das glatte Material des Plastiks wurde mittels eines in Lysepuffer (siehe Kapitel 2.4.1) getauchten Wattestäbchens abgerieben. Ein zweites trockenes Wattestäbchen kam anschließend zum Einsatz, um eventuelle Rückstände von zellulärem Material an der nun feuchten Oberfläche aufzunehmen. Beide Wattestäbchenköpfe wurden gemeinsam in ein Eppendorf-Cap überführt und kontaminationsgeschützt bei geöffnetem Deckel 24 Stunden getrocknet oder direkt weiterverarbeitet.

2.4 DNA-Extraktion

Die DNA-Isolierung erfolgte durch Zellaufschluss und anschließender mehrstufiger Waschungen zur Befreiung von Verunreinigungen wie Salzen, Proteinen und RNA.

2.4.1 Material

- Wasserbad (Memmert, Schwabach)
- InnuPREP® DNA Mini Kit (Analytikjena®, Jena) mit den darin enthaltenen Reagenzien

  Lyse Mix:
  - Tris Base (Calbiochem)
  - NaCl Merck
  - SDS (Natrium-Dodecylsulfat), Serva
  - EDTA (Titriplex III), Merck
  - Wasser (LiChrosolv), Merck
  - 5-fach DNA-Lysepuffer:

    12,5 ml 1 M Tris pH 8, 125 ml 1 M NaCl, 25 ml 0,5 M EDTA pH 8, 250 ml aqua dest
  - 1-fach DNA-Lysepuffer:

    200 ml 5-fach DNA-Lysepuffer, 200 ml 10% SDS, 1000 ml aqua dest
- Swab Solution™ (Promega, Mannheim):
  - SwabSolution Kit DC8271, Promega
  - Swab Solution Reagenz 100 ml (DM122A)
  - 5x AmpSolution Reagenz 500ml (DM123A)
- Proteinkinase K (Roche®, Mannheim)
- Zentrifuge EBA 20 und 200 (Hettich, Tuttlingen)
- Kühlschrank
- Phenolchloroform-Isoamylalkohol (Roth®, Karlsruhe)
- Ethanol 100% und 70% (Merck®, Darmstadt der Sigma-Aldrich, Steinheim)
- Wasser, HPLC (J.T. Baker®, BAKER ANALYZED™ HPLC, München)
- Filtersystem (Sartorius Ultrafiltration, Vivaspin2®, Göttingen)
- Pipetten, Eppendorf diverser Größe

2.4.2 Durchführung der Lysereaktion

In die Reaktionsgefäße mit dem vorbereiteten Spurenmaterial wurden pro Reaktionsgefäß 500 µl 1-fach DNA-Lysepuffer bei einem pH-Wert von 8 und 35 µl Proteinase-K Lösung hinzupipettiert. Die Lyse erfolgte bei 56°C über Nacht (max. 24 Stunden) im Wasserbad.

2.4.3 Durchführung der Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion

Im Anschluss wurde eine Phenol-Chloroform-Extraktion (modifiziert nach (DeSalle and Bonwich 1996)) durchgeführt. Mit einer Nadel wurde der mit 70%igem Ethanol gereinigte Gefäßboden angestochen und das Eppendorf-Cap in ein zweites gesteckt. Nach dreiminütiger Zentrifugation bei 14000 U/min, konnte das obere Gefäß mit dem Spurenträger verworfen werden (piggyback spin). Das flüssige Reaktionsgemisch im unteren Reaktionsgefäß wurde mit 600 µl Phenolchloroform-Isoamylalkohol versetzt und kräftig geschüttelt. Nach erneuter Zentrifugation von 3 Minuten bei 14000 U/min konnte der DNA-haltige, wässrige Überstand abpipettiert werden. Anschließend wurde er in das angegebene Filtersystem (DNA-undurchlässige Membran) zusammen mit 1 ml Wasser überführt. Das Filtersystem mit dem darin enthaltenen Wasser-DNA-Gemisch wurde bei 6000 U/min für zwölf Minuten zentrifugiert. Danach wurden 2 ml Wasser hinzugegeben und erneut für sechs bis sieben Minuten zentrifugiert. Das reduzierte DNA-Volumen (20 µl - 100 µl) konnte nach Drehung des Filtersystems und dreiminütiger Zentrifugation (6000 U/min) rückgewonnen und aufgefangen werden. Die so gewonnene DNA konnte sofort in die PCR eingesetzt werden oder bei 5-7 °C bis zur Analyse gelagert werden. Die endgültige Lagerung der DNA erfolgte bei -20 °C.

2.4.4 Mundschleimhautabriebe

Die DNA aus den Mundschleimhautabrieben wurde mittels 300 µl Swab Solution™ (Promega, Mannheim) extrahiert.

Der Reaktionsansatz wurde im nächsten Schritt für 30 Minuten im 70°C warmen Wasserbad inkubiert, anschließend lag die DNA in Lösung vor. Danach wurde ein piggyback spin durchgeführt um den Watteträger zu entfernen (siehe Kapitel 2.4.3).

Das DNA-Extrakt ist mindestens sechs Monate bei 4°C haltbar. Die endgültige Lagerung der DNA erfolgte bei -20°C.

2.5 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Die DNA-Amplifizierung und die Quantifizierung der DNA-Menge in den Proben wurden mit Hilfe der PCR durchgeführt. Ihr Startpunkt wird auf beiden DNA-Einzelsträngen durch kurze, in ihrer Sequenz bekannte DNA-Fragmente (Primer) festgelegt. Der auf diese Weise definierte DNA-Abschnitt wird durch eine thermostabile (hitzestabile) DNA-Polymerase (z.B. Taq-Polymerase) repliziert (Mullis et al. 1986, Mullis and Faloona 1987). Hierfür werden Einzelbausteine für die zu

synthetisierende DNA benötigt, die sog. Desoxyribonucleosidtriphosphate (dNTPs). Essentiell für die Funktion der Polymerase sind Mg^{2+}-Ionen und eine geeignete chemische Umgebung (Pufferlösung) (Gassen 1994, Müller 2016).

Die zyklische Vervielfältigung findet in einem sog. Thermocycler statt, der entsprechend den vorher programmierten Temperaturänderungen die einzelnen Syntheseschritte durchführt.

Die einzelnen Schritte eines Zyklus sehen wie folgt aus:

1. Schritt = Denaturierung (Schmelzen):
    - Trennung der doppelsträngigen DNA bei 94-96 °C
    - Schnelles Abkühlen auf die Annealingtemperatur, um die Rückbildung der Doppelhelix zu verhindern
2. Schritt = Annealing (Hybridisierung der Primer):
    - Primer-Anlagerung an das 3´-Ende des jeweiligen Stranges bei niedriger Temperatur, meist zwischen 50-65 °C (abhängig von Primer-Sequenz)
3. Schritt = Elongation (Amplifikation, DNA-Synthese):
    - Synthese der DNA aus freien dNTPs beginnend am Primer des 3`-Endes durch die DNA-Polymerase
    - optimale Temperatur ist abhängig von der verwendeten DNA-Polymerase (68-72 C)

Auf diese Weise verdoppelt sich die DNA pro Zyklus, wobei die Syntheseprodukte im neuen Zyklus als Ausgangs-DNA wieder Verwendung finden, sodass insgesamt die Anzahl exponentiell steigt, zumindest bis zu einer Plateauphase. Ist diese Phase erreicht, wird keine deutliche Vervielfältigung der DNA mehr festgestellt. Die Anzahl der Zyklen ist abhängig vom zu synthetisierenden DNA-Stück und den verwendeten Primern sowie von der Ausgangskonzentration der DNA (Mullis et al. 1986, Mullis and Faloona 1987, Gassen 1994, Müller 2016). Am Ende aller Zyklen kühlt der Thermocycler auf 4-8 °C ab (Mullis et al. 1994).

Bei einer sog. Multiplex-PCR werden verschiedene Primerpaare gleichzeitig verwendet, wodurch mehrere DNA-Abschnitte gleichzeitig amplifiziert werden können (Butler 2005). Hierzu werden verschiedene Fluoreszenzmarkierungen an den Primern zur besseren Unterscheidung verwendet und in den folgenden Kapiteln im Speziellen erläutert. Die Methode der Multiplex-PCR wird in der forensischen Genetik überwiegend angewandt, da auf diese Weise aus kleinsten Probenmengen möglichst viele Ergebnisse gewonnen werden können (Butler 2005, Butler 2011).

2.6 DNA-Quantifizierung

Die Quantifizierung der DNA-Menge der Proben wurde mittels Real-Time-PCR von der Bachelorstudentin Frau Helen Konrad im Institut für Rechtsmedizin Essen durchgeführt.

2.6.1 Geräte und Material

- ABI 7500 Real-Time-PCR-System, Applied Biosystems
- 7500 System Software, Analyse Software
- Kühl- und Gefrierschränke, Liebherr
- PCR-Rack für 0,2 und 1,5 ml Reaktionsgefäße
- Pipetten, Eppendorf, diverse Größen
- Tischzentrifuge (VWR™, Galaxy 16 DH, Langenfeld)
- Steriler Arbeitsplatz
- Vortex (Whirlmix, Cenco, Breda, Niederlande)
- Verschiedene Kits von Qiagen, Applied Biosystems und Promega (siehe Tabelle 4)

2.6.2 Methode allgemein

Die Real-Time-PCR ist eine Weiterentwicklung der klassischen PCR (vgl. Kapitel 2.5) zur Vervielfältigung von Nukleinsäuren und ermöglicht es, die erzielte DNA-Menge absolut oder relativ in Echtzeit zu bestimmen (Quantifizierung).

Dazu wird die DNA in Zyklen – wie bei einer normalen PCR – erst durch hohe Temperaturen denaturiert (Tabelle 4). Bei niedrigeren Temperaturen wird entsprechend der Target-Sequenz am Templatestrang synthetisiert. Dies wird bis zu 40mal wiederholt, sodass die DNA-Menge exponentiell steigt.

Tabelle 4: Temperaturprofil für die Zyklen einer PCR

Art	Temperatur	Dauer	Zyklen
Hot Start	95°C	5 min	25-40
Denaturierung	94°C	1 min	
Annealing	60°C	1 min	
Extension	72°C	2 min	

Ab der Denaturierung (nach jeder Temperaturerhöhung) kann ein laserinduziertes Fluoreszenzsignal gemessen werden (abhängig vom Sonden-System). Der jeweilige Fluoreszenzfarbstoff (SYPR Green) lagert sich in die neu entstandenen DNA-Fragmente ein (Interkalierung), sodass die Zunahme des Farbsignals je Zyklus proportional zur gefärbten Target-DNA ist. Die Messung findet am Ende der Elongation jedes Zyklus statt.

Die Zellzahl kann durch die Menge der entstandenen nuklearen Fragmente und der allgemein anerkannten Annahme von 6,6 pg DNA pro Zelle bestimmt werden. Die Quantifizierung der DNA-Fragmente erfolgt durch den Nachweis eines 98 bp-Fragmentes des Telomerase Gens, das für die Telomerase kodiert. Dieses entsteht durch die Zugabe einer Sonde (Primer, Oligonukleotid), welche an einem Ende einen Reporter- und am anderen Ende ein Quencher-Fluoreszenzfarbstoff besitzt. Erst durch Freisetzung des Reporters durch die Taq-Polymerase (Exonucleaseaktivität) fällt die Emissionsunterdrückung durch den Quencher weg und es kann der Reporterfarbstoff gemessen werden. Dies führt dazu, dass das Emissionssignal mit Zunahme der DNA-Synthese stärker wird (TaqMan-Technologie) (Busch 2007, Holzapfel and Wickert 2007).

Weiterentwicklungen dieser TaqMan-Sonden, deren Messungen am Ende der Elongation jedes Zyklus stattfinden, sind Molecular Beacons und Scorpion-Primer. Zudem gibt es noch Hybridisierungs-Sonden (LightCycler-Sonden), welche ihre Messung am Ende der Annealing-Phase jedes Zyklus durchführen, ebenso wie die LoopTag.

Diese Sonden können auch den Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) nutzen, hier wird Energie von einem Molekül (Donor) zum anderen (Akzeptor) übertragen. Dabei nimmt der FRET ab, wenn sich der Abstand zwischen Donor und Akzeptor vergrößert (Dorak 2006, Busch 2007).

2.6.3 Methode speziell

Der absolute DNA-Gehalt der Spuren wurde mittels Real-Time-PCR unter Verwendung unterschiedlicher Kits (Tabelle 5) gemäß Herstellermanual bestimmt.

In eine Platte mit 96 Reaktionsgefäßen wurden 2 µl DNA-haltige Lösung (Proben-DNA, Standard-DNA als positive Kontrolle oder NTC-Proben (eng.: No template control; als Negativkontrolle)) gegeben. Als Standard-DNA wurde jeweils die im Kit enthaltene DNA in den vorgegebenen Konzentrationen (siehe Tabelle 5) verwendet.

Abhängig vom Herstellermanual wurde nun ein individuelles Mastermix-Volumen (siehe Tabelle 6) hinzugefügt. Nach Verschließen der Platte wurde diese bei 1000 U/min kurz zentrifugiert, in das Real-Time-PCR Gerät gestellt und die individuellen Reaktionsparameter je Kit eingegeben.

Die spezifischen Fragmente der eingesetzten DNA-Proben wurden in mehreren Zyklen während der Real-Time-PCR amplifiziert, wobei sich der Farbstoff SYPRgreen an diese spezifischen Fragmente anlagerte. Durch den quantitativen Anstieg des Farbstoffes konnte während der Synthese die absolute Menge der DNA-Fragmente gemessen werden. Diese Daten wurden mittels der Analyse Software zu einer Kurve verarbeitet, welche den Quantitätsanstieg der Fragmente pro Zyklus darstellte. Die Ergebnisse wurden von der Software in Form einer Tabelle angegeben, aus der die DNA-Konzentration der Proben direkt ablesbar war (in ng/µl).

Tabelle 5: Chemikalien und Reagenzien der Real-Time-PCR abhängig vom verwendeten Kit

Bezeichnung	Hersteller / Firma	Lagerung
DNA-Exitus Plus	AppliChem	RT
Ethanol vergällt	Apotheke	RT, 70%ige Arbeitslösung
Lichrosolv Wasser	J.T. Baker, 4218	RT, aliquotiert 5°C
Chemikalien / Bestandteile des PCR-Kits: **Quantiplex**		
Quanti Tect Dilution Buffer	Qiagen	-20°C,
Primer Mix YQ	Qiagen	2°C-8°C
Control-DNA Z1 (20 ng/µl)	Qiagen	2°C-8°C
Reaction Mix YQ	Qiagen	2°C-8°C
Chemikalien / Bestandteile des PCR-Kits: **Quantifiler**		
Quantifiler PCR Reaction Mix	Applied Biosystems	5°C
Quantifiler Human DNA-Standard (200 ng/µl)	Applied Biosystems	-20°C
Quantifiler Human Primer Mix	Applied Biosystems	-20°C
Quantifiler Human Buffer Dilotion	Applied Biosystems	-20°C
Chemikalien / Bestandteile des PCR-Kits: **Plexor®**		
Plexor® HY 2x Master Mix	Promega	-30°C - -10°C
Plexor® HY 20x Primer/IPC Mix	Promega	-30°C - -10°C
Plexor® HY Male Genomic-DNA-Standard (50ng/µl)	Promega	2-10°C
Water, Amplification Grade	Promega	-30°C - -10°C
Chemikalien / Bestandteile des PCR-Kits: **PowerQuant™**		
PowerQuant™ 2X Master Mix	Promega	-30°C - -10°C
PowerQuant™ 20X Primer/Probe/IPCMix	Promega	-30°C - -10°C
PowerQuant™ Male gDNA-Standard (50 ng/µl)	Promega	4°C
Water, Amplification Grade	Promega	-30°C - -10°C
PowerQuant™ Dilution Buffer	Promega	-30°C - -10°C

Tabelle 6: Unterschiedliche Pipettierschemata je verwendetem Kit

	PCR Reagenz	Menge in µl pro Probe	Menge in µl pro Probe, halber Ansatz	Menge in µl pro Platte	Menge in µl pro Platte, halber Ansatz
Mastermix **Plexor**	Plexor® Master Mix	10	5	1000	500
	Amplification Water	7	3,5	700	350
	Plexor® Primer Mix	1	0,5	100	50
	Gesamt	**18**	**9**	**1800**	**900**
Mastermix **Quantiplex**	Primer Mix IC YQ	9	4,5	900	450
	Reaction Mix YQ	9	4,5	900	450
	Gesamt	**18**	**9**	**1800**	**900**
Mastermix **Quantifiler**	Human Primer Mix	10,5	5,25	1050	525
	PCR Reaction Mix	12,5	6,25	1250	625
	Gesamtansatz	**23**	**11,5**	**2300**	**1150**
Mastermix **PowerQuant**	PowerQuant™ 2X Master Mix	10	5	1000	500
	Amplification Water	7	3,5	700	350
	PowerQuant™ 20X Primer Mix	1	0,5	100	50
	Gesamt	**18**	**9**	**1800**	**900**

2.7 Amplifikation der short tandem repeats

Für die DNA-Amplifikation mittels Multiplex-PCR wurde das kommerziell erhältliche STR-Kit PowerPlex® ESX 17 Fast von Promega verwendet, welches routinemäßig im Institut für Rechtsmedizin in Essen bei der STR-Analyse eingesetzt wird.

2.7.1 Geräte und Materialien

- PowerPlex® ESX 17 Fast von Promega (Tabelle 7)
- Thermocycler GeneAmp® PCR Systems 9700 (Applied Biosystems®, Darmstadt)
- Standard-DNA - 2800M Control DNA (Promega, Mannheim)
- Wasser LiChrosolv (Merck®, Darmstadt)

Tabelle 7: Chemikalien/Bestandteile des PowerPlex® ESX 17 Fast von Promega

Zur Amplifikation	Inhalt
10x Primer Pair Mix	250 µl
5x Master Mix	500 µl
2800 M Control-DNA, 10ng/µl	25 µl
Water, Amplification Grade	5x 1,250 µl

2.7.2 Laborprotokoll PowerPlex® ESX 17 Fast

Beim PowerPlex® ESX 17 Fast von Promega handelt es sich um ein Multiplex-STR-System, das die 16 STRs D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, D10S1248, D1S1656, D2S1338, D16S539, D22S1045, vWA, D8S1179, FGA, D2S441, D12S391, D19S433 und SE33 sowie den Geschlechtsmarker Amelogenin amplifiziert und farbig darstellt (Tabelle 8).

Tabelle 8: Fluoreszenzfarbstoffe und ihre Zuordnung beim PowerPlex® ESX 17 Fast

Fluoreszenz	Farbe	STR
Fluorescein	blau	Amelogenin, D3S1358, TH01, D21S11, D18S51
JOE	grün	D10S1248, D1S1656, D2S1338, D16S539
TMR-ET	schwarz	D22S1045, vWA, D8S1179, FGA
CXR-ET	rot	D2S441, D12S391, D19S433, SE33
CC5	orange	Längenstandard

Da die optimale Einsatzmenge an DNA zwischen 300 pg und 1 ng betragen sollte, muss entsprechend der DNA-Konzentration in der jeweiligen Probe das benötigte Volumen variieren. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde unabhängig von der gemessenen DNA-Konzentration ein DNA-Einsatz in µl Probenvolumen festgelegt. DNA-Antragungen von Kleidungsstücken aus dem Schrank wurden grundsätzlich mit 4 µl Volumen, DNA-Antragungen von getragener Kleidung und DNA-Lösung aus sämtlichen Übertragungsversuchen mit 1 µl Volumen in die PCR eingesetzt. Zusätzlich wurde eine Negativ-Kontrolle (Wasser) und eine positive Kontrolle (Kontroll-DNA „2800M Control DNA“) in jedem PCR-Ansatz mitgeführt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Pipettierschema für 12,5 µl PCR-Ansatz

Bestandteil	Menge
H_2O	variabel, ad 12,5 µl
Mastermix	2,5 µl
Primermix	1,25 µl
DNA	Probenabhängig (siehe Text)
2800M Control DNA	1 µg
Negativ Kontrolle	3 µl

Für die durchzuführende Amplifikation betrug das Reaktionsvolumen pro Reaktionsansatz 12,5 µl, laut Herstellerangaben hätte es bei 25 µl liegen müssen. Diese Halbierung des Reaktionsvolumens erfolgte aus Kostengründen und wurde in mehreren Studien mit unterschiedlichen Probenmaterialien erfolgreich validiert (Poetsch et al. 2011c, Kamphausen et al. 2012, Poetsch et al. 2013, Goray et al. 2015, Kamphausen et al. 2015, Poetsch et al. 2016).

2.8 Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese

2.8.1 Methode allgemein

Unter der Kapillarelektrophorese versteht man eine analytische Trennmethode, die auf einer Elektrophorese beruht. Hierbei macht man sich die Bewegung elektrisch geladener Teilchen in einem elektrischen Feld zu Nutze, welche abhängig von ihrer Größe, Form (Mobilität) und Ladung sowie von der Lösungsumgebung und von der Feldstärke in unterschiedlicher Geschwindigkeit wandern und innerhalb des Spannungsfeldes aufgetrennt werden. Diese Auftrennung wird mittels des in der Kapillare befindlichen Trägers (Polymer) unterstützt. Es kommt zum einen zur ladungsabhängigen Bindung der zu analysierenden DNA-Fragmente und zum anderen aufgrund von Molekularsieb-Eigenschaften zu einer Auftrennung nach der Größe (Grossman and Colburn 1992, Butler 2005). Bei der DNA handelt es sich aufgrund ihrer Phosphatreste um ein negativ geladenes Molekül, daher wandert sie im elektrischen Feld in Richtung des positiv geladenen Pols.

Bei der Kapillarelektrophorese wandert die DNA entsprechend durch die Kapillare und erreicht nach einem definierten Zeitraum das Detektionsfenster. Hier erfolgt die Anregung zur Fluoreszenz mit Hilfe eines Lasers (10 mV-Argonlaser, Wellenlänge zwischen 488 nm und 514,5 nm), sodass die fluoreszenzmarkierten DNA-Fragmente Licht unterschiedlicher Wellenlängen emittieren. Dies wird von einem Detektor erkannt, aufgefangen und in seine spektralen Bestandteile zerlegt. Unter Einbeziehung der bekannten Werte für den Größenstandard, wird nun mittels der Analysesoftware ein Elektropherogramm erstellt, in dem die amplifizierten Allele der enthaltenen STRs als Peaks mit definierter Länge erscheinen (Grossman and Colburn 1992, Butler 2005).

2.8.2 Geräte und Material

- Längenstandard CC5 500 pro (Promega, Mannheim)
- Leiter – Allelic Ladder Mix – aus dem PowerPlex® ESX 17 Fast (Promega, Mannheim)
- Wasser LiChrosolv (Merck®, Darmstadt)

- ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems® Genetic Analyzer, Darmstadt)
- Kapillare 24 cm, Durchmesser 50 µm (Applied Biosystems®, Darmstadt)
- Polymer POP4 (Applied Biosystems®, Darmstadt)
- GeneMapper® ID Software Version 3.2 (Applied Biosystems®, Darmstadt)

2.8.3 Methode speziell

Zur Auftrennung werden 0,5 – 1 µl PCR-Produkt mit 2 µl des CC5 Längenstandards (500 pro) und 12 µl Wasser angesetzt. Bei jeder Analyse läuft die im Kit enthaltene Leiter mit. Die Reaktionsansätze werden verschlossen und anschließend in einem Thermocycler denaturiert. Danach erfolgte die Kapillarelektrophorese mittels ABI 3130 Genetic Analyzer unter bestimmten Reaktionsparametern (siehe Tabelle 10). Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Softwareprogramms Genemapper® (Version 3.2.). Signale mit Peak-Größen von mehr als 50 RFUs (Relative Fluorescence Units) wurden als Allele gewertet.

Tabelle 10: Reaktionsparameter (Amplifikationsprogramm PPESX® 17 Fast)

Injektionsdauer	5 sec
Injektionsspannung	15 kV
Laufzeit	35 min
Laufspannung	15 kV
Temperatur	60°C

2.8.4 Auswertung – STR-Analyse

Bei der Auswertung der DNA-Profile wurde Folgendes zugrunde gelegt (Poetsch et al. 2011c):

- **Einzelprofil**: In jedem auswertbaren STR (mind. 14 und max. 16) wurden höchstens zwei Allele bestimmt, sodass von einem einzigen Spurenverursacher ausgegangen wird.
- **Vollprofil:** In jedem auswertbaren STR (mind. zwölf und max. 16) wurden die Allele der jeweiligen gesuchten Person gefunden, unabhängig von Zusatzallelen oder drop-in Ereignissen.

- **Teilprofil:** In mehr als der Hälfte aller auswertbaren STRs, mindestens aber 7 STRs wurden die Allele der jeweiligen gesuchten Person gefunden, unabhängig von Zusatzallelen oder drop-in Ereignissen.

- **Kein Profil:** In weniger als der Hälfte aller auswertbaren STRs (≤ 7) wurden die Allele der jeweiligen gesuchten Person gefunden.

Die in der Routine für einen Einschluss der Allele ins Ergebnis geltenden Kriterien wurden für diese Studie ebenfalls angewandt:

- Es werden Allele ausgewertet, die in beiden Durchgängen gut bestimmbar sind und nicht als Stotterbande zu sehr hohen Allelen stehen
- Allele, die definitiv als Stotterbande zu erkennen sind (10% der nachfolgenden Allelhöhe), werden nicht in die Auswertung eingeschlossen
- Allele, die in unterschiedlicher Höhe in beiden Analysen erscheinen, eventuell auch nur in einer Analyse erscheinen, jedoch nicht als Stotterbande gelten, werden ausgewertet
- Allele, die nur in einer der beiden Analysen auftreten und keiner Vergleichsperson zugeordnet werden können, werden nicht in die Auswertung eingeschlossen. Bei den Kleidungsversuchen wurden diese Allele als Fremd-DNA kategorisiert.

2.8.5 Mischspur - Spurenverursacher

Aufgrund der wachsenden Relevanz von Analyse und Interpretation von Mischprofilen, wurden durch die deutsche Spurenkommission, als Zusammenschluss von forensischen Wissenschaftlern und Rechtsmedizinern, Leitlinien zur Beurteilung von Mischspuren entworfen (Schneider 2016).

<u>Klassifizierung von Mischspuren:</u>

Typ A: kein eindeutiger Hauptverursacher, keine Ergebnisse im stochastischen Bereich

Vom stochastischen Bereich wird gesprochen, wenn DNA Profile mit dem Verdacht auf allelic drop out und/oder locus drop out entstehen, häufig bei Amplifikationen von Proben mit geringer DNA-Quantität und/oder -Qualität.

Typ B: deutlich unterscheidbarer Haupt- und Nebenverursacher; durchgängiges Mindest-Verhältnis der Peakhöhen von ca. 4:1 (Haupt- zu Nebenkomponente) für alle heterozygoten Systeme; keine stochastischen Phänomene.

Typ C: Mischspuren ohne deutliche(n) Hauptverursacher und mit Ergebnissen im stochastischen Bereich, bei geringer DNA-Qualität und/oder -Quantität mit Verdacht auf allelic drop out und/oder locus drop out (siehe hierzu Kapitel 1.2)

Peakauswertung:

Ein Peak muss eine typische Morphologie aufweisen und eindeutig einem Allel eines STRs entsprechen. Bei rauscharmen Grundlinien dürfen RFUs über 50 (relative Fluorescence Unit) als echte Peaks gewertet werden.

Stotter-Problematik:

Stotter-verdächtige Peaks (siehe „Stotterbanden“ in Kap. 1.2, Abb. 3) sollten in begründeten Fällen als echte Allele einbezogen werden. Dabei ist auch zu beachten, dass es zu relativen Stotter-Intensitäten innerhalb eines DNA-Systems oder zwischen verschiedenen DNA-Systemen in einer Multiplex-Amplifikation kommen kann. Die Möglichkeit der Spuren-Allelpeak-Überlagerung mit Stotterbanden besteht.

Einschluss-/Ausschlusskriterien:

Eine Person kommt als Spurenverursacher in Betracht, wenn in Mischspuren alle DNA-Merkmale der fraglichen Person durchgängig nachweisbar sind. Wenn in mehr als der Hälfte, aber nicht in allen auswertbaren STRs die Merkmale der Person gefunden wurden, kann keine klare Aussage zu Einschluss oder Ausschluss getroffen werden. Wenn die Merkmale der Person nur in der Hälfte oder weniger STRs nachweisbar sind, ist diese Person als Spurenleger nicht nachweisbar.

Für die vorliegende Studie wurden darüber hinaus folgende Festlegungen getroffen:

Eine *eindeutige Zuordnung (**Spurenverursacher**)* eines Kleidungsstücks zu einer Person kann dann erfolgen, wenn nur von dieser Person an allen drei Regionen ein Vollprofil bestimmt wird, von anderen Personen (Familienmitgliedern) also höchstens an zwei der drei Regionen. Beim Übertragungsversuch muss ein Vollprofil der Person vorliegen.

Wird nicht in allen Kleidungsstückregionen ein Vollprofil einer Person gesehen, jedoch in einer Region mehr als von einer anderen bekannten Person, so wird von einer *dominanten Zuordnung (**Hauptkomponente**)* gesprochen. Beim Übertragungsversuch (Zweipersonenmischspur) wäre es z.B. ein Vollprofil gegenüber einem Teilprofil oder ein Teilprofil gegenüber keinem Profil.

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchungen an Kleidung

3.1.1 Quantifizierungsergebnisse

Bei der Real-Time-PCR ergaben sich DNA-Konzentrationen zwischen 0,0006 und 8,222 ng/µl (Tabelle 11), bei einem Mittelwert von 0,7558 ng/µl und einem Median von 0,171 ng/µl. Von 118 Proben hatten lediglich 13 eine DNA-Konzentration über 2,0 ng/µl und 13 zwischen 1,0 und 2,0 ng/µl. Die hohen Konzentrationen fanden sich hauptsächlich bei getragener Kleidung nach einem Tag (69,23%), die mäßig hohen Konzentrationen bei der zweitägig getragenen Kleidung (61,54%). Ein signifikanter Unterschied bei der Position der DNA-Entnahme (Ärmel oder Brustteil) konnte nicht nachgewiesen werden. Eine Konzentration unter 0,1 ng/µl zeigte sich bei insgesamt 54 Proben.

Tabelle 11: Geclusterte Quantifizierungsergebnisse im Vergleich zur Tragezeit und zum Entnahmeort; re=rechts, li=links, d=Tag/e, n=Summe der Kleidungsstücke

Quantifizierungsergebnis	von 118 Proben	2d getragen (n=24)	1d getragen (n=36)	Kleiderschrank (n=58)
> 2 ng	13 (11,02%)	2 (8,33%)	9 (25,00%)	2 (3,45%)
>1-2 ng	13 (11,02%)	8 (33,33%)	4 (11,11%)	1 (1,72%)
0,1-1 ng	38 (32,20%)	9 (37,50%)	14 (38,89%)	15 (25,86%)
<0,1 ng	54 (45,76%)	5 (20,83%)	9 (25,00%)	40 (68,97%)

Quantifizierungsergebnis	re Ärmel (n=40)	li Ärmel (n=38)	Brustteil (n=40)
> 2 ng	5 (12,50%)	4 (10,53%)	4 (10,00%)
>1-2 ng	3 (7,5%)	5 (13,16%)	5 (12,50%)
0,1-1 ng	12 (30,00%)	10 (26,32%)	16 (40,00%)
<0,1 ng	20 (60,00%)	19 (50,00%)	15 (37,50%)

Bei der Beurteilung der hier aufgelisteten Quantifizierungsergebnisse muss bedacht werden, dass bei den Analysen verschiedene Amplifikations-Kits genutzt wurden und deutliche Unterschiede in Bezug auf Sensitivität und Verlässlichkeit der Ergebnisse zwischen den Kits bestehen (Poetsch et al. 2016).

3.1.2 Ergebnisse der STR-Analysen

3.1.2.1 Gesamtergebnisse der DNA-Analyse über alle Kleidungsstücke von getragener Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank

An allen 40 Kleidungsstücken kamen DNA-Antragungen zur Darstellung, bei denen in 92,5% der Fälle mindestens ein Vollprofil von Träger/Besitzer des Kleidungsstücks und/oder einem seiner Familienmitglieder nachgewiesen werden konnte. Lediglich bei drei Kleiderschrank-Kleidungsstücken waren nur Teilprofile des Trägers oder eines Familienmitgliedes nachweisbar. Bei den auswertbaren Kleidungsproben handelte es sich immer um Mischspuren (Definition gemäß Kapitel 1.5), wobei nicht immer ein weiteres/mehrere/alle Familienmitglieder mit einem Voll- oder Teilprofil gesehen werden konnten. In ein- und derselben Mischspur von einem Kleidungsstück konnten also Vollprofile mehrerer Personen nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden in allen Familien mit ≥ 3 Personen beide Elternteile untersucht. Findet sich also an einem Kleidungsstück die DNA beider Eltern, sind automatisch auch alle (biologischen) Kinder der Familie, aufgrund ihrer genetischen Abstammung, als Spurenleger eingeschlossen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Schematische Zusammenfassung der STR-Ergebnisse für getragene Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank, zum einen bezogen auf die Kleidungsstücke, zum anderen auf die einzelnen Proben. VP steht für Vollprofil; FMG = Familienmitglied; . re = rechts; li = links; eindeutige Zuordnung/Hauptkomponente gemäß Definition in Kap. 2.8.5

<table>
<tr><th colspan="7">40 Kleiderstücke</th></tr>
<tr><th colspan="3">20 getragen</th><th></th><th colspan="3">20 Kleiderschrank</th></tr>
<tr><td colspan="3">100% VP
19x Träger (95%)
12x eindeutige Zuordnung zum Träger (60%)
3x Träger als Hauptkomponente</td><td></td><td colspan="3">85% VP
13x Besitzer (65%)
2x eindeutige Zuordnung zum Besitzer (15%)
8x Besitzer als Hauptkomponente</td></tr>
<tr><th colspan="7">118 Ergebnisse</th></tr>
<tr><th colspan="3">60 getragen</th><th></th><th colspan="3">58 Kleiderschrank</th></tr>
<tr><th>20
re. Arm</th><th>20
li. Arm</th><th>20
Brust</th><th></th><th>20
re. Arm</th><th>20
li. Arm</th><th>20
Brust</th></tr>
<tr><td colspan="3">34x Zwei-Personen-Mischspur (33%), davon 23x VP des Trägers als Hauptkomponente (68%)</td><td></td><td colspan="3">34x Zwei-Personen-Mischspur (28%), davon 11x VP des Besitzers als Hauptkomponente (32%)</td></tr>
<tr><td>VP
10 Träger
2 FMG</td><td>VP
10 Träger
3 FMG</td><td>VP
9 Träger
1 FMG</td><td></td><td>VP
3 Besitzer
1 FMG</td><td>VP
4 Besitzer
2 FMG</td><td>VP
7 Besitzer
3 FMG</td></tr>
<tr><td colspan="3">26x Drei-Fünf-Personen-Mischspur (43%), davon 8x VP des Trägers als Hauptkomponente (31%)</td><td></td><td colspan="3">24x Drei-Fünf-Personen-Mischspur (22%), davon 3x VP des Trägers als Hauptkomponente (12,5%)</td></tr>
<tr><td>VP
7 Träger
6 FMG</td><td>VP
7 Träger
6 FMG</td><td>VP
10 Träger
6 FMG</td><td></td><td>VP
1FMG</td><td>VP
2 Besitzer
3 FMG</td><td>VP
4 Besitzer
7 FMG</td></tr>
</table>

3.1.2.2 Ergebnisse der DNA-Analyse von getragener Kleidung in Bezug auf die Möglichkeit der Zuordnung (Träger)

In insgesamt 15 der 20 getragenen Kleidungsstücke konnten in allen Regionen Vollprofile des Trägers gesehen werden. Dabei war eine eindeutige Zuordnung als Spurenverursacher nur in zwölf dieser 15 Fälle möglich (Kapitel 2.8.5), da dreimal ein weiteres Familienmitglied ebenfalls in allen drei Anteilen Vollprofile aufwies (Kleidungsstücke 4B, 5A, 7B). Bei den zwölf Kleidungsstücken, die eintägig getragen wurden, fand sich in 100% der Fälle ein Vollprofil des Trägers (unabhängig von der Lokalisation). Eine eindeutige Zuordnung erfolgte in sieben dieser zwölf Fälle, in zwei Fällen konnte der Träger als Hauptkomponente gewertet werden und bei dreien handelte es sich um die obengenannte Konstellation (4B, 5A, 7B). Nach zweitägiger Tragezeit (insgesamt acht Kleidungsstücke) wurde an sieben Kleidungsstücken ein Vollprofil des Trägers nachgewiesen, allerdings nicht immer in allen Kleidungsregionen. In fünf dieser sieben Fälle konnte eine eindeutige Zuordnung zum Träger erfolgen, in den anderen zwei Fällen gilt der Träger einmal als Hauptkomponente (Kapitel 2.8.5) und einmal hatten drei der vier Familienmitglieder die gleiche Anzahl an Vollprofilen wie der Träger (2B).

In zwölf von insgesamt 60 Proben der getragenen Kleidung (20%) konnte die DNA von nur einer Person der Familie festgestellt werden, unabhängig von der Größe der Familie. Dabei handelte es sich immer um den Träger persönlich. Dreimal war es sein Teilprofil (einmal rechter, zweimal linker Ärmel). Bei insgesamt 31 der 53 Vollprofile an den unterschiedlichen Kleidungsregionen konnte der Träger als Hauptkomponente (Kapitel 2.8.5) festgestellt werden. Dabei waren über der Brust die meisten Vollprofile zu finden (insgesamt 19; Tabelle 12 und Abbildung 9). In zwölf dieser 19 Vollprofile war der Träger auch die Hauptkomponente.

Neben dem Träger zeigten sich in über ¾ der 60 Kleidungsregionen auch DNA-Profile mindestens eines Familienmitgliedes. Dabei handelte es sich um mindestens 24 Vollprofile, die relativ gleichmäßig verteilt waren. Knapp die Hälfte der 23 Teilprofile war über der Brustregion zu finden. 13mal konnten vereinzelte Allele einem Familienmitglied zugeordnet werden (kein Profil) (Abbildung 9).

Fremd-DNA (nicht zu den Familienmitgliedern passende DNA) fand sich in sehr geringer Menge in Form einzelner Zusatzallele an getragener Kleidung, insgesamt an zwölf Kleidungsstücken, jedoch nur selten in mehr als einer Region (ca. 40% der 60 Proben). Am ehesten waren sie bei zweitägiger Tragedauer zu sehen und dann von bis zu drei Personen. Die maximale Peakhöhe der entsprechenden Allele im Elektropherogramm betrug höchstens die Hälfte der Allelpeakhöhen des Besitzers.

In einer Probe der getragenen Kleidung (4A2A) konnte gar keine DNA einer bestimmten Person aus der Familie nachgewiesen werden (Tabelle A1b im Anhang).

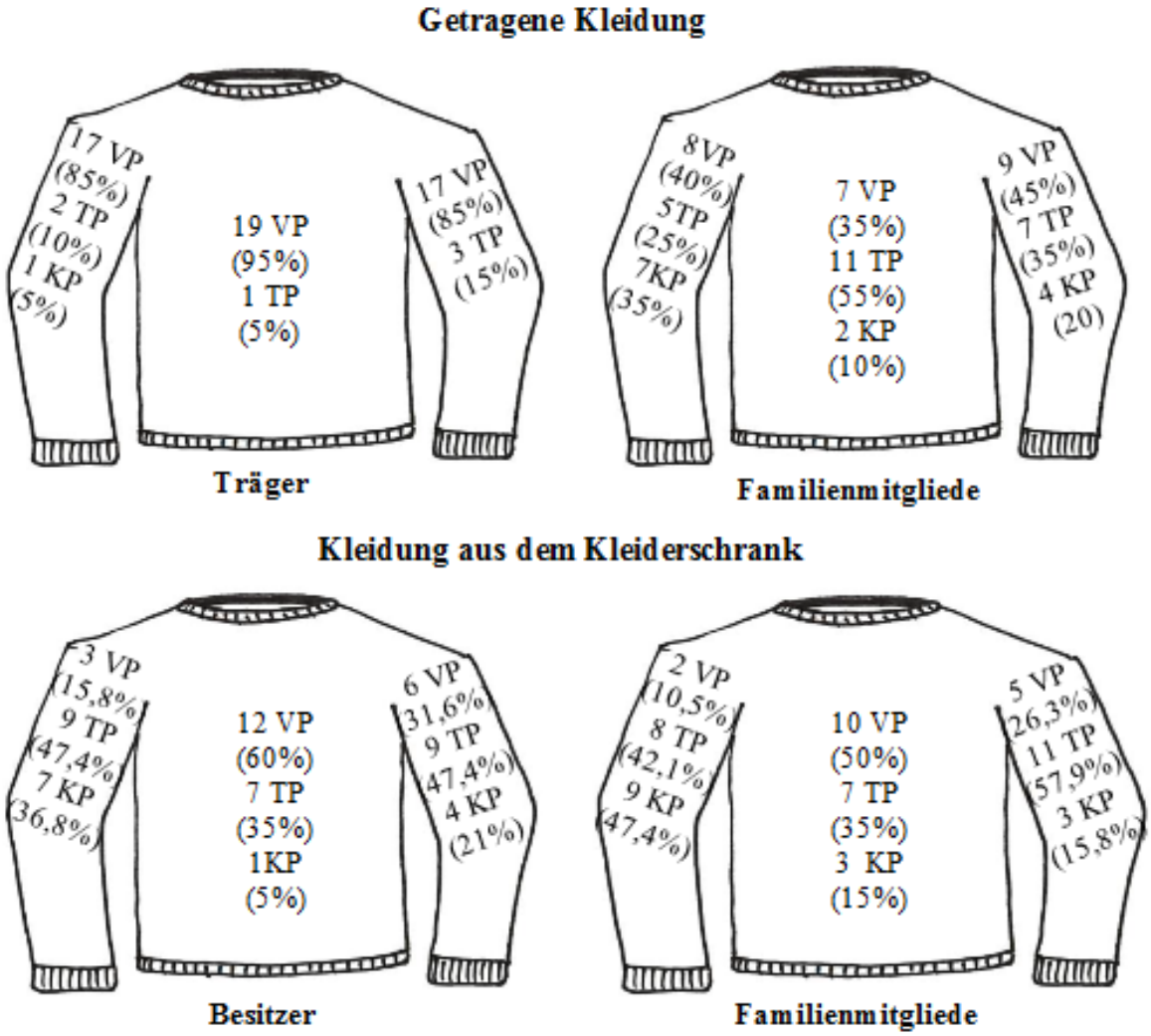

Abbildung 9: Getragene Kleidungsstücke und Kleidung aus dem Kleiderschrank unterteilt in Träger und Familienmitglieder und in entsprechende Kleidungsareale. Probenanzahl pro Kleidungsareal beim Träger n=20, beim Besitzer n=19 (Arme) / 20 (Brust). VP= Vollprofil, TP=Teilprofil, KP= Kein Profil

3.1.2.3 Ergebnisse der DNA-Analyse von Kleidung aus dem Kleiderschrank in Bezug auf die Zuordenbarkeit (Besitzer)

Jedem Familienmitglied konnte ein eigener Kleiderschrank oder zumindest ein klar abgegrenzter Bereich eines Kleiderschranks zugeordnet werden (Tabelle A1a im Anhang).

An 13 der 20 Kleidungsstücke aus dem Kleiderschrank (65%) fand sich mindestens ein Vollprofil des Besitzers, auch hier abhängig von der Bekleidungsregion achtmal als Hauptkomponente und zweimal mit einer eindeutigen Zuordnung zum Besitzer (Tabelle 12). In sechs dieser insgesamt zehn Fälle war der Besitzer gleichzeitig der „Wäscher“ und zweimal der „Bügler“. Darüber hinaus gab es insgesamt vier Kleidungsstücke, an denen ein Familienmitglied sich mittels eines oder mehrerer Vollprofile als Hauptkomponente herausstellte. Dabei war es dreimal der „Wäscher“ der Familie (1B4C, 2D4C, 7C2C, 7C3C) und einmal das Kind einer dreiköpfigen Familie (4A3C). Bei den restlichen sechs der 20 Kleidungsstücke konnte entweder keine genaue Zuordnung aufgrund des Mischprofils vorgenommen werden, oder es wurden keine Vollprofile nachgewiesen.

In sieben von insgesamt 58 Proben aus dem Kleiderschrank (12,1%) fand sich DNA nur einer bekannten Person, zweimal als Vollprofil des Besitzers (Zwei-Personen-Haushalt; 1A4C, 3A4C), dreimal als sein Teilprofil (einmal Zwei-Personen Haushalt, 1A2C) (Tabelle A1b). Knapp ¾ der Kleidungsregionen wiesen neben dem Besitzer noch DNA-Profile mindestens eines weiteren Familienmitgliedes auf. Dabei waren die 17 Vollprofile der Familienmitglieder größtenteils über der Brust zu finden. Die 26 Teilprofile traten etwas vermehrt am linken Ärmel auf. Nur vereinzelte Allele von Familienmitgliedern konnten in 15 Proben hauptsächlich am rechten Ärmel gesehen werden (Abbildung 9). Der Besitzer wies etwas weniger Vollprofile (21) als Teilprofile (25) auf, diese waren jedoch in über der Hälfte der Fälle über der Brust zu finden. Bei 15 der 21 Vollprofile ist der Besitzer als Hauptkomponente einzuordnen.

An 18 Kleidungsstücken aus dem Kleiderschrank konnte Fremd-DNA (von nicht-Familienmitgliedern) nachgewiesen werden, maximal von zwei weiteren fremden Personen. Die Verteilung dieser Fremd-DNA über die Kleidungsregionen war annähernd gleich hoch (ca. in 72% der 58 Proben fand sich Fremd-DNA).

In zehn Proben der Kleiderschrankbekleidung konnte gar keine DNA einer bestimmten Person aus der Familie nachgewiesen werden (Tabelle A1b im Anhang).

3.1.2.4 Ergebnisse der DNA-Analyse getragener Kleidung in den vier zweiköpfigen Familien

Insgesamt wurden 24 Proben analysiert (pro Person ein Kleidungsstück mit drei Arealen).

24 Proben → 23 mit Vollprofil des Trägers → 6 mit Vollprofil des 2. FMG

→11 mit Teilprofil des 2. FMG

→ 6 ohne Allele des 2. FMG

→ 1 mit Teilprofil des Trägers → ohne Allele des 2. FMG

In 17 Proben der getragenen Kleidung dieser Familien (66,7%) stammte die DNA von beiden Familienmitgliedern (Tabelle 12), in den anderen sieben Proben nur von einem der beiden Familienmitglieder.

Die Verteilung der insgesamt 29 Vollprofile (23 vom Träger, sechs vom weiteren Familienmitglied) über die Kleidungsstücke war relativ gleichmäßig (siehe Abbildung 10a). Die elf Teilprofile des zweiten Familienmitglieds fanden sich am häufigsten über der Brust (21%).

In insgesamt 7 Proben konnte überhaupt kein DNA-Profil einer bekannten Person einer Zwei-Personen-Familie festgestellt werden, über alle Areale gleichmäßig verteilt.

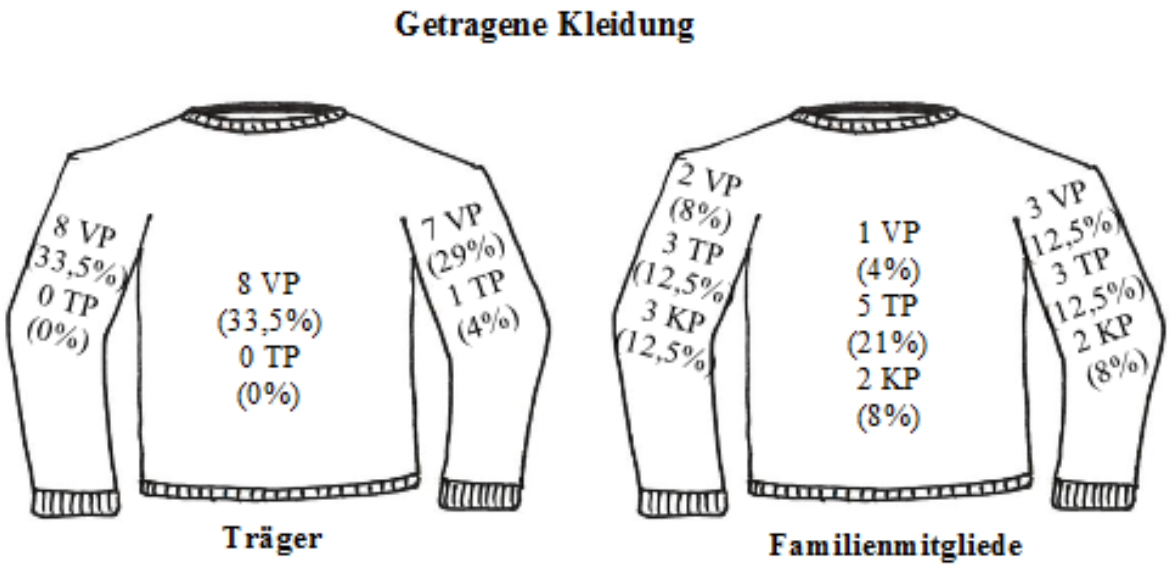

Abbildung 10a: Getragene Kleidungsstücke, unterteilt in Träger und Familienmitglied und in entsprechende Kleidungsareale. Prozentzahlen beziehen sich auf die Gesamtzahl von 24 Proben. VP= Vollprofil, TP=Teilprofil, KP= Kein Profil

3.1.2.5 Ergebnisse der DNA-Analyse von Kleiderschrank-Kleidung in vier Zwei-Personen-Familien

Insgesamt wurden hier 22 Proben bei acht Personen untersucht, da ein Oberteil keine Ärmel besaß.

22 Proben → 13 mit Vollprofil des Trägers → 3 mit Vollprofil des 2. FMG

→ 8 mit Teilprofil des 2. FMG

→ 2x ohne weitere zuzuordnende Profile

→ 4 mit Teilprofil des Trägers → 2 mit Vollprofil des 2. FMG

→ 1 mit Teilprofil des 2. FMG

→ 1x ohne weitere zuzuordnende Profile

→ 5 ohne Profil des Trägers → 5x auch keine Allele des 2. FMG

In 14 der 22 Proben der Kleidung aus dem Kleiderschrank fanden sich DNA-Profile von beiden Familienmitgliedern (63,6%), wobei sich der Besitzer in elf der 14 Fälle mit einem Vollprofil präsentierte und die zweite Person nur in fünf Fällen (Tabelle 12). In den anderen acht Proben fand sich dreimal nur eins der beiden Familienmitglieder, fünfmal konnte kein Profil (nur vereinzelte Allele) eines der beiden FMG festgestellt werden.

Über die Hälfte der Vollprofile des Besitzers wurden über der Brustregion gefunden, beim Familienmitglied waren es sogar 60% der Vollprofile. Die Teilprofile verteilten sich bei beiden Personen relativ gleichmäßig über die Kleidungsareale (Abbildung 10b).

Jedem Kleidungsstück konnte eines der beiden Familienmitglieder im Sinne eines Spurenverursachers oder einer Hauptkomponente (einmal) zugeordnet werden (gemäß Definition in Kap. 2.8.5), dies gliederte sich wie folgt auf:

1. Familie (1): - (1A) Besitzer = Wäscher
   - (1B) Wäscher
2. Familie (3): - (3A) Besitzer = Wäscher
   - (3C) Besitzer = Trockner
3. Familie (5): - (5A) Besitzer = Wäscher/Bügler
   - (5B) Besitzer
4. Familie (6): - (6A) Besitzer = Bügler
   - (6B) Besitzer = Wäscher/Trockner

75% der Personen waren somit nicht nur Besitzer des Kleidungsstücks, sondern auch diejenigen, die das Kleidungsstück vor Verbringen in den Kleiderschrank entweder gebügelt/getrocknet oder gefaltet (Wäscher) haben. In den anderen zwei Fällen (25%) war es entweder der Besitzer oder der Wäscher.

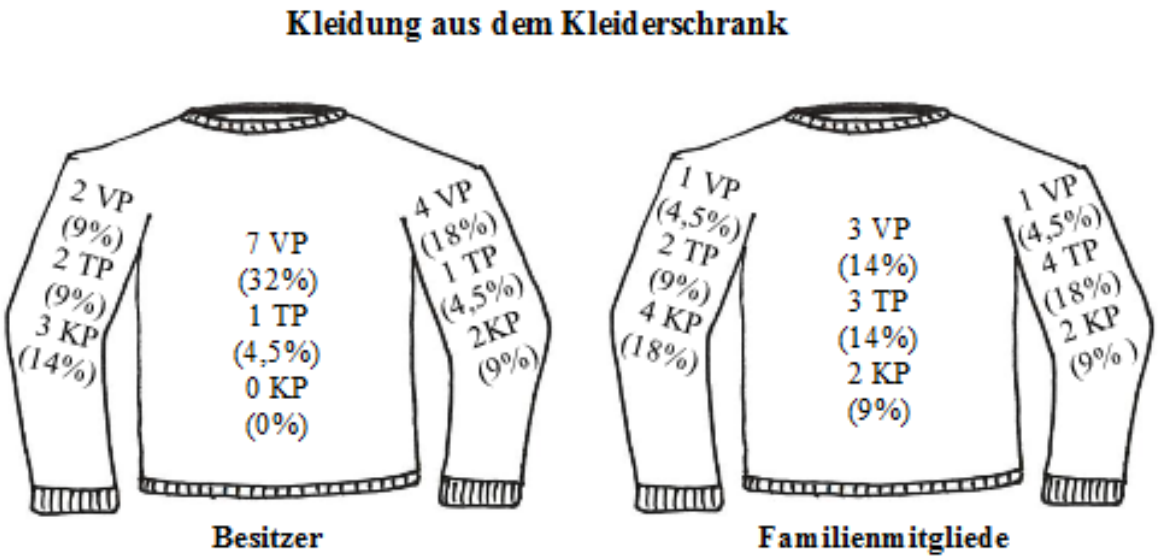

Abbildung 10b: Kleidung aus dem Kleiderschrank, unterteilt in Träger und Familienmitglied und in entsprechende Kleidungsareale. Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Gesamtprobenanzahl (n=22). VP= Vollprofil, TP=Teilprofil, KP= Kein Profil

3.1.2.6 Ergebnisse der DNA-Analyse getragener Kleidung in drei- bis fünfköpfigen Familien

Die drei Familien mit mehr als zwei Personen ergaben insgesamt 36 Proben, somit zwölf pro Kleidungsareal.

36 Proben
- → 30 mit Vollprofil des Trägers
  - → 16 mit Vollprofil mindestens eines weiteren FMGs
  - → 11 mit Teilprofil mindestens eines weiteren FMGs
  - → 3x ohne weitere zuzuordnende Profile
- → 5 mit Teilprofil des Trägers
  - → 2 mit Vollprofil mindestens eines weiteren FMGs
  - → 1 mit Teilprofil mindestens eines weiteren FMGs
  - → 2x ohne weitere zuzuordnende Allele

→ 1 ohne Profil des Besitzers → 1x kein Allel eines weiteren FMGs

In 31 dieser 36 Proben von getragener Kleidung konnten mehr als zwei bekannte Personen festgestellt werden. Dabei waren es über 83% Vollprofile des Trägers und 50% Vollprofile mindestens eines Familienmitgliedes. In 26 Proben konnte DNA von mindestens zwei weiteren Familienmitgliedern (der Träger ist dabei immer vorhanden) nachgewiesen werden.

Die Anzahl der Vollprofile blieb bei getragener Kleidung weiterhin hoch. Sowohl der Träger (30) wie auch die Familienmitglieder (18) wiesen eine relativ gleichmäßige Verteilung der Profile auf die unterschiedlichen Kleidungsregionen auf. Entsprechend diesem Verhältnis wurden bei den Familienmitgliedern häufiger Teilprofile gesehen (zwölf) als beim Träger (fünf), die Hälfte war dabei über der Brust zu finden. Nur vereinzelte Allele der Familienmitglieder wurden sechsfach häufiger gesehen, zum größten Teil (66,7%) über dem rechten Ärmel (Abbildung 10c).

Als dominanter Spurenleger trat der Besitzer des Oberteils 14mal auf, dabei mit einer relativ ausgeglichenen Verteilung über den Regionen (viermal rechter Ärmel, fünfmal linker Ärmel, fünfmal über der Brust). Jeweils an einem Ärmel konnte der zweite Erwachsene als dominanter Spurenleger ausgemacht werden.

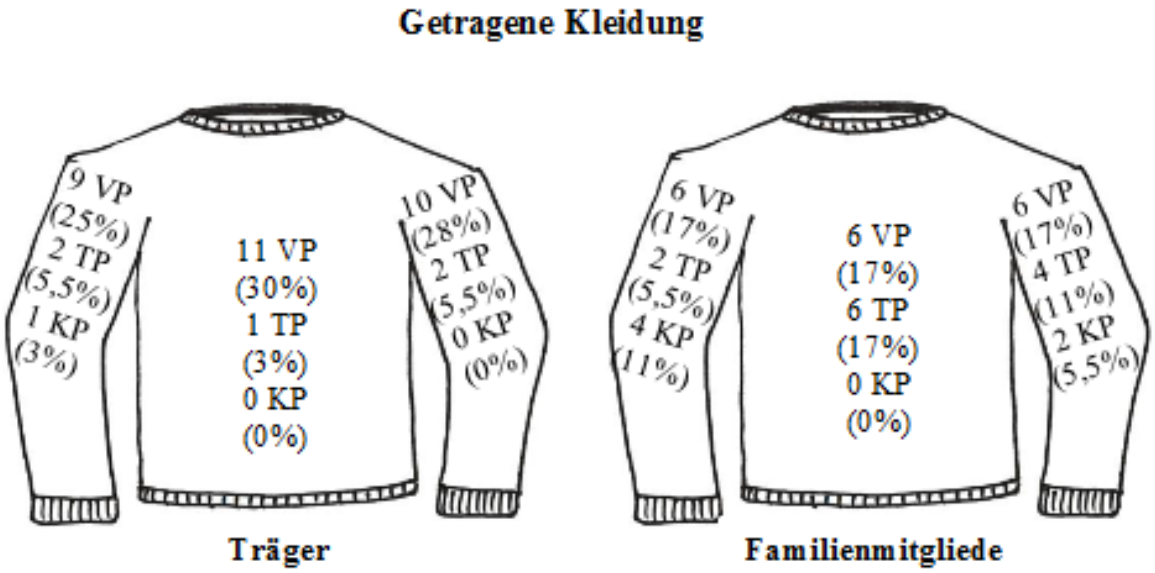

Abbildung 10 c: Auflistung der Profiltypen nach Kleidungsstückregion für getragene Kleidung bei Familien größer als zwei Personen. Die Prozentzahlen geben das Verhältnis zur gesamten Probenanzahl an (36). VP= Vollprofil, TP=Teilprofil, KP= Kein Profil

3.1.2.7 Ergebnisse der DNA-Analyse von Kleiderschrank-Kleidung in drei- bis fünfköpfigen Familien

Die drei Familien mit mehr als zwei Personen ergaben insgesamt 36 Proben, somit zwölf pro Kleidungsareal. Die Verteilung der Profile sah wie folgt aus:

36 Proben	→ 8 mit Vollprofil des Besitzers	→ 4 mit Vollprofil mindestens eines weiteren FMGs
		→ 4 mit Teilprofil mindestens eines weiteren FMGs
	→ 21 mit Teilprofil des Besitzers	→ 8 mit Vollprofil mindestens eines weiteren FMGs
		→ 11 mit Teilprofil mindestens eines weiteren FMGs
		→ 2x ohne Profil eines weiteren FMGs
	→ 7 ohne Profil des Besitzers	→ keine Vollprofile eines FMGs
		→ 2 mit Teilprofil mindestens eines weiteren FMGs
		→ 6x ohne Allele eines weiteren FMGs

Bei 27 der 36 Proben konnte zusätzlich zur DNA des Besitzers DNA von mindestens einem Familienmitglied gefunden werden, davon waren in 24 Proben sogar mehr als zwei bekannte Personen nachweisbar. Über 22% dieser Proben ergaben Vollprofile des Besitzers, welche zum größten Teil (62,5%) über der Brust zu finden waren. Von den Familienmitgliedern zeigten sich in ein Drittel der Proben Vollprofile, die sich ebenfalls zum größten Teil (58,3%) über der Brust befanden. In deutlich über der Hälfte der 36 Proben (58,3%) waren Teilprofile des Besitzers über alle Kleidungsregionen gleichmäßig verteilt nachweisbar. Teilprofile der Familienmitglieder wurden in knapp der Hälfte der Proben mit Hauptaugenmerk auf den Ärmeln bestimmt.

Nur vereinzelte Allele vom Besitzer oder von den Familienmitgliedern fanden sich an 19,4% der Proben, am häufigsten auf dem rechten Ärmel.

Als dominanter Spurenleger konnte der Besitzer in insgesamt vier Kleidungsarealen ausgemacht werden (einmal rechter Ärmel, zweimal linker Ärmel, einmal über der Brust). Dabei war der Besitzer einmal ein Kind, einmal der Wäscher und zweimal der Bügler. An fünf Proben konnte eine dominante Spur von insgesamt drei Familienmitgliedern nachgewiesen werden (dreimal am

linken Ärmel, je einmal über Brust und rechtem Arm). Dabei war es zweimal der Wäscher und einmal ein Kind der Familie.

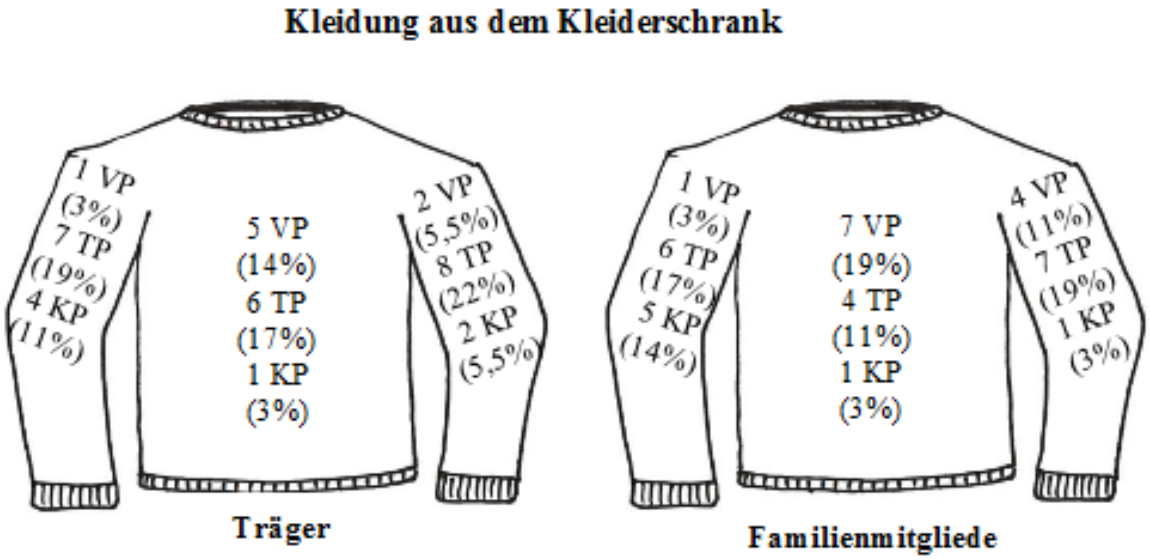

Abbildung 10 d: Auflistung der Profiltypen nach Kleidungsstückregion für Kleidung aus dem Kleiderschrank bei Familien größer als zwei Personen. Die Prozentzahlen geben das Verhältnis zur gesamten Probenanzahl an (36). VP= Vollprofil, TP=Teilprofil, KP= Kein Profil.

3.2 Untersuchung von DNA-Übertragungswegen

3.2.1 Quantifizierungsergebnisse

Die Ergebnisse der Real-time PCR ergaben DNA-Konzentrationen zwischen 0 und maximal 2,5723 ng/µl (Tabelle A2 im Anhang). Der Median liegt dabei bei 0,00612 ng/µl und der Mittelwert bei 0,02235 ng/µl. Von 180 Proben hatten lediglich zwei eine DNA-Konzentration von über 1,0 ng/µl, aus Durchgang 5 (siehe Tabelle A0 im Anhang).

Auch wenn es in dieser Studie nicht primär um den Vergleich zwischen quantitativen und qualitativen Ergebnissen ging, kann folgendes festgestellt werden:

In zehn Fällen konnte kein DNA-Gehalt durch die Real-Time-PCR gemessen werden („undetermined“), zumeist bei Durchgang fünf und zehn (Tabelle 3 in Kap. 2.1.2.2, Tabelle A2 im Anhang, dunkel grau unterlegt). In neun dieser zehn Proben „ohne“ DNA kamen nach STR-Amplifikation ein Vollprofil (dreimal beim Spender, sechsmal beim Überträger) und achtmal ein Teilprofil (sechsmal vom Spender, zweimal vom Überträger) zur Darstellung.

3.2.2 Zuverlässigkeit der Daten

Es wurden alle Durchgänge dreimal durchgeführt, um die Zuverlässigkeit der Daten zu überprüfen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, weder in der gemessenen DNA-Konzentration noch in den Ergebnissen der STR-Analyse. Ein und dasselbe Spender/Überträger-Paar erzielte in demselben Szenario also identisch bzw. fast identisch häufige Voll- oder Teilprofile. Beispielhaft ist dies für die Spender/Überträger-Paare MP (3-5) und AF (1-3), in Tabelle A2 im Anhang dargestellt.

3.2.3 Ergebnisse der STR-Analyse

Allgemein kann festgehalten werden, dass es sich immer um Mischprofile von mindestens zwei Personen handelte, sobald mindestens ein Vollprofil von einer der beiden Personen (Spender oder Überträger) zu sehen war (57/180). In 33 der 180 Proben zeigte sich nur die DNA von einer Person als Teilprofil (von Spender oder Überträger), dreimal davon als Hauptkomponente (Ü7JA3, Ü6DH3, Ü8MP3). In 74 Proben zeigten sich nur vereinzelte Allele, nicht in allen 16 Systemen, die sich Spender oder Überträger zuordnen ließen. Fremde DNA fand sich somit nicht.

3.2.3.1 Spender- und Überträger-Profile in den verschiedenen Durchgängen

Insgesamt fand sich in 72 von 180 Proben (40%) verteilt über nahezu alle Szenarien die DNA des Spenders (Person X) an dem Gegenstand, auf den übertragen wurde (Abbildung 6 in Kap. 2.1.2.2), in 21 dieser 72 Fälle (11,67% von der Gesamtzahl) handelte es sich dabei um ein Vollprofil (Tabelle A3). Eine Dominanz des Spenders, sodass man ihn nach den oben beschriebenen Kriterien (Kapitel 2.8.5) als Hauptkomponente bezeichnen kann, wurde in 10 von diesen 21 Proben aus den Szenarien 1, 4, 5, 7, 8, 9 und 10 festgestellt (Tabelle A3), wobei er dreimal als eindeutiger Spurenverursacher (zweimal 9, einmal 1) zu bezeichnen ist. In den restlichen 51 Proben fanden sich entsprechend nur noch Teilprofile des Spenders, wobei er in zwölf dieser 51 Proben als Hauptkomponente zu sehen war, da hier der Überträger nur vereinzelte Allele aufwies (kein Profil). In den anderen 39 Proben mit Teilprofil des Spenders fanden sich in 23 Proben Vollprofile und in 16 Proben Teilprofile des Überträgers (Tabelle A3, Proben der Szenarien 6 und 9 mehr als zweimal).

In fast der Hälfte der Proben (89/180 Proben), verteilt über alle Szenarien, konnte ein Überträger-DNA-Profil (Person Y, Abbildung 6 in Kap. 2.1.2.2) bestimmt werden (Tabelle 13). Dabei

handelte es sich 47mal um ein Vollprofil und 42mal um ein Teilprofil. Bei den Proben mit Vollprofilen gab es zu knapp vier Fünftel eine Dominanz des Überträgers. Bei den Proben mit Teilprofilen konnte diese Dominanz in der Hälfte der 42 Fälle gesehen werden (Hauptkomponente).

Tabelle 13: Ergebnisse der Szenarien in Bezug auf DNA-Profile von Spender und Überträger (18 Proben pro Szenario) nach dem tertiären Übertragungsweg (in Klammern die Prozentangaben), dabei die Unterscheidung mit und ohne Handschuh (HS). Die Profile sind aufgeteilt in Vollprofil (VP) und Teilprofil (TP). Ergebnisse mit über 50% erreichten Profilen sind fett markiert

Ohne HS	DNA-Profil Spender	DNA-Profil Überträger	Mit HS	DNA-Profil Spender	DNA-Profil Überträger
1	1 VP (5.6%) 2 TP (11.1%)	2 VP (11.1%) 2 TP (11.1%)	**6**	1 VP (5.6%) 5 TP (2.8%)	2 VP (11.1%) 0 TP (0%)
2	0 VP (0%) 3 TP (16.7%)	4 VP (22.2%) 4 TP (22.2%)	**7**	1 VP (5.6%) 5 TP (27.8%)	0 VP (0%) 6 TP (33.3%)
3	0 VP (0%) 3 TP (16.7%)	6 VP (33.3%) 3 TP (16.7%)	**8**	2 VP (11.1%) 4 TP (22.2%)	5 VP (27.8%) 6 TP (33.3%)
4	4 VP (22.2%) 7 TP (38.9%)	7 VP (38.9%) 7 TP (38.9%)	**9**	2 VP (11.1%) 4 TP (22.2%)	0 VP (0%) 1 TP (5.6%)
5	4 VP (22.2%) **9 TP (50.0%)**	**13 VP (72.2%)** 3 TP (16.7%)	**10**	6 VP (33.3%) **9 TP (50.0%)**	8 VP (44.4%) **7 TP (55.6%)**

3.2.3.2 Plastik als finales Akzeptor-Material – Szenarien 1-3 und 6-8

Bei den insgesamt sechs Untersuchungsdurchgängen an Plastikbeuteln mit insgesamt 108 Proben, konnten in knapp einem Viertel der Proben Voll- oder Teilprofile des Spenders nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich fünfmal ein Vollprofil und 22mal ein Teilprofil des Spenders nachgewiesen werden (Tabelle 13). Für den Überträger wurden in fast 40% der Proben Voll- oder Teilprofile generiert, wobei das Verhältnis von Vollprofil (19mal) zu Teilprofil (21mal) nahezu 1:1 ist.

Beim Überträger fand sich eine mehr als doppelt so hohe Ausbeute an für eine Zuordnung ausreichender DNA, wenn die Plastikfolie eine Stunde in der Hosentasche des Überträgers gewesen war, im Gegensatz zur DNA-freien Plastikfolie, unabhängig davon, ob Handschuhe benutzt wurden oder nicht. Auf die Spender-DNA hatte diese unterschiedliche Handhabung keine Auswirkung.

3.2.3.3 Baumwolle als finales Akzeptor-Material – Szenarien 4, 5, 9 und 10

Bei Baumwolle als finalem Akzeptor konnten insgesamt viel mehr DNA-Vollprofile detektiert werden, unabhängig davon ob es sich hierbei um die Spender- oder die Überträger-DNA handelte. Ein komplettes Spender-DNA-Profil konnte in 22% und ein Teilprofil in 40% der Fälle erreicht werden. Überträger-DNA-Profile fanden sich insgesamt 49mal, davon 28 Voll- und 21 Teilprofile. Die meisten Profile waren dabei in den Szenarien fünf und zehn zu finden, in denen vor Übertragung bereits ein Handabdruck des Überträgers auf dem finalen Akzeptorgegenstand angefertigt worden war. Dementsprechend wurden in diesem Szenario insgesamt 21 der 28 Vollprofile des Überträgers und 18 der 29 Teilprofile des Spenders nachgewiesen.

3.2.3.4 Überträgerhand mit oder ohne Handschuh

Unabhängig vom Akzeptor-Material war die Ausbeute an Überträger-DNA beim Benutzen von Handschuhen geringer. Ohne Handschuhe konnten insgesamt 51 Voll-/Teilprofile generiert werden, mit Handschuhen waren es nur noch 39 Profile (Tabelle 13). Dabei nahm vor allem die Anzahl an Vollprofilen um über die Hälfte ab und die Anzahl der Teilprofile stieg um 40%.

Wenige Unterschiede gab es bei den Szenarien mit DNA-freien Plastiktüten (Szenarien 1 und 6 – Tabelle 3 in Kap. 2.1.2.2), während die DNA-Ausbeute bei den Szenarien mit DNA-freien Stofftüchern (Szenarien 4 und 9 – Tabelle 3 in Kap. 2.1.2.2) bei der Verwendung von Handschuhen deutlich geringer ausfiel (80% der Proben mit Überträger-DNA in Szenario 4, weniger als 6% in Szenario 9 – Tabelle 13 in Kap. 2.3.2.1). Lediglich in Szenario 3 und 8 kam es zu einer leichten Erhöhung der Gesamtprofilzahl durch das vermehrte Auftreten von Teilprofilen (von neun auf elf).

Die Ausbeute der Spender-DNA nahm beim Benutzen von Handschuhen um knapp 20% zu (von 33 auf 39 Profile), wobei sich sowohl die Anzahl der Voll- als auch die der Teilprofile um jeweils drei erhöhte.

Die Übertragung der Spender-Hautzellen auf Plastik war in allen diesbezüglichen Szenarien durch Handschuhe doppelt so hoch wie ohne, allerdings war dies hauptsächlich auf Teilprofile bezogen (acht TP zu 14 TP). Die Gesamtanzahl der Vollprofile vervierfachte sich bei den ersten drei Durchgängen (7,4% Vollprofile mit Handschuhen statt 1,9% ohne Handschuhe). Bei den je zwei Durchgängen mit Stoff veränderte sich die Gesamtanzahl an Vollprofilen nicht.

3.2.4 Unterschied zwischen DNA-freien und DNA-haltigen Gegenständen

In den Versuchsreihen mit DNA-freien Plastiktüten (Szenarien 1 und 6) im Vergleich mit den Plastiktüten mit DNA des Überträgers (Szenarien 2, 3, 7, 8) war die Profilausbeute für den Überträger wie zu erwarten bei letzteren größer, sowohl Teil- als auch Vollprofil-Anzahl erhöhten sich. Lediglich in Szenario 7 kam es zu einem nur kleinen Abfall der Vollprofile zu Gunsten der Teilprofile. Das Verhältnis der Profilanzahl von Spender zu Überträger verändert sich von 1:1 zu 1:3, dies allerdings nur für die Durchgänge ohne Handschuhe. Bei den DNA-Profilen des Spenders blieb die Verteilung der Profilanzahl nahezu gleich, also unbeeinflusst von der Überträger-DNA. Lediglich bei Szenario 2 und 3 reduzierte sich die Vollprofilanzahl zu Gunsten der Teilprofile.

Bei Verwendung von Stoff (Szenarien 4, 5, 9 und 10) erhöhte sich ebenfalls die Gesamtprofilzahl beim Überträger wie auch beim Spender um mehr als das Doppelte. Ohne Handschuhe stiegen die Vollprofile (hauptsächlich des Überträgers) auf fast das Doppelte an, mit Handschuhen stiegen auch die Teilprofile um ca. 50%. In Bezug auf die Spender-DNA-Profile wuchs die Gesamtprofilzahl um über 60%. Ohne Handschuhe wurden 11% mehr Teilprofile nachgewiesen, mit Handschuhen stieg die Anzahl der Vollprofile auf das Dreifache und die der Teilprofile auf über das Doppelte.

Zusammenfassend kann festgehalten werden:

- eine Übertragung eines Spenderprofils ist möglich
- Saugfähige Medien (Stoff) führen zu einer höheren Ausbeute als Plastik
- Handschuhe vermeiden nicht unbedingt die Übertragung der Träger-DNA (Überträgers)

4 Diskussion

4.1 Methodik

In der rechtsmedizinischen Praxis spielt die STR-Analyse nicht nur in der Abstammungsbegutachtung eine große Rolle, sondern auch bei der Tatortarbeit. Kleinste Spuren, wie Hautschuppen oder ein daktyloskopisch nicht verwertbarer Fingerabdruck, können genügend Material enthalten, um von der Spur auf den Spurenleger zu schließen. Daher gibt es in der DNA-Analyse immer genauere und empfindlichere Nachweismethoden, um einer Spur erfolgreich nachzugehen (Dettmeyer et al. 2014). Allerdings sind diese Methoden aufgrund ihrer Sensitivität mit entsprechendem Fehlerpotential behaftet. Bei der Vervielfältigung kleinster DNA-Mengen (low copy number DNA) kann es vermehrt zu Artefakten wie drop-ins, drop-outs und Stotterbanden kommen, ebenso ist die Kontaminationsgefahr erhöht (Butler 2005, Butler 2011, Dettmeyer et al.

2014). Entsprechend ist es für den forensischen Genetiker besonders wichtig, diese Fehlermöglichkeiten in seine eigene Auswertung mit einzubeziehen und keiner Fehlinterpretation zu unterliegen.

Das für die STR-Amplifikation in dieser Studie ausschließlich verwendete Kit PowerPlex® ESX 17 Fast ist laut Hersteller sehr sensitiv für materialarme Spuren (epitheliale Abriebspuren/ Kontaktspuren) (Sprecher et al. 2009, Hill et al. 2011, Tucker et al. 2012, McLaren et al. 2014, Promega 2014). Da er alle für die Datenbank des Bundeskriminalamtes erforderlichen STRs amplifiziert, wird er seit Jahren im Institut für Rechtsmedizin in Essen routinemäßig für die Spurenanalyse eingesetzt. Das PowerPlex® ESX 17 Fast System bietet schnellere Zyklusversionen (50 Minuten oder weniger) und ist neben den Amplifikationen von gereinigten DNA-Proben auch für direkte Amplifikationen von Blut- und Mundschleimhautproben geeignet. Neben der hohen Sensitivität ist das Kit auch relativ unempfindlich gegenüber zu hohen Mengen an Input-DNA. Zudem besteht eine Toleranz gegenüber PCR-Inhibitoren und gegen Abweichungen in der Endkonzentration von Pufferionen und Primern bei möglichen Pipettierfehlern.

Im Vergleich zu den Vorgängern, z.B. dem Powerplex® ESX 17 und ESI 17, erhält man mit dem Powerplex® ESX 17 Fast ein besseres DNA-Profil bei degradierter DNA (Kapitel 1.6), ebenso zeigt sich der ESX 17 Fast robuster gegenüber Inhibitoren (Kapitel 1.6). Insgesamt zeigt sich auch eine Stabilisierung des DNA Profils unabhängig von der eingesetzten Menge. Vorgänger-Kits wiesen eine Vielzahl an drop-ins oder drop-outs bei geringerer DNA-Menge als 50 pg auf, aber auch eine größere DNA Menge von über 0,3 ng machte Schwierigkeiten bei der Auswertung (Poetsch et al. 2011a, Poetsch et al. 2011b).

Für die bessere Vergleichbarkeit der Daten dieser Studie mit den für Routineproben erhobenen Daten wurde daher hier auf die Amplifikation mit anderen Kits verzichtet.

Insgesamt wurde auf eine unmittelbare Weiterverarbeitung der erzielten Proben geachtet, damit es zu keinem Verlust an DNA-Menge kommen konnte, wie sie bereits nach 24h an Stoffstücken auftreten kann (Goray et al. 2010b) Ebenso wurde auf eine gleichmäßige Umgebungstemperatur ohne direktes Sonnenlicht geachtet (Raymond et al. 2009), indem in klimatisierten Laborräumen ohne direkte Sonneneinstrahlung gearbeitet wurde, da diese Parameter ebenfalls einen negativen Einfluss auf die gewonnene DNA-Menge haben können.

Bei der Gewinnung der DNA mittels Abkleben oder Abreiben, ebenso wie in der weiteren Extraktion und Amplifikation wurde auf ein sauberes DNA-freies Arbeiten geachtet, es wurden Handschuhe gewechselt, diese wie auch die Oberflächen regelmäßig mit 70%igem Alkohol gereinigt, damit es zu keiner Kontamination kommen konnte. Bereits Rutty et al. (2000) und später

noch Fonnelop et al. (2015) beschrieben mögliche Kontaminationswege in der täglichen Routine, sodass die entsprechenden Arbeitsschritte weiter verbessert und kontrolliert werden konnten.

4.1.1 Quantifizierungsergebnisse

Die Quantifizierung des DNA-Gehalts insbesondere von Spurenproben hat in den letzten Jahren einen wesentlichen Stellenwert in der forensischen Genetik erlangt.

Anfänglich wurde über die Messung der optischen Dichte (OD) bei einer Wellenlänge von 260 nm die DNA-Konzentration bestimmt. Eine mögliche Kontamination mit Proteinen konnte hierbei durch das Verhältnis der OD bei 260 nm und 280 nm bestimmt werden (Mülhardt 2009, Madea and Brinkmann 2014). Weiterhin wurde das Agarosegel zur Quantifizierung genutzt, indem Bandenintensitäten der Probe mit einer mitgeführten Verdünnungsreihe bekannter Konzentrationen verglichen wurden (Mülhardt 2009). Später wurde die DNA-Konzentration mittels einer sensitiveren Methode, dem Slot-Blot-Verfahrens quantifiziert. Die in den Proben enthaltene DNA wurde dabei auf Nylonmembranen immobilisiert und mit spezifischen Sonden hybridisiert (Waye et al. 1989, Walsh et al. 1992). Anfangs waren die eingesetzten Sonden radioaktiv, später konnten auch nicht-radioaktive Detektierungsverfahren (z.B. Biotinylierung) eingesetzt werden (Waye et al. 1989).

Insgesamt eigneten sich jedoch weder die Photometrie, noch das Agarosegel mit Detektionslimits von 10 ng oder das Slot-Blot-Verfahren mit einem Limit von 100 pg für die forensische Genetik (Madea and Brinkmann 2014).

Erst die jüngste quantitative Methode der Bioanalytik, die Real-Time PCR, mit einem Detektionslimit zwischen 1 pg und 5 pg, eignet sich hervorragend für Proben aus der forensischen Genetik, die oftmals Konzentrationen von 10 bis 100 pg/µl aufweisen (Madea and Brinkmann 2014). Damit spart dieses Verfahren nicht nur Zeit und Kosten, sondern benötigt geringe Mengen von dem meist nur knapp vorhandenen Spurenmaterial.

In der vorliegenden Studie wurden vier Real-Time PCR Kits verwendet (Kapitel 2.6.3, Tabelle 5), drei dieser vier Kits erbrachten zuverlässige Quantifizierungsergebnisse innerhalb des o.g. Konzentrationsbereichs (Poetsch et al. 2016). Das vierte Kit konnte in den analysierten artifiziellen Proben dieser Anforderung nicht gerecht werden. Es wurden 2 µl der Probe für die Real-Time PCR Reaktion eingesetzt, sodass bei allen Proben genügend Probematerial für eine STR-Analyse und notwendige Wiederholungen wie auch zur Archivierung zurückblieben. Die Archivierung spielt insbesondere im rechtsmedizinischen Alltag eine wichtige Rolle. Wenn sich nach Jahren aufgrund

neuer Hinweise/Erkenntnisse Änderungen in einer Strafsache ergeben, können weitere Analysen durchgeführt werden oder Untersuchungen wiederholt werden. Daher stellen „sparsame Methoden“ einen wichtigen Faktor in der forensischen molekulargenetischen Routine dar. Die Real-Time PCR ist somit nicht nur die sensitivste quantitative Methode, sondern auch die sparsamste, und unerlässlich in der forensischen Genetik. Der Kostenpunkt stellt ein kleines Manko der Methode der Wahl dar. Die Real-Time PCR ist deutlich kostenintensiver als andere Methoden zur Quantifizierung. Allerdings minimieren zuverlässige Quantifizierungsergebnisse die Wiederholungsraten bei STR-Analysen und sparen damit Geld und Zeit.

Routinemäßig wird in forensischen Labors häufig die Prüfung auf Quantität vor der Qualitätsprüfung von DNA Spuren durchgeführt. Wenn das quantitative Ergebnis unter 10 pg/µl liegt, gilt es als negativ und eine STR-Analyse findet in vielen Labors nicht mehr statt. Bei dieser experimentellen Reihe konnte jedoch – wie auch in der Literatur beschrieben – gezeigt werden, dass auch bei Quantifizierungsergebnissen unter 10 pg/µl DNA aus vielen Proben noch ein Vollprofil erstellt werden konnte (Cupples et al. 2009, Thomas et al. 2013, Poetsch et al. 2016). Eine Überschätzung der DNA-Konzentrationen kam dagegen seltener vor (Poetsch et al. 2016). Diese Unzuverlässigkeit lässt keinen eindeutigen Rückschluss von der gemessenen DNA-Konzentration zur Erfolgswahrscheinlichkeit der STR-Analyse zu. Da in dieser Studie jedoch alle Proben unabhängig von der gemessenen Konzentration in der Amplifikation eingesetzt wurden, haben die inhomogenen Ergebnisse der Real-Time-PCR keinen Einfluss auf die schlussendlich erzielten STR-Ergebnisse.

4.1.2 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Wiederholungsuntersuchungen werden in der Routine immer bei Mischspuren durchgeführt, wenn die Ergebnisse im stochastischen Bereich liegen, sodass die Zuverlässigkeit der Ergebnisse sichergestellt werden kann. Bei den artifiziellen Szenarien dieser Studie war mit Mischspuren zu rechnen, entsprechend wurde eine Wiederholung der Ergebnisse beim Übertragungsversuch durchgeführt.

Bei der getragenen Kleidung bzw. der Kleidung aus dem Kleiderschrank wurde keine Wiederholung vorgenommen, da hier durch die unterschiedlichen Alltagssituationen keine exakte Wiederholung ein und desselben Szenarios möglich war. Vielmehr ging es in dieser Untersuchung um das Generieren von Daten über das Ausmaß von möglichen DNA-Antragungen an Kleidung. Zum einen lassen sich an getragener Kleidung durch die natürliche Regeneration der Haut reichlich Hautschuppen des Trägers nachweisen (Blackie et al. 2016). Zum anderen kann Fremd-DNA durch

verschiedene Übertragungswege (primär, sekundär) an die Kleidung gelangen, was bereits in anderen Studien durch Übertragungsversuche u.a. an Stoffen nachgewiesen wurde (van Oorschot et al. 2010, Meakin and Jamieson 2013, Fonnelop et al. 2015). Lowe et al. (2002), sowie Phipps und Petricevic (2007) haben darüber hinaus gezeigt, dass jedes Individuum DNA hinterlässt, dass es jedoch individuelle Unterschiede in der Übertragungsrate gibt, sie sprechen dabei von „shedder Status“. Phipps und Petricevic. konnten darüber hinaus feststellen, dass es nicht den „good shedder-Status“ für eine Person gibt, da sie auch intraindividuelle, tagesabhängige Unterschiede bei ihren Probanden feststellen konnten. Dies steht im Widerspruch zu Rutty et al. (2000), die von einer 45%igen good-shedder-Population ausgingen. Für die Vergleichbarkeit der einzelnen Proben wurde bei beiden Untersuchungen auf einen weitgehend standardisierten Versuchsaufbau geachtet, der routinemäßig in der forensischen Molekulargenetik bei der Probenbearbeitung zum Tragen kommt. Unter anderem wurde in unterschiedlichen Studien gezeigt, dass die angewandte „tape-lifting Methode“, das Abkleben der Kleidung zur DNA-Gewinnung, als erfolgreichste Methode bei Bearbeitung von Hautkontaktspuren angesehen werden kann (Hansson et al. 2009, Barash et al. 2010, Verdon et al. 2014).

4.2 Untersuchung an Kleidung

4.2.1 DNA-Antragungen an getragener Kleidung

Kleidungsstücke aller Art sind ein sehr häufiges Untersuchungsgut in der forensischen Spurenanalytik, sowohl für die Analyse von hinterlassenen Blut-, Sperma- oder Speichelantragungen als auch für die Untersuchung von Epithelzellanhaftungen. Dabei ist bekannt, dass sich an getragener Kleidung die DNA des Trägers befindet (van Oorschot et al. 2010, Meakin and Jamieson 2013, Fonnelop et al. 2015), wobei die Wahrscheinlichkeit, ein vollständiges Profil zu erhalten, mit längerer Dauer des Tragens, aufgrund der damit verbunden Reibungsintensität, immer größer wird (Stouder et al. 2001, Daly et al. 2012, Lehmann et al. 2013). Zum einen zeigt sich dies in der täglichen Routine der Spurenanalytik, zum anderen konnte in einer Untersuchung von Bettwäsche der Besitzer des Bettes durch seine längere Benutzung gegenüber einem eintägigen Übernachtungsgast unterschieden werden (Petricevic et al. 2006). Darüber hinaus konnte häufig nachgewiesen werden, dass durch Berührung der Kleidung durch weitere Personen (Umarmen, Kampfgeschehen) ebenfalls DNA übertragen wird (Wickenheiser 2002, Tokutomi et al. 2009, Meakin and Jamieson 2013, Brayley-Morris et al. 2015, Goray and van Oorschot 2015, Blackie et al. 2016, Breathnach et al. 2016, Jones et al. 2016, Mapes et al. 2016a, Mapes et al. 2016b, van den Berge et al. 2016). Entsprechend stellt sich in einer polizeilichen Ermittlung häufig die Frage, ob die an einem Kleidungsstück zusätzlich zum Träger festgestellte DNA nur in einem

Kampfgeschehen übertragen worden sein kann oder ob auch flüchtige Berührungen ausreichend DNA für eine molekulargenetische Analyse hinterlassen. Eine wesentliche Rolle spielt hierbei die analysierte Region der Kleidung. In 95% der im Rahmen dieser Studie untersuchten Kleidungsstücke fand sich an der getragenen Kleidung die DNA des Trägers, davon wiederum in 63% als eindeutiger Spurenverursacher und in 16% als Hauptkomponente (gemäß Definition in Kap. 2.8.5). Dieses Ergebnis bestätigt Daten anderer Studien, in denen die Untersuchung von Unterwäsche (Brayley-Morris et al. 2015, Breathnach et al. 2016), Alltagsgegenständen (van den Berge et al. 2016), Kleidung (Stouder et al. 2001) und Bettwäsche (Petricevic et al. 2006) gezeigt hat, dass der „Benutzer/Träger" daran zu finden ist. Andererseits wurde bei diesen Untersuchungen auch gezeigt, wie es zu Fremd-DNA an diesen Gegenständen kommen kann. Bei der DNA Übertragung unterscheidet man den direkten Weg, durch Anfassen/Berühren, vom indirekten Weg, dem Niesen, Husten oder Sprechen. Hinzu kommen die sog. sekundären und tertiären Übertragungswege, auf die später eingegangen wird.

Überträgt man das Wissen aus den bisherigen Studien auf die gegenständige Studie, wären Übertragungen an den Ärmeln durch Umarmungen oder Anfassen erklärbar, auch abhängig von der Händigkeit derjenigen (zu welcher Schulter sich hin umarmt wird). Ebenso wäre zu erwarten gewesen, dass man auf jeden Fall den Träger der Kleidung eindeutig erkennen kann und eventuell ein buntes Gemisch an Zusatzspuren findet, die man jedoch keiner genauen Person zuordnen kann.

Der Träger als Hauptkomponente findet sich in über 50% der insgesamt 17 Vollprofile am rechten Ärmel ebenso wie am linken Ärmel und in über 60% der 19 Vollprofile über der Brust, was mit der Fläche der Kleidungsregionen zusammenhängen könnte. Von den Familienmitgliedern wurden die insgesamt 24 Vollprofile (40% der insgesamt 60 Proben) relativ gleich verteilt gesehen und die 23 Teilprofile am häufigsten über der Brust gefunden, was an der Position der Arme beim Grüßen liegen könnte, da sie meist auf dem Rücken des Gegenübers platziert werden. Die Brustregion könnte auch hier aufgrund ihrer Fläche die höhere Ausbeute aufweisen. Beim Benutzen gleicher Alltagsgegenstände kann DNA von Familienmitgliedern an den Träger des Kleidungsstücks übertragen werden. Die Nähe, Dauer und genetische Abstammung zu Familienmitgliedern macht die Ausbeute insgesamt hoch. Es sind somit nicht nur bei Ehepartnern die körperliche Nähe und der lange Zeitraum, den man miteinander auf begrenztem Raum verbringt, als Faktoren zu nennen, sondern darüber hinaus in den Familien die genetische Abstammung der Kinder. Sobald beide Elternteile in einer Mischspur zu erkennen sind, sind automatisch alle (biologischen) Kinder dieser Familie in der entsprechenden Spur zu sehen. Eine signifikante Expositionsregion an der Kleidung konnte nicht ausgemacht werden, was vermutlich mit der „Omnipräsenz" der „Familien-DNA" in der Häuslichkeit zusammenhängt. Insgesamt fand sich wenig „Fremd-DNA", also von „Nicht-Familienmitgliedern". Das könnte zum einen an einer insgesamt geringen Exposition gegenüber

anderen Personen oder an der Dauer der Exposition liegen. Maximal drei Personen konnten nur vereinzelt, hauptsächlich bei Kindern, die in die Schule gehen, und bei zweitägig getragener Kleidung ausgemacht werden.

Die Frage nach dem Träger des Kleidungsstücks konnte in 75% der insgesamt 20 Fälle dieser Studie richtig beantwortet werden. Viermal konnte die Zuordnung des Mischprofils nicht eindeutig zwischen zwei Personen getroffen werden, und es gab einmal ein falsches positives Ergebnis, also das Vollprofil einer anderen Person als dem eigentlichen Träger. Der eigentliche Träger (Jugendlicher) hatte hierbei zweimal kein Profil und ein Teilprofil im Mischprofil von weiteren Teilprofilen der Familienmitglieder. Dies kann damit zusammenhängen, dass dieser Jugendliche nicht sofort sein getragenes Oberteil in die Asservierungstüte eingepackt hat, sondern vorher wieder mit nicht getragenen Kleidungsstücken zusammengebracht hat, woraufhin es beim anschließenden Einpacken eventuell zu einer Verwechslung gekommen ist. Hier sollte zur besseren Kontrolle der Probanden eine eigene Abnahme/Herausnahme/Eintütung der Kleidung durch die Untersucher erfolgen.

Insgesamt decken sich jedoch diese Ergebnisse mit den Untersuchungsergebnissen an getragenen Unterhosen bzw. den angefassten Unterhosenbündchen, die durch Breathnach et al. (2016) untersucht wurden. Sie konnten in 86,66% der Fälle den Träger als Einzel- oder Teilprofil eines Mischprofils ermitteln. In 10% ihrer Fälle (drei Proben derselben Unterhose) wurde als Hauptspur Fremd-DNA gefunden.

Die Ergebnisse des gegenständigen Studienteils legen nahe, dass an getragener Kleidung (unter normalen Umständen) neben der DNA des Trägers fast ausschließlich die DNA von Familienmitgliedern oder engen Freunden zu finden ist. Die Antragung von größeren Mengen DNA von fremden Personen muss also durch besondere Umstände (z.B. einen Angriff) erklärt werden und nicht durch eine flüchtige Begegnung.

4.2.2 DNA-Antragungen an Kleidung aus dem Kleiderschrank

In der Untersuchung von Kamphausen et al. (2015) wurde bereits gezeigt, dass an frisch gewaschener Wäsche keine DNA bzw. nicht ausreichend DNA für eine eindeutige Zuordnung zu einer Person nachgewiesen werden kann. In dieser Studie sollte daher die Frage beantwortet werden, ob durch „haushaltsübliches Handling“ von Kleidungsstücken, also Aufhängen zum Trocknen, Bügeln, Zusammenlegen und Wegsortieren in den Kleiderschrank, DNA in ausreichender Menge und Qualität für eine Zuordnung zu einer Person übertragen werden kann

oder ob der „Aufenthalt“ im „eigenen“ Kleiderschrank(-Bereich) die Zuordnung zum Besitzer zulässt.

Eine eindeutige Zuordnung der Kleiderschrankwäsche in dieser Studie gelang zu 50%, wobei es sich hauptsächlich um den „Wäscher“ oder „Bügler“, der gleichzeitig Besitzer war, handelte (acht der 20 Kleidungsstücke). Mitberücksichtigen sollte man jedoch auch den Umgang mit der Kleidung, der sich bei Kindern häufig anders verhält als bei Erwachsenen. Von den entsprechenden Eltern wurde beschrieben, dass ihre Kinder/Jugendlichen gerne mal ein Wäschestück direkt aus einem Wäschestapel ziehen und anschließend sämtliche herausgefallenen Kleidungsstücke unordentlich in den Schrank zurücklegen. Getragene Kleidung mag zunächst in den Schrank zurückgelangen und erst später in den Wäschekorb geworfen werden. Eventuell wird auch Verschiedenes angezogen, bevor man sich für ein Kleidungsstück für den Tag entscheidet. Dies wären Gründe, weshalb entsprechende DNA-Profile dieser Personen an der gewaschenen Kleidung zu finden sind, obwohl sie nicht in den „post-Waschmaschinen-Weg“ involviert sind. Selten kommt es dazu, dass das Kind der Familie sich beim Wäschemachen behilflich zeigt. In diesem speziellen Fall war es daraufhin prompt als Vollprofil zu sehen (4A).

Insgesamt konnten relativ viele Teilprofile sowohl von den Besitzern (25mal) als auch von den Familienmitgliedern (26mal) gefunden werden, wobei letztere eher über dem linken Ärmel zu finden waren. Bei den Besitzern war die Verteilung über der Kleidung relativ gleich. Vollprofile konnten dagegen hauptsächlich über der Brustregion gefunden werden (elfmal Besitzer, 17mal Familienmitglied). Eine Erklärung wäre hier das hauptsächliche Anfassen beim Wäsche aufhängen und zusammenlegen an der Brustregion und deren Größe (abhängig von der Kleidergröße). Die Exposition des linken Ärmels kann nicht erklärt werden.

Sollen also im Rahmen einer polizeilichen Ermittlung DNA-Antragungen an Kleidung aus dem Kleiderschrank analysiert werden, ist es wichtig zu wissen, wer die Wäsche im Haushalt macht und wie viele Familienmitglieder es gibt, damit entsprechende Vergleichsproben ebenfalls untersucht werden.

Deutlich schwieriger wird die Zuordnung in einem Zwei-Personen-Haushalt, wenn die Tätigkeiten aufgeteilt werden. Hier findet sich meist die DNA beider Haushaltsangehöriger an den Kleidungsstücken, sodass keine eindeutige Aussage zum Besitzer gegeben werden kann.

Auffällig war, dass sich mit der Anzahl der Familienmitglieder die Vollprofile zu Gunsten der Teilprofile verschieben. Allerdings sind die Ergebnisse dieser Studie bei dem kleinen Kollektiv von je 20 Proben pro Kleidungsareal nicht als signifikant zu werten und müssten mit mehreren zu untersuchenden Großfamilien verglichen werden.

Überraschenderweise wurden fremde Allele häufiger an Kleidungsstücken aus dem Kleiderschrank (72%) als an getragener Kleidung (40%) nachgewiesen. Im Gegensatz zu getragener Kleidung findet sich in fast allen Kleidungsregionen Fremd-DNA, jedoch nur von maximal zwei Personen. Als Erklärung bietet sich hier eine Kombination aus Kontamination durch bereits getragene Kleidung, die wieder in den Kleiderschrank zurückgelegt wurde, und der Existenz von PCR-Artefakten („drop-in“, Stotterbanden) durch eine insgesamt sehr geringe DNA-Menge an Kleiderschrankkleidung (low copy number DNA) an. In der STR-Analyse können die sog. low copy number DNA-Proben typische Phänomene wie Stotterpeaks bei Fehlreaktion der Polymerase während der PCR (Walsh et al. 1996) oder drop-ins bei sporadischen Kontaminationen von DNA-Extrakten oder PCR-Reagenzien aufweisen (Butler 2005).

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieses Studienteils, dass durch das Handling von gewaschener Kleidung ausreichend DNA für ein Vollprofil übertragen werden kann. Für die Ermittlung in z.B. einem Sexualdelikt im Familienumfeld bedeutet dies, dass die DNA eines mutmaßlichen Täters nicht unbedingt im Rahmen eines Deliktes an die Kleidung gekommen sein muss. Allerdings sollte hier auf jeden Fall die Gesamtmenge der nachgewiesenen DNA in die Betrachtung einbezogen werden, da durch Waschen, Zusammenlegen und/oder Bügeln offensichtlich weniger DNA übertragen wird als durch festes Anfassen.

4.3 Tertiärer DNA-Transfer

Die Übertragung von DNA von einer Person an einen Gegenstand (primärer Transfer) oder von einem Gegenstand zu einem weiteren (sekundärer Transfer) ist bereits in vielen Studien nachgewiesen worden (Lowe et al. 2002, Goray et al. 2010a, Goray et al. 2010b, Daly et al. 2012, Goray et al. 2012, Schwark et al. 2012, Meakin and Jamieson 2013, Fonnelop et al. 2015, Goray and van Oorschot 2015, Kamphausen et al. 2015, Manoli et al. 2015, Szkuta et al. 2015). Dabei konnte gezeigt werden, dass sowohl Eigenschaften der Person, von der die DNA stammt (Lowe et al. 2002, Phipps and Petricevic 2007, Goray et al. 2010a, Kamphausen et al. 2012), als auch Eigenschaften des Materials/der Oberfläche des Gegenstandes eine wesentliche Rolle spielen (Goray et al. 2010b, Fonnelop et al. 2015, Szkuta et al. 2015). In dieser Studie sollte überprüft werden, ob es möglich ist, dass DNA von einer Person (Spender) an einem Gegenstand durch eine andere Person (Überträger) auf einen zweiten Gegenstand (Plastik, Stoff) übertragen werden kann, ohne dass die beiden Gegenstände sich berühren (tertiärer Transfer). Die Studie wurde so angelegt, dass ihre Ergebnisse eine Beurteilung von häufig bei Gericht vorgebrachten Vorstellungen zur Herkunft von DNA an einem Tatort-relevanten Gegenstand erlauben. Ein typisches Beispiel könnte folgendermaßen aussehen: Am Stiel eines im Rahmen eines Einbruchdiebstals in ein

Juweliergeschäft verwendeten Hammers findet sich die DNA des Angeklagten. Dieser bestreitet jedoch, dass es sich dabei um seinen Hammer handelt. Vielmehr hätte er das Juweliergeschäft tagsüber vor der Tat besucht und dabei durch Berühren der Vitrinen seine DNA hinterlassen. Der tatsächliche Täter hätte dann ebenfalls an den Stellen die Vitrinen und anschließend den Hammerstil angefasst (um damit die Vitrinen zu zerstören). Dabei wäre die DNA des Angeklagten durch den tatsächlichen Täter auf den Hammerstiel übertragen worden.

Da ein DNA-Transport auf die oben beschriebene Weise in 40% der bei den unterschiedlichen experimentellen Szenarien entstandenen insgesamt 180 Proben nachgewiesen werden konnte, kann diese Frage positiv beantwortet werden. Es konnte in dieser Studie eindeutig belegt werden, dass eine Person nicht einen Gegenstand anfassen muss, um DNA an ihm zu hinterlassen und dass der Gegenstand auch nicht mit einem von der Person berührten weiteren Gegenstand in Kontakt kommen muss. Für die Beurteilung von Mischspuren ist zudem von Interesse, dass es bei einem solchen Übertragungsweg nicht nur in knapp 30% der Fälle vollständige DNA-Profile der ersten Person nachgewiesen werden konnten, sondern sie sich teilweise auch als dominanter Spurenleger darstellte (11%).

4.3.1 Einfluss des verwendeten Materials

Die unterschiedlichen Ergebnisse bei der Verwendung von Plastik oder Stoff lassen sich auf unterschiedliche Oberflächeneigenschaften zurückführen, die in der Literatur bereits mehrfach beschrieben wurden (Goray et al. 2010a, Fonnelop et al. 2015, Szkuta et al. 2015). Plastik gilt aufgrund seiner schlecht absorbierenden Oberfläche als schwaches Akzeptor-Material, was sich auch in dieser Studie zeigte. Während sich bei Baumwolle insgesamt 62,5% Spender- und 68% Überträger-Profile finden ließen, waren es bei Plastik nur 25% Spender- und 37% Überträger-Profile. Unter bestimmten Bedingungen lässt sich allerdings auch an Plastik eine hohe Menge an DNA antragen, wenn statt Hautzellen z.B. flüssige Spuren wie Blut oder Speichel verwendet werden (Wiegand et al. 2011) oder der Gegenstand aus Plastik mit einer Stelle mit sehr hohem DNA-Gehalt in Berührung kommt (Phipps and Petricevic 2007, Goray et al. 2010a, Verdon et al. 2013). In dieser Studie wurde dazu das Tragen der Plastiktüte in der Hosentasche des Überträgers ausgewählt, das in einer doppelt so hohen Ausbeute von Überträger-DNA im Gegensatz zur DNA-freien Plastikfolie resultierte. Die Dauer der Exposition ist dabei vernachlässigbar, da schon Fonnelop et al. (2015) und van Oorschot und Jones (1997) zeigten, dass der DNA-Transfer nicht von der Zeitdauer der Handhabung oder Exposition abhängt, denn ein Transfer konnte bereits nach wenigen Sekunden festgestellt werden.

Stoff gilt im Vergleich zu Plastik als saugfähiger und damit „DNA-affiner“ als Plastik (Goray et al. 2010a, Goray et al. 2010b, Daly et al. 2012, Fonnelop et al. 2015, Szkuta et al. 2015), was auch in dieser Studie belegt werden konnte. Wie bereits unter anderem von Goray et al. (2010 b) gezeigt, nimmt Stoff die DNA nicht nur besser auf, sondern gibt sie auch leichter wieder ab als Plastik. Entsprechend konnte auch in dieser Studie gezeigt werden, dass nicht nur bei den Überträgern die Anzahl der Voll-/Teilprofile um 100% gegenüber der Plastikfolie anstieg, sondern auch die Spender-DNA-Profile – wenn auch in geringerem Umfang – zunahmen. Sicherlich könnte dieses Phänomen aufgrund der geringen Anzahl an Experimenten als Zufallsereignis gedeutet werden, allerdings ließ sich dieser Trend für jede Wiederholung der Szenarien in jedem individuellen Paar dokumentieren. Ein Spender stellte dabei eine Ausnahme dar und war dreimal als „kein Profil“ und einmal als Vollprofil zu werten.

Ein weiteres Szenario mit erhöhtem DNA-Gehalt stellten die Stoffstücke mit zusätzlichem Handabrieb des Überträgers dar. Hier wurde erwartet, dass der Überträger deutlich häufiger zu finden ist und eventuell der Spender seltener. Entsprechend fand sich in 86% der Fälle DNA des Überträgers als Voll- oder Teilprofil (im Vergleich zu 42% im anderen Stoffszenario). Allerdings konnte in 78% der Fälle auch Spender-DNA nachgewiesen werden (hauptsächlich als Teilprofile), jedoch nur einmal als Hauptkomponente. Dieses zusätzliche Antragen von DNA ohne vorherige zu „überschreiben“ wurde auch schon in anderen Studien beschrieben, wobei der letzte „Anwender“ nicht immer der prominenteste war (van Oorschot and Jones 1997, Lehmann et al. 2015, Buckingham et al. 2016, Poetsch et al. 2017). Buckingham et al. (2016) untersuchten einen Messergriff, der von insgesamt vier Personen nacheinander angefasst wurde. Des Weiteren wurde nach der Messergriffberührung von den Personen jeweils ein Handabdruck der linken (ohne Messergriffberührung) und der rechten (mit Messergriffberührung) Hand auf einer Glasplatte abgenommen, wobei die rechte Hand noch weitere fünfmal auf weitere Glasplatten drückt wurden. Als Ergebnis wurde herausgestellt, dass die letzten Anwender (die den Messergriff angefasst hatten) überwiegend prominenter als die vorangegangenen Anwender waren. Die Übertragungen auf die Glasplatte zeigten darüber hinaus, dass sich zum einen bereits Fremd-DNA an einer Hand befinden kann, die weiter übertragen wird (linker Handabdruck), zum anderen, dass Fremd-DNA von Gegenständen (dem Messer) aufgenommen und weiter übertragen wird, jedoch mit zunehmender Anzahl an Berührungen abnimmt (sechs rechte Handabdrücke). In Szenario 5 waren erster und zweiter „Anwender“ die gleiche Person, sodass diese Feststellungen erklären würden, warum vermehrt Überträger-DNA am Stoffstück gefunden wurde. Im Szenario 10 trug der Überträger Handschuhe, sodass auf indirektem Wege der Spender als „letzter Anwender“ angesehen werden dürfte, was die Erhöhung der Spender-DNA begründen könnte (um zwei

Vollprofile). Dies würde auch erklären, warum in Szenario 9 der Spender häufiger in Erscheinung tritt als der Überträger (im Verhältnis 6:1).

4.3.2 Einfluss der Handschuhe

Die Möglichkeit des tertiären Übertragungsweges wurde schon in anderen Studien (Fonnelop et al. 2015, Szkuta et al. 2015) gezeigt, dabei war jedoch die Haut des Überträgers immer bedeckt (Handschuhe). In dieser Studie wurden alle experimentellen Szenarien sowohl mit als auch ohne Handschuhe durchgeführt, um eine möglichst „realistische“ tatortähnliche Situation darzustellen. Dabei fiel auf, dass zwar unabhängig vom verwendeten Material die Überträger-DNA-Profile bei der Verwendung von Handschuhen um über 90% zurückgingen, jedoch in keinem der Szenarien vollständig unterdrückt werden konnten. Diese geringe Anzahl an übertragenen Zellen könnte eventuell auf ein unvorsichtiges Arbeiten zurückzuführen sein, wenn Kleidung oder Haut des Überträgers mit der Außenseite des Handschuhs berührt wurden. Darüber hinaus kann es allein schon durch das Ziehen des Handschuhs aus dem Karton zur Antragung von DNA an die Außenseite des Handschuhs kommen.

Handschuhe sollten jedoch nicht nur den Überträger (Täter) schützen bzw. dessen DNA-Übertragung minimieren, sondern es sollte darüber hinaus die Frage beantwortet werden, ob durch sie die Menge an übertragener Spender-DNA erhöht werden kann. In dieser Studie war allerdings kein deutlicher Unterschied in den Spender-DNA Profilen zwischen den Szenarien mit und ohne Handschuhe nachweisbar. Lediglich bei Plastik konnte durch Benutzung von Handschuhen eine doppelt so hohe Ausbeute der Spender-DNA (Teilprofile) erzielt werden, wobei in der Gesamtschau die Aussagekraft der Profile immer noch weit hinter denen der Stoffabriebe lag. Diese Ergebnisse scheinen übereinstimmend mit denen von Szkuta et al. (2015) zu sein, die eine hohe DNA-Transferrate bei Benutzung von Handschuhen mit ihrer gummiartigen Beschaffenheit zeigen konnten. Das Material „Gummi“ lässt sich, entsprechend der bei Szkuta et al. (2015) beschriebenen Erkenntnisse, zwischen den zwei Materialien „Plastik“ und „Stoff“ einordnen, da es zum einen saugfähiger als Plastik ist und daher besser Material (DNA) von Plastik aufnimmt, jedoch weniger porös als Stoff und daher weniger gut an Stoff als an Plastik abgibt.

Bereits in der Vergangenheit haben sich einige Wissenschaftler mit dem Problem der Kontamination von spurenrelevanten Objekten bei der Routinearbeit befasst (Poy and van Oorschot 2006, Goray et al. 2010b), ein direkter Vergleich zwischen der Übertragung mit und ohne Handschuhen wurde dabei allerdings nicht geführt. In anderen Studien, die sich mit der sekundären Übertragung beschäftigt haben, wurden Untersuchungen mit „bloßen“ Händen durchgeführt. Dabei

wurden die Hände von Person A und B geschüttelt und anschließend wurde durch Person B ein Gegenstand wie ein Plastikgefäß (Lowe et al. 2002) oder ein Glas (Farmen et al. 2007) angefasst. Es stellte sich heraus, dass es keine Konstanz in der Weitergabe von DNA, sowohl der eigenen wie auch der von Dritten gibt. Bei kurz hintereinander erfolgten Kontakten kam es sogar zu Einzelprofilen der Person A, die den Gegenstand nicht berührt hatte. Bei Farmen et al. (2007) wurden Mischprofile erreicht, wobei Person B immer als dominant galt. Person B war bei Lowe et al. (2002) erst dann als dominant in einem Mischprofil zu sehen, wenn zwischen Händeschütteln und Gegenstandberührung eine halbe Stunde lag. Diese unterschiedlichen Ergebnisse können natürlich den unterschiedlichen Analysemethoden bzw. deren zunehmender Sensitivität geschuldet sein (im Zeitraum 2002 bis 2007), sie machen aber auch klar, dass man anhand der DNA-Profile nicht auf den erfolgten Kontakt (indirekt oder direkt) schließen kann.

4.3.3 Einfluss durch gewählte Spurenleger

Neben der unterschiedlichen Übertragbarkeit von DNA zwischen den verschiedenen Szenarien wurden auch Unterschiede innerhalb eines Szenarios zwischen den einzelnen Probanden gefunden. Darüber hinaus zeigen die Wiederholungen ein und derselben Konstellation, dass auch hier Unterschiede nachweisbar sind (Tabelle A3 im Anhang). Diese Art von Differenzen unter Probanden ist in der Literatur vielfach beschrieben worden (Raymond et al. , Lowe et al. 2002, Arismendi et al. 2004, Farmen et al. 2007, Phipps and Petricevic 2007, Daly et al. 2012), es wird hier von individuellen Unterschieden eines Spurenlegers gesprochen. Anfangs wurde durch Lowe et al. (2002) eine Einteilung in gute und schlechte Spurenleger vorgenommen, anhand der DNA-Profilqualität 15 Minuten nach dem Händewaschen. Später wurde durch Phipps und Petricevic (2007) von dieser strikten Einteilung Abstand genommen, sie sprachen von einer Vielzahl unterschiedlicher Einflussfaktoren. Unter anderem zeigten sie, dass allein die Händigkeit eines Probanden Einfluss auf die DNA-Menge nehmen kann, wie auch die Tagesform. In der vorliegenden Studie wurde daher in allen Versuchen auf einen mindestens einstündigen Abstand zum Händewaschen geachtet und auf das Arbeiten mit der „dominanten“ Hand.

Grundsätzlich werden die Einflussfaktoren auf den Spurenleger selbst in zwei Gruppen eingeteilt: extrinsische und intrinsische Faktoren (Alessandrini et al. 2003). Als extrinsische Faktoren gelten Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Umgang mit reizenden Substanzen oder entsprechende mechanische Belastung der Haut (Raymond et al. 2009, Goray et al. 2010b). Unter intrinsischen Faktoren werden im Wesentlichen die „Eigenschaften“ eines Spurenlegers selbst wie z.B. Alter, Händigkeit oder Hautkrankheiten (Bright and Petricevic 2004, Kamphausen et al. 2012) verstanden. Die Probanden dieser Studie hatten alle keine Hauterkrankungen oder besonders trockene Haut, sodass

kein Einfluss durch solche Begebenheiten bestand (Bright and Petricevic 2004, Kamphausen et al. 2012). Zwischen den einzelnen Szenarien lag immer mindestens ein Tag, sodass ein „Abnutzen“ der DNA-Quelle durch häufiges Berühren, wie durch van Oorschot et al. (2003) beschrieben, entfiel.

4.3.4 Einfluss des Kontakts auf die Übertragung

Der Kontakt der unterschiedlichen Materialien wurde durch Reiben hergestellt, hier wurde auf einen gleichmäßigen Druck geachtet. Goray et al. (2010b) stellten fest, dass die übertragene Menge an DNA am höchsten durch Reiben sei, wobei sie Drücken und Legen mit dem Reiben verglichen. Nach anderen Studien zu urteilen soll die Dauer des Kontakts keinen Einfluss auf die DNA-Ausbeute haben (van Oorschot and Jones 1997, Balogh et al. 2003, Linacre et al. 2010). Auch in dieser Studie fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Wiederholungen mit variierter Dauer der Reibung. Sicherlich wurde durch das Reiben anstelle eines Berührens in den Szenarien dieser Studie eine „optimalere“ Situation zugrunde gelegt, als es z.B. bei einem Händeschütteln der Fall wäre. Es sollte hier allerdings zunächst die Möglichkeit der Übertragung auf diesem Weg an sich beurteilt werden, eine genauere Auslotung der Parameter muss in weiteren Untersuchungen erfolgen.

4.4 Auswirkungen der Ergebnisse auf die forensisch-genetische Routine

Die Ergebnisse dieser Studie unterstreichen einmal mehr, mit welcher Vorsicht DNA-Ergebnisse von tatortrelevanten Spuren interpretiert werden sollten. DNA kann offensichtlich auf derart mannigfaltige Art und Weisen übertragen werden, dass die Darstellung der DNA einer bestimmten Person an einem Gegenstand kaum Rückschlüsse auf den Weg des Antragens der (Haut-)Spuren zulässt.

Andere Studien versuchten ohne großen Erfolg herauszufinden, ob man eine Reihenfolge der Antragungen anhand der quantitativen und qualitativen DNA-Ergebnisse festlegen kann (Meakin and Jamieson 2013). Allein die Untersuchungen der sekundären Übertragung mittels des Händeschüttelns zwischen Person A und B und nachfolgendem Berühren eines Gegenstandes ergaben unterschiedliche Ergebnisse (siehe 4.3.2), sodass eine Aussage hinsichtlich des eigentlichen Berührers nicht sicher getroffen werden konnte (Lowe et al. 2002, Farmen et al. 2007).

Die entsprechenden Wahrscheinlichkeiten eines möglichen Übertragungsweges müssen in jedem einzelnen Fall individuell betrachtet und abgewogen werden. Die Menge an gefundener DNA kann

dabei nur bedingt als Anhaltspunkt genommen werden. So kann eine große Menge an DNA sowohl durch regelmäßiges Benutzen eines Gegenstandes, durch einen zeitlich langen Kontakt oder auch durch einen sehr intensiven Kontakt (z.B. körperlich anstrengende Tätigkeiten) an diesen Gegenstand angetragen werden. In Bezug auf einen sekundären oder tertiären Transfer ist die übertragene Menge an DNA direkt abhängig von der DNA-Quantität am „Originalgegenstand“. Auch die Profilqualität selbst (Voll- oder Teilprofile) lässt nur einen geringen Rückschluss auf den Übertragungsweg (direkt oder indirekt) zu. Viel zu viele, bislang nur in Teilen erforschte Faktoren sind in die DNA-Übertragung involviert und nehmen Einfluss auf das Ergebnis. Darüber hinaus muss bedacht werden, dass durch jede Benutzung eines Gegenstandes angetragene DNA wieder verloren geht.

Es sollte daher in jedem Fall, bei dem DNA-Mischprofile eine Rolle spielen, an die Möglichkeit des sekundären und tertiären Transfers gedacht werden. Diese Tatsache eröffnet der Verteidigungsstrategie bei Gericht diverse Möglichkeiten, sodass zukünftig verschiedenste Szenarien durchgespielt werden müssen, um dem Gericht die Möglichkeiten, aber vor allem die Wahrscheinlichkeiten einer DNA-Übertragung durch Dritte zu erläutern. Dabei kann es keine universelle Antwort geben, sondern nur eine Abwägung der Wahrscheinlichkeiten in Abhängigkeit von den Ermittlungsergebnissen der Polizei, den Ergebnissen der molekulargenetischen Untersuchung und den Angaben des Anklagten.

Die Erforschung von Möglichkeiten des Epithelzelltransfers ist zurzeit eines der wichtigsten Forschungsprojekte der forensischen Genetik. Dies zeigt sich auch an der in den letzten Jahren sprunghaft angestiegenen Zahl an Publikationen (Goray and van Oorschot 2015, Buckingham et al. 2016, Jones et al. 2016, Poetsch et al. 2017). Dennoch sind längst nicht alle Probleme und Faktoren des DNA-Transfers in ausreichendem Maße untersucht worden, sodass weitere Folgeprojekte geplant und auch bereits durchgeführt worden sind. Analysen von Nackenabrieben und Blutspuren, die für unterschiedlich lange Zeiten Wasser aus verschiedenen Gewässern ausgesetzt waren, zeigten, dass neben der Expositionsdauer vor allem die Temperatur und der pH-Wert einen Einfluss auf die Qualität und Quantität der zurückgelassenen DNA haben (Helmus et al. 2017). Ebenso sollen Erkenntnisse über die mögliche zeitliche Reihenfolge, in der DNA an einen Gegenstand angetragen wurde, gewonnen werden. Hierzu wurden bereits unterschiedlichste Expositionszeiten von Alltagsgegenständen an menschlicher Haut untersucht, die darauf hindeuten, dass es eventuell doch möglich ist, eine Reihenfolge der Antragung zu erkennen (Poetsch et al. 2017).

5 Zusammenfassung

Im rechtsmedizinischen Alltag beschäftigt sich die forensische Genetik mit DNA-Antragungen an Gegenständen aller Art. Bei entsprechend vorhandener DNA von Vergleichspersonen (z.B. Opfer, Tatverdächtiger) ist es im Allgemeinen kein Problem, den Ursprung der DNA zu ermitteln. Zur Interpretation der Bedeutung der DNA-Spuren im Hinblick auf den Tathergang ist es jedoch relevant zu wissen, auf welche Weise genau die DNA an solche Gegenstände angetragen wurde. Neben dem direkten Hautkontakt kommen hier auch ein Gegenstand-zu-Gegenstand-Kontakt oder die Übertragung durch eine dritte Person in Betracht.

Im ersten Teil dieser Studie wurden insgesamt 40 Kleidungsstücke aus sieben Familien auf DNA-Antragungen hin mit Hilfe des PCR-Multiplex Kits Powerplex ESX 17 Fast untersucht und eine Zuordnung zu den bekannten DNA-Profilen der Familienmitglieder durchgeführt. In der getragenen Kleidung konnte in 75% der Proben der Träger des Kleidungsstücks identifiziert werden, und in über 78% DNA weiterer Familienmitglieder. An den Kleidungsstücken aus dem Kleiderschrank konnte in 50% der Proben der „Wäschemacher“ der Familie bestimmt werden. Die Befunde, dass an gewaschener Kleidung aus dem Kleiderschrank DNA-Antragungen zu finden sind und dass getragene Kleidung keinesfalls nur die DNA des Trägers aufweist, haben eine wesentliche Bedeutung für die polizeiliche Ermittlungsarbeit.

Im zweiten Teil der Studie wurde in mehreren experimentellen Szenarien, ebenfalls unter Anwendung der o.g. Multiplex-PCR, der sogenannte tertiäre Transfer untersucht. Hier konnte in 40% der 180 Proben gezeigt werden, dass eine Übertragung der DNA einer Person von einem Gegenstand zu einem zweiten Gegenstand durch eine weitere Person (Überträger) stattgefunden hat. Ein deutlicher Einfluss von Handschuhen und vom Material des Gegenstandes wurde ebenfalls nachgewiesen.

Diese Ergebnisse unterstreichen einmal mehr die Notwendigkeit, DNA-Ergebnisse von polizeilichen Tatorten mit großer Sorgfalt zu interpretieren. Abhängig von nachgewiesener Menge und Qualität der DNA können nur wenige von Staatsanwaltschaft oder Verteidigung zur Diskussion gestellte Szenarien zur Antragung von DNA an einen Gegenstand mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

6 Literatur

1. Arismendi J. L., Baker L. E., Matteson K. J. (2004): Effects of processing techniques on the forensic DNA analysis of human skeletal remains. J Forensic Sci, 49, 930-934.
2. Balogh M. K., Burger J., Bender K., Schneider P. M., Alt K. W. (2003): STR genotyping and mtDNA sequencing of latent fingerprint on paper. Forensic Sci Int, 137, 188-195.
3. Barash M., Reshef A., Brauner P. (2010): The use of adhesive tape for recovery of DNA from crime scene items. J Forensic Sci, 55, 1058-1064.
4. Blackie R., Taylor D., Linacre A. (2016): DNA profiles from clothing fibers using direct PCR. Forensic Sci Med Pathol, 12, 331-335.
5. Brayley-Morris H., Sorrell A., Revoir A. P., Meakin G. E., Court D. S., Morgan R. M. (2015): Persistence of DNA from laundered semen stains: Implications for child sex trafficking cases. Forensic Sci Int Genet, 19, 165-171.
6. Breathnach M., Williams L., McKenna L., Moore E. (2016): Probability of detection of DNA deposited by habitual wearer and/or the second individual who touched the garment. Forensic Sci Int Genet, 20, 53-60.
7. Bright J. A., Petricevic S. F. (2004): Recovery of trace DNA and its application to DNA profiling of shoe insoles. Forensic Sci Int, 145, 7-12.
8. Buckingham A. K., Harvey M. L., van Oorschot R. A. (2016): The origin of unknown source DNA from touched objects. Forensic Sci Int Genet, 25, 26-33.
9. Bundeskriminalamt (2017): DNA-Treffer Statistik. https: // www . bka.de/DE/UnsereAufgaben/Ermittlungsunterstuetzung/DNA-Analyse/DNAstatistik/dnaStatistik . html.
10. Busch U. (2007): Real-time PCR. Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety, 2, 111-112.
11. Butler J. M. (2005):Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers. Amsterdam u.a.: Elsevier Science.
12. Butler J. M. (2011):Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation. Amsterdam u.a.: Academic Press.
13. Cupples C. M., Champagne J. R., Lewis K. E., Cruz T. D. (2009): STR profiles from DNA samples with "undetected" or low quantifiler results. J Forensic Sci, 54, 103-107.
14. Daly D. J., Murphy C., McDermott S. D. (2012): The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. Forensic Sci Int Genet, 6, 41-46.
15. DeSalle R., Bonwich E. (1996): DNA isolation, manipulation and characterization from old tissues. Genet Eng (N Y), 18, 13-32.
16. Dettmeyer R., Schütz H. F., Verhoff M. (2014):Rechtsmedizin. Heidelberg: Springer.
17. Di Martino D., Giuffre G., Staiti N., Simone A., Todaro P., Saravo L. (2004): Laser microdissection and DNA typing of cells from single hair follicles. Forensic Sci Int, 146 Suppl, S155-157.
18. Dorak M. T. (2006):Real-time PCR. United Kingdom: Taylor & Francis.
19. Elliott K., Hill D. S., Lambert C., Burroughes T. R., Gill P. (2003): Use of laser microdissection greatly improves the recovery of DNA from sperm on microscope slides. Forensic Sci Int, 137, 28-36.

20. Farmen R. K., Jaghø R., Cortez P., Frøyland E. S. (2007): Assessment of individual shedder status and implication for secondary DNA transfer. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 1, 415-417.
21. Findlay I., Taylor A., Quirke P., Frazier R., Urquhart A. (1997): DNA fingerprinting from single cells. Nature, 389, 555-556.
22. Fonnelop A. E., Egeland T., Gill P. (2015): Secondary and subsequent DNA transfer during criminal investigation. Forensic Sci Int Genet, 17, 155-162.
23. Gassen H. G. (1994):PCR: Grundlagen und Anwendungen der Polymerase-Kettenreaktion ; mit 5 Tabellen. Stuttgart: Fischer.
24. Gill P. (2014):Misleading DNA Evidence: Reasons for Miscarriages of Justice. Elsevier Science.
25. Goray M., Eken E., Mitchell R. J., van Oorschot R. A. (2010a): Secondary DNA transfer of biological substances under varying test conditions. Forensic Sci Int Genet, 4, 62-67.
26. Goray M., Mitchell J. R., van Oorschot R. A. (2012): Evaluation of multiple transfer of DNA using mock case scenarios. Leg Med (Tokyo), 14, 40-46.
27. Goray M., Mitchell R. J., van Oorschot R. A. (2010b): Investigation of secondary DNA transfer of skin cells under controlled test conditions. Leg Med (Tokyo), 12, 117-120.
28. Goray M., van Oorschot R. A. (2015): The complexities of DNA transfer during a social setting. Leg Med (Tokyo), 17, 82-91.
29. Grossman P. D., Colburn J. C. (1992):Capillary electrophoresis: theory & practice. San Diego: Academic Press.
30. Hammer U., Bulnheim U., Karstädt G., Meissner D., Wegener R. (1997): Zur DNA-Typisierung übertragener Hautzellen nach körperlicher Gewalt. Rechtsmedizin, 7, 180-183.
31. Hansson O., Finnebraaten M., Heitmann I. K., Ramse M., Bouzga M. (2009): Trace DNA collection—Performance of minitape and three different swabs. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 2, 189-190.
32. Hellmann A., Rohleder U., Schmitter H., Wittig M. (2001): STR typing of human telogen hairs--a new approach. Int J Legal Med, 114, 269-273.
33. Helmus J., Zorell S., Bajanowski T., Poetsch M. (2017): Persistence of DNA on clothes after exposure to water for different time periods-a study on bathtub, pond, and river. Int J Legal Med.
34. Hill C. R., Duewer D. L., Kline M. C., Sprecher C. J., McLaren R. S., Rabbach D. R., Krenke B. E., Ensenberger M. G., Fulmer P. M., Storts D. R., Butler J. M. (2011): Concordance and population studies along with stutter and peak height ratio analysis for the PowerPlex (R) ESX 17 and ESI 17 Systems. Forensic Science International-Genetics, 5, 269-275.
35. Hohoff C., Brinkmann B. (2003): Trends in der forensischen Molekulargenetik. Rechtsmedizin, 13, 183-189.
36. Holzapfel B., Wickert L. (2007): Die quantitative Real-Time-PCR (qRT-PCR). Methoden und Anwendungsgebiete. Biologie in unserer Zeit, 37, 120-126.
37. Jeffreys A. J., Brookfield J. F., Semeonoff R. (1985c): Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. Nature, 317, 818-819.
38. Jeffreys A. J., Wilson V., Thein S. L. (1985a): Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature, 314, 67-73.
39. Jeffreys A. J., Wilson V., Thein S. L. (1985b): Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. Nature, 316, 76-79.

40. Jones S., Scott K., Lewis J., Davidson G., Allard J. E., Lowrie C., McBride B. M., McKenna L., Teppett G., Rogers C., Clayson N., Baird A. (2016): DNA transfer through nonintimate social contact. Sci Justice, 56, 90-95.
41. Kamphausen T., Fandel S. B., Gutmann J. S., Bajanowski T., Poetsch M. (2015): Everything clean? Transfer of DNA traces between textiles in the washtub. Int J Legal Med, 129, 709-714.
42. Kamphausen T., Schadendorf D., von Wurmb-Schwark N., Bajanowski T., Poetsch M. (2012): Good shedder or bad shedder-the influence of skin diseases on forensic DNA analysis from epithelial abrasions. Int J Legal Med, 126, 179-183.
43. Klimek L., Pfaar O., Rietschel E. (2013):Allergien bei Kindern und Jugendlichen: Grundlagen und klinische Praxis. Schattauer,14.
44. Kloosterman A. D., Kersbergen P. (2003): Efficacy and limits of genotyping low copy number (LCN) DNA samples by multiplex PCR of STR loci. J Soc Biol, 197, 351-359.
45. Lehmann V. J., Mitchell R. J., Ballantyne K. N., van Oorschot R. A. (2015): Following the transfer of DNA: How does the presence of background DNA affect the transfer and detection of a target source of DNA? Forensic Sci Int Genet, 19, 68-75.
46. Lehmann V. J., Mitchell R. J., Ballantyne K. N., van Oorschot R. A. H. (2013): Following the transfer of DNA: How far can it go? Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 4, e53-e54.
47. Linacre A., Pekarek V., Swaran Y. C., Tobe S. S. (2010): Generation of DNA profiles from fabrics without DNA extraction. Forensic Sci Int Genet, 4, 137-141.
48. Lowe A., Murray C., Whitaker J., Tully G., Gill P. (2002): The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. Forensic Sci Int, 129, 25-34.
49. Madea B., Brinkmann B. (2014):Handbuch gerichtliche Medizin. 2. Ed. Berlin Heidelberg New York: Springer
50. Manoli P., Antoniou A., Bashiardes E., Xenophontos S., Photiades M., Stribley V., Mylona M., Demetriou C., Cariolou M. A. (2015): Sex-specific age association with primary DNA transfer. Int J Legal Med.
51. Mapes A. A., Kloosterman A. D., Poot C. J., van Marion V. (2016a): Objective data on DNA success rates can aid the selection process of crime samples for analysis by rapid mobile DNA technologies. Forensic Sci Int, 264, 28-33.
52. Mapes A. A., Kloosterman A. D., van Marion V., de Poot C. J. (2016b): Knowledge on DNA Success Rates to Optimize the DNA Analysis Process: From Crime Scene to Laboratory. J Forensic Sci, 61, 1055-1061.
53. McLaren R. S., Bourdeau-Heller J., Patel J., Thompson J. M., Pagram J., Loake T., Beesley D., Pirttimaa M., Hill C. R., Duewer D. L., Kline M. C., Butler J. M., Storts D. R. (2014): Developmental validation of the PowerPlex((R)) ESI 16/17 Fast and PowerPlex((R)) ESX 16/17 Fast Systems. Forensic Sci Int Genet, 13, 195-205.
54. Meakin G., Jamieson A. (2013): DNA transfer: review and implications for casework. Forensic Sci Int Genet, 7, 434-443.
55. Moll I., Jung E. G., Augustin M. (2005):Dermatologie. Thieme.
56. Mülhardt C. (2009):Der Experimentator - Molekularbiologie/Genomics. 6. Ed. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
57. Müller H. J. (2016):Polymerase-Kettenreaktion (PCR): das Methodenbuch. 2. Ed. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum.

58. Müller K. V. (2009): Optimierung der DNA-Analyse für degradierte biologische Spuren.In. Ulm: Dissertation, S.
59. Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G., Erlich H. (1986): Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 51 Pt 1, 263-273.
60. Mullis K. B., Faloona F. A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. Methods Enzymol, 155, 335-350.
61. Mullis K. B., Ferr?e F., Gibbs R. A. (1994):The Polymerase Chain Reaction. Birkhäuser.
62. Petricevic S. F., Bright J. A., Cockerton S. L. (2006): DNA profiling of trace DNA recovered from bedding. Forensic Sci Int, 159, 21-26.
63. Phipps M., Petricevic S. (2007): The tendency of individuals to transfer DNA to handled items. Forensic Sci Int, 168, 162-168.
64. Poetsch M., Bajanowski T., Kamphausen T. (2013): Influence of an individual's age on the amount and interpretability of DNA left on touched items. Int J Legal Med, 127, 1093-1096.
65. Poetsch M., Bayer K., Ergin Z., Milbrath M., Schwark T., von Wurmb-Schwark N. (2011a): First experiences using the new Powerplex(R) ESX17 and ESI17 kits in casework analysis and allele frequencies for two different regions in Germany. Int J Legal Med, 125, 733-739.
66. Poetsch M., Ergin Z., Bayer K., El-Mostaqim D., Rakotomavo N., Browne E. N., Timmann C., Horstmann R. D., Schwark T., von Wurmb-Schwark N. (2011b): The new Powerplex(R) ESX17 and ESI17 kits in paternity and maternity analyses involving people from Africa--including allele frequencies for three African populations. Int J Legal Med, 125, 149-154.
67. Poetsch M., Kamphausen T., Bajanowski T., Schwark T., von Wurmb-Schwark N. (2011c): Powerplex(R) ES versus Powerplex(R) S5-casework testing of the new screening kit. Forensic Sci Int Genet, 5, 57-63.
68. Poetsch M., Konrad H., Helmus J., Bajanowski T., von Wurmb-Schwark N. (2016): Does zero really mean nothing?-first experiences with the new PowerQuant(TM) system in comparison to established real-time quantification kits. Int J Legal Med, 130, 935-940.
69. Poetsch M., Pfeifer M., Konrad H., Bajanowski T., Helmus J. (2017): Impact of several wearers on the persistence of DNA on clothes – a study with experimental scenarios. Int J Legal Med.
70. Poy A., van Oorschot R. A. H. (2006): Beware; gloves and equipment used during the examination of exhibits are potential vectors for transfer of DNA-containing material. International Congress Series, 1288, 556-558.
71. Prokop O., Göhler W. (1988):Die menschlichen Blutgruppen. Gustav Fischer Verlag.
72. Promega (2014): PowerPlex® ESX 17 fast System Protocol. technical manual, Mannheim.
73. Raymond J. J., van Oorschot R. A., Gunn P. R., Walsh S. J., Roux C. (2009): Trace evidence characteristics of DNA: A preliminary investigation of the persistence of DNA at crime scenes. Forensic Sci Int Genet, 4, 26-33.
74. Raymond J. J., Walsh S. J., van Oorschot R. A. H., Gunn P. R., Evans L., Roux C. Assessing trace DNA evidence from a residential burglary: Abundance, transfer and persistence. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 1, 442-443.

75. Rutty G. N., Watson S., Davison J. (2000): DNA contamination of mortuary instruments and work surfaces: a significant problem in forensic practice? Int J Legal Med, 114, 56-60.
76. Schneider H., Sommerer T., Rand S., Wiegand P. (2011): Hot flakes in cold cases. Int J Legal Med, 125, 543-548.
77. Schneider P. M., Fimmers R., Keil W., Molsberger G., Patzelt D., Pflug W., Rothämel T., Schmitter H., Schneider H., Brinkmann B. (2006): Allgemeine Empfehlungen der Spurenkommission zur Bewertung von DNA-Mischspuren. Rechtsmedizin, 16, 401-404.
78. Schneider P. M. F., R.; Keil, W.; Molsberger, G.; Patzelt, D.; Pflug, W.; Rothämel, T.; Schmitter, H.; Schneider, H.; Brinkmann, B. (2016): Allgemeine Empfehlungen der Spurenkommission zur Bewertung von DNA-Mischspuren.
79. Schwark T., Poetsch M., Preusse-Prange A., Kamphausen T., von Wurmb-Schwark N. (2012): Phantoms in the mortuary-DNA transfer during autopsies. Forensic Sci Int, 216, 121-126.
80. Sprecher C. J., McLaren R. S., Rabbach D. R., Ensenberger M. G., Fulmer P. M., Krenke B. E., Corona C., Scurria M. A., Good T. D., Dwight S. J., McDougall M. G., Storts D. R. (2009): The PowerPlex® ESX and ESI Systems: Meeting the New European Standard. Promega Corporation, Promega Corporation website; http :// www. promega.de/resources/profiles-in-dna/2009/the-powerplex-esx-and-esi-systems-meeting-the-new-european-standard/.
81. Stouder S. L., Reubush K., Hobson D. L., Smith J. L. (2001): Trace evidence scrapings: a valuable source of DNA? Forensic Sci. Commun., 3, e-https:// archives.fbi.gov/archives/about-us/lab/forensic-science-communications/fsc/oct2001/stouder. htmpublication.
82. Szkuta B., Harvey M. L., Ballantyne K. N., van Oorschot R. A. (2015): DNA transfer by examination tools--a risk for forensic casework? Forensic Sci Int Genet, 16, 246-254.
83. Thomas J. T., Berlin R. M., Barker J. M., Dawson Cruz T. (2013): Qiagen's Investigator Quantiplex Kit as a predictor of STR amplification success from low-yield DNA samples. J Forensic Sci, 58, 1306-1309.
84. Tokutomi T., Takada Y., Kanetake J., Mukaida M. (2009): Identification using DNA from skin contact: case reports. Leg Med (Tokyo), 11 Suppl 1, S576-577.
85. Tucker V. C., Hopwood A. J., Sprecher C. J., McLaren R. S., Rabbach D. R., Ensenberger M. G., Thompson J. M., Storts D. R. (2012): Developmental validation of the PowerPlex (R) ESX 16 and PowerPlex (R) ESX 17 Systems. Forensic Science International-Genetics, 6, 124-131.
86. van den Berge M., Ozcanhan G., Zijlstra S., Lindenbergh A., Sijen T. (2016): Prevalence of human cell material: DNA and RNA profiling of public and private objects and after activity scenarios. Forensic Sci Int Genet, 21, 81-89.
87. van Oorschot R. A., Ballantyne K. N., Mitchell R. J. (2010): Forensic trace DNA: a review. Investig Genet, 1, 14.
88. van Oorschot R. A., Jones M. K. (1997): DNA fingerprints from fingerprints. Nature, 387, 767.
89. Verdon T. J., Mitchell R. J., van Oorschot R. A. (2013): The influence of substrate on DNA transfer and extraction efficiency. Forensic Sci Int Genet, 7, 167-175.
90. Verdon T. J., Mitchell R. J., van Oorschot R. A. (2014): Evaluation of tapelifting as a collection method for touch DNA. Forensic Sci Int Genet, 8, 179-186.

91. Walsh P. S., Fildes N. J., Reynolds R. (1996): Sequence analysis and characterization of stutter products at the tetranucleotide repeat locus vWA. Nucleic Acids Res, 24, 2807-2812.
92. Walsh P. S., Varlaro J., Reynolds R. (1992): A Rapid Chemiluminescent Method for Quantitation of Human DNA. Nucleic Acids Res, 20, 5061-5065.
93. Waye J. S., Presley L. A., Budowle B., Shutler G. G., Fourney R. M. (1989): A Simple and Sensitive Method for Quantifying Human Genomic DNA in Forensic Specimen Extracts. Biotechniques, 7, 852-855.
94. Wickenheiser R. A. (2002): Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. J Forensic Sci, 47, 442-450.
95. Wiegand P., Heimbold C., Klein R., Immel U., Stiller D., Klintschar M. (2011): Transfer of biological stains from different surfaces. Int J Legal Med, 125, 727-731.

7 Anhang

Tabelle A0: Kleidungsstücke pro Proband mit Vermerk von Größe, Material und Schnitt sowie Tagesablauf/ Liegedauer im Kleiderschrank

Proband	1 Tag getragen	2Tage getragen	Kleiderschrank
1A	dünner Pulli - 100% Baumwolle - Größe S Arbeit und Besuch		dünner Pulli - 100% Baumwolle - Größe S - max. 1Woche - kein Trockner/Bügeln
1B	T-Shirt - 100% Baumwolle - Gr. M Arbeit, Besuch		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe M - max. 1Woche - kein Trockner/Bügeln
2A		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe L Arbeit, Gartenarbeit	Dünnes Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe L - min. 1Woche - kein Trockner/Bügeln
2B		Hemd (langärmlig) - 100% Baumwolle - Größe XXL Hausarbeit, Einkaufen	Kurzärmliges Hemd - 100% Baumwolle - Größe XXL - ca. 1 Woche - kein Trockner/Bügeln
2C		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe M Schule	T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe M - max. 1 Woche - kein Trocknet/Bügeln
2D		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe 164 Schule, Kino mit Freunden	Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe 164 - mind. 1 Woche - kein Trockner/Bügeln

Proband	1 Tag getragen	2 Tage getragen	Kleiderschrank
2E		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe L Schule, Unternehmung mit Freunden	T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe L - max. 2 Wochen - kein Trockner/Bügeln
3A	Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe L Arbeit, zu Hause		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe L - mind. 1 Woche - Trockner - kein Bügeln
3C	Sehr kurzärmeliges T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe S Sweater/Fleecejacke drüber Schule, zu Hause		Sehr kurzärmeliges Shirt - 100% Baumwolle - Größe S - mind. 1 Woche - Trockner - kein Bügeln
4A	Dicker Pulli - 100% Baumwolle - Größe S Zu Hause		Dünner Pulli - 100% Baumwolle - Größe S - mind. 2 Wochen - kein Trockner/ Bügeln
4B	Kapuzenpulli - 100% Baumwolle - Größe M Zu Hause		Dünner Pulli - 100% Baumwolle - Größe M - mind. 1 Woche - kein Trockner/ Bügeln
4C	Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe 158/164 Zu Hause		Pulli - 100% Baumwolle - Größe 158/164 - mind. 1 Woche - kein Trockner/Bügeln

Proband	1 Tag getragen	2 Tage getragen	Kleiderschrank
5A	Pulli - 100% Baumwolle - Größe M zu Hause, Einkaufen		Bluse (ärmellos) - 100% Baumwolle - Größe M - mind. 2 Monate - kein Trockner - gebügelt
5B		Pulli - 100% Cashmere - Größe L Arbeit, Gericht, zu Hause	Pulli - 100% Cashmere - Größe L - mind. 1 Woche - kein Trockner - gebügelt
6A		Pulli - 100% Cashmere - Größe M Arbeit, zu Hause	T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe L - mind. 1 Monat - Trockner und gebügelt
6B		Pulli - 90% Baumwolle, 10% Cashmere - Größe L Arbeit, zu Hause	Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe L - mind. 2 Wochen - Trockner und gebügelt
7A	Pulli - 50% Baumwolle/ 50% Polyester - Größe S Zu Hause		Dünner Pulli - 100% Baumwolle - Größe XS - mind. 2 Wochen - kein Trockner - gebügelt
7B	Polo-Shirt - 100% Baumwolle - Größe XL		T-Shirt - 100% Baumwolle - Größe XXL - mind. 2 Wochen - kein Trockner - gebügelt

Proband	1 Tag getragen	2 Tage getragen	Kleiderschrank
7C	Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe 146/152 Schule, zu Hause		Longsleeve - 100% Baumwolle - Größe 140/146 - mind. 1 Woche - kein Trockner - gebügelt
7D	Pulli - 100% Baumwolle - Größe 122/128 Schule, Freunde		Pulli - 100% Baumwolle - Größe 128 - mind. 1 Woche - kein Trockner - gebügelt

Tabelle A1a: Einteilung der gefundenen Profile, in Mischprofile mit und ohne Hauptspurenleger (HSL) bzw. als Teil- oder Vollprofil. (re=rechts, li=links, v=Burstteil vorne/ von) und einer Dominanz eines Spurenverursachers (SV); Fam=Familie

Person	Dominanz (SV)	HSL + Zusatz	Mischspur (VP)		Mischspur (TP)	
1A getragen	2 VP (li, v)	-	1 VP (re) mit	TP von Fam 1v1	-	-
1A Schrank	1 VP (v)	-	1 VP (li) mit	TP von Fam 1v1 und weitere	1 TP (re) mit	weiteren
1B getragen	2 VP (re, v)	-	1 VP (li) mit	VP von Fam 1v1	-	-
1B Schrank	-	-	-	-	2 TP (li, v) u 1 KP (re)	KP (re), TP (li), VP (v) von Fam 1v1, und weitere
2A getragen	1 TP (re)	2 VP (li, v) mit 3 TP und 1VP (v)	-	-	-	-
2A Schrank	2 TP (re, li)	-	-	-	1 TP (v) mit je	TP von Fam 3v4
2B getragen	-	-	2 VP (re, v) mit je	VP 3v4 und TP 1v4	1 TP (li) mit	KP/weitere
2B Schrank	-	-	1 VP (v) mit	2 VP, 2TP 4v4	1 TP (li) mit	2 VP (1x dominant), 2TP 4v4

Person	Dominanz (SV)	HSL + Zusatz	Mischspur (VP)		Mischspur (TP)	
2C getragen	-	-	-	-	3 TP mit	1 VP und 2 TP (re li) von 3v4, 1 TP (v)
2C Schrank	-	-	-	-	1 TP (v) mit	3 TP von Fam. 3v4
2D getragen	1 VP (v)	2 VP (re, li) mit je 2 VP, 2TP 4v4	-	-	-	-
2D Schrank	-	-	-	-	3 TP (re, li, v) mit	1 VP v, 3-4 TP von Fam 4v4
2E getragen	1 VP (li)	2 VP (re, v) mit je 3 TP und 1 VP re	-	-	-	-
2E Schrank	-	-	-	-	2 TP (li, v) mit	1 VP, 3 TP(li) und 2 VP, 1 TP (v)
4A getragen	-	-	2 VP (li, v) mit	je 1 TP, 1 VP (Fam. 2v2)	-	-
4A Schrank	-	-	-	-	2 TP (re, li) mit	je 1 TP, 1 VP (Fam. 2v2)
4Bgetragen	-	-	3 VP (re, li, v) mit	TP u VP (re/li), 2 VP(v) (Fam. 2v2)	-	-
4B Schrank	-	-	2 VP (li, v) mit	je 2 TP (Fam. 2v2)	1 TP (re) mit	je 2 TP (Fam. 2v2)
4C getragen	2 VP (re, li)	-	1 VP (v) mit	2 TP (Fam. 2v2)	-	-
4C Schrank	-	-	-	-	KP (li), TP (v) mit	je 1 TP (Fam. 1v2) und weitere
7A getragen	-	1 VP (re) mit 2 TP (Fam. 2v3)	2 VP (li, v) mit	je 3 VP (Fam. 3v3)	-	-
7A Schrank	-	-	2 VP (li, v) mit	je 3 TP (li), 1 TP (v)	1 TP (re) mit	3 TP (Fam. 3v3)
7B getragen	-	1 VP (re) mit 2 VP u 1 TP	2 VP (li, v) mit	2 VP, 1TP (li), 3 TP (v)	-	-
7B Schrank	-	-	1 VP (v) mit	1 VP, 2 TP (Fam. 3v3)	2 TP (re, li)	je 3 TP (Fam. 3v3)
7C getragen	1 VP (re)	2 VP (li, v) mit je 1 TP (Fam. 1v3)	-	-	-	-
7C Schrank	-	1 VP (v) mit 1 TP (Fam. 1v3)	-	-	2 TP (li, v)	3 VP (Fam 3v3)

Person	Dominanz (SV)	HSL + Zusatz	Mischspur (VP)		Mischspur (TP)	
7D getragen	1 VP (re)	1 VP (v) mit 3 TP	1 VP (li) mit	3 TP und weitere	-	-
7D Schrank	-	-	1 VP (v) mit	3 VP (Fam. 3v3)	2 TP	je 3 TP (re mit weiteren)
3A getragen	1 VP (re)	2 VP (li, v) mit je 1 TP	-	-	-	-
3A Schrank	-	-	2 VP (li, v) mit	je 1 TP mit weiteren	-	-
3C getragen	1 VP (re)	-	1 VP (v) mit	1 TP (v) (Fam. 1v1)	1 TP (li) mit	KP mit weiteren
3C Schrank	-	-	1 VP (v) mit	1 TP (v) (Fam. 1v1)	-	KP mit weiteren
6A getragen	-	1 VP (li) mit TP	2 VP (re, v) mit	1 TP (v) (Fam. 1v1)	-	-
6A Schrank	-	-	2 VP (re, v) mit	1 VP (v), 1 TP re	-	-
6B getragen	-	1 VP (re) mit VP	2 VP (li, v) mit	je 1 TP (li, v)	-	-
6B Schrank	-	-	3 VP (re, li, v) mit	je 1 VP (re, v) und 1 TP (li)	-	-
5A getragen	-	-	3 VP (re, li, v) mit	3 VP (re, li, v) (Fam. 1v1)	-	-
5A Schrank	-	1 VP (v) mit 1 TP (Fam. 1v1)	-	-	-	-
5B getragen	-	-	3 VP (re, li, v) mit	je 1 VP (re, li), TP (v)	-	-
5B Schrank	-	-	3 VP (re, li, v) mit	je 1 TP (re, li, v) (Fam. 1v1)	-	-

Tabelle A1b: Ergebnisse der Probenentnahme an getragener Kleidung und Kleidung aus dem Kleiderschrank im Überblick. Mit entsprechenden Probenbezeichnungen, Konzentrationsangaben (Konz) und Hervorhebung von Voll- (dunkelgrau) und Teilprofilen (hellgrau) (VP, TP), n.a.=nicht auswertbar

getragen	Probe	Konz (ng/µl)	Träger	Familienmitglieder			
				1	2	3	4
	1A2A	0,209	VP	TP			
	1A3A	5,998	VP	KP			
	1A4A	0,049	VP	KP			
	1B2A	0,314	VP	KP			
	1B3A	0,168	VP	VP			
	1B4A	0,049	VP	KP			
	2A2B	0,007	TP	KP	KP	KP	KP
	2A3B	0,471	VP	KP	TP	TP	TP
	2A4B	0,536	VP	TP	VP	TP	TP
	2B2B	0,312	VP	VP	VP	VP	TP
	2B3B	0,013	TP	KP	KP	KP	KP
	2B4B	0,647	VP	VP	VP	VP	TP
	2C2B	0,03	TP	VP	KP	TP	TP
	2C3B	0,0008	TP	VP	KP	TP	TP
	2C4B	n.a.	TP	TP	KP	KP	KP
	2D2B	1,011	VP	VP	TP	VP	TP
	2D3B	1,039	VP	VP	TP	VP	TP
	2D4B	1,691	VP	TP	TP	TP	TP
	2E2B	1,434	VP	TP	TP	VP	TP
	2E3B	0,276	VP	KP	KP	KP	TP
	2E4B	0,258	VP	TP	KP	TP	TP
	3A2A	0,881	VP	TP			
	3A3A	0,776	VP	TP			
	3A4A	0,011	VP	TP			
	3C2A	0,347	VP	KP			
	3C3A	0,021	TP	KP			
	3C4A	3,127	VP	TP			
	4A2A	0,059	KP	KP	KP		
	4A3A	1,847	VP	TP	VP		
	4A4A	1,304	VP	TP	VP		
	4B2A	2,93	VP	TP	VP		
	4B3A	5,631	VP	TP	VP		
	4B4A	3,703	VP	VP	VP		
	4C2A	2,062	VP	TP	TP		
	4C3A	0,542	VP	KP	KP		
	4C4A	4,455	VP	TP	TP		

getragen	Probe	Konz (ng/µl)	Träger	Familienmitglieder			
				1	2	3	4
	5A2A	3,951	VP	VP			
	5A3A	3,083	VP	VP			
	5A4A	0,644	VP	VP			
	5B2B	1,118	VP	VP			
	5B3B	1,69	VP	VP			
	5B4B	1,45	VP	TP			
	6A2B	8,222	VP	KP			
	6A3B	0,321	VP	TP			
	6A4B	0,928	VP	TP			
	6B2B	0,787	VP	TP			
	6B3B	2,096	VP	TP			
	6B4B	1,849	VP	TP			
	7A2A	0,254	VP	KP	TP	TP	
	7A3A	0,319	VP	VP	VP	VP	
	7A4A	0,0006	VP	VP	VP	VP	
	7B2A	0,259	VP	TP	VP	VP	
	7B3A	0,529	VP	TP	VP	VP	
	7B4A	1,046	VP	TP	TP	VP	
	7C2A	0,264	VP	KP	KP	KP	
	7C3A	1,586	VP	KP	TP	KP	
	7C4A	0,795	VP	KP	TP	KP	
	7D2A	0,041	VP	KP	KP	KP	
	7D3A	0,0001	VP	TP	TP	TP	
	7D4A	0,0001	VP	TP	TP	TP	

Kleider-schrank	Probe	Konz (ng/µl)	Träger	Familienmitglieder			
				1	2	3	4
	1A2C	0,018	TP	KP			
	1A3C	0,128	VP	TP			
	1A4C	0,508	VP	KP			
	1B2C	0,01	KP	KP			
	1B3C	0,032	TP	TP			
	1B4C	0,048	TP	VP			
	2A2C	0,001	TP	KP	KP	KP	KP
	2A3C	0,003	TP	KP	KP	KP	KP
	2A4C	0,004	TP	TP	TP	TP	KP
	2B2C	0,004	KP	KP	KP	KP	KP
	2B3C	0,007	TP	VP	VP	TP	TP
	2B4C	0,015	VP	VP	VP	TP	TP
	2C2C	0,198	KP	KP	KP	KP	KP
	2C3C	0,739	KP	TP	KP	KP	KP
	2C4C	0,041	TP	TP	KP	TP	TP
	2D2C	0,031	TP	TP	TP	TP	TP
	2D3C	0,026	TP	TP	TP	TP	TP
	2D4C	0,234	TP	VP	TP	TP	TP
	2E2C	0,0003	KP	KP	KP	KP	KP
	2E3C	0,034	TP	TP	TP	VP	TP
	2E4C	0,984	TP	VP	KP	TP	VP
	3A2C	0,004	KP	KP			
	3A3C	0,061	VP	TP			
	3A4C	0,78	VP	KP			
	3C2C	0,0031	KP	KP			
	3C3C	0,0017	KP	KP			
	3C4C	0,574	VP	TP			
	4A2C	0,011	TP	TP	VP		
	4A3C	0,036	TP	TP	VP		
	4A4C	0,0009	KP	KP	KP		
	4B2C	0,009	TP	TP	TP		
	4B3C	0,021	VP	TP	TP		
	4B4C	0,05	VP	TP	TP		
	4C2C	0,002	KP	KP	KP		
	4C3C	0,001	KP	TP	KP		
	4C4C	0,008	TP	TP	KP		

Kleider-schrank	Probe	Konz (ng/µl)	Träger	Familienmitglieder			
				1	2	3	4
	5A4C	0,933	VP	TP			
	5B2C	3,357	TP	TP			
	5B3C	1,399	VP	TP			
	5B4C	2,817	VP	TP			
	6A2C	0,02	VP	TP			
	6A3C	0,0065	KP	KP			
	6A4C	0,171	VP	VP			
	6B2C	0,083	VP	VP			
	6B3C	0,043	VP	TP			
	6B4C	0,098	VP	VP			
	7A2C	0,0006	TP	TP	TP	TP	
	7A3C	0,015	VP	TP	TP	TP	
	7A4C	0,1118	VP	VP	VP	TP	
	7B2C	0,0198	TP	TP	TP	TP	
	7B3C	0,0177	TP	TP	TP	TP	
	7B4C	0,151	VP	TP	TP	VP	
	7C2C	0,78	VP	KP	TP	KP	
	7C3C	0,229	TP	VP	KP	KP	
	7C4C	0,104	TP	VP	VP	VP	
	7D2C	0,0001	TP	TP	TP	TP	
	7D3C	0,0037	TP	TP	TP	TP	
	7D4C	0,0001	VP	VP	VP	VP	

Tabelle A2: Die Ergebnisse des tertiären Übertragungsweges im Überblick. Mit Angaben über DNA-Konzentration (Konz.) pro Probe und DNA-Profiltyp von Überträger (Übertr.) und Spender. Profile mit einer Konzentration von „Null“ bzw. Durchgänge, bei denen kein Profil erreicht wurde, sind hervorgehoben. VP= Vollprofil, TP=Teilprofil, KP= Kein Profil. Durchgang (Drg.) und Probandenzusammenstellung (PZ)

Drg. - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
1	**Ü1MP1**	0,0643	VP	KP	**91**	**Ü1MP2**	0,0434	VP	KP
2	**Ü2MP1**	0,0627	VP	KP	**92**	**Ü2MP2**	0,0105	KP 3	KP
3	**Ü3MP1**	0,00457	KP	KP	**93**	**Ü3MP2**	0,0537	VP	TP
4	**Ü4MP1**	0,0677	VP	KP	**94**	**Ü4MP2**	0,0705	VP	TP
5	**Ü5MP1**	0	VP	TP	**95**	**Ü5MP2**	0	VP	TP
6	**Ü6MP1**	0,00191	VP	TP	**96**	**Ü6MP2**	0,0023	KP	KP
7	**Ü7MP1**	0,01	TP	TP	**97**	**Ü7MP2**	0,0203	KP	KP
8	**Ü8MP1**	0,0707	VP	KP	**98**	**Ü8MP2**	0,0321	TP	KP
9	**Ü9MP1**	0,00158	KP	KP	**99**	**Ü9MP2**	0,0131	KP	KP
10	**Ü10MP1**	0	VP	TP	**100**	**Ü10MP2**	0,0219	VP	TP
11	**Ü1JA1**	0,0054	KP	KP	**101**	**Ü1JA2**	0,00733	KP	KP
12	**Ü2JA1**	0,0181	TP	KP	**102**	**Ü2JA2**	0,0537	TP	KP
13	**Ü3JA1**	0,00162	KP	KP	**103**	**Ü3JA2**	0,0081	KP	KP
14	**Ü4JA1**	0,0206	TP	KP	**104**	**Ü4JA2**	0,00153	KP	KP
15	**Ü5JA1**	0,0119	VP	KP	**105**	**Ü5JA2**	0,00124	VP	KP
16	**Ü6JA1**	0,00775	KP	TP	**106**	**Ü6JA2**	0,00279	KP	KP
17	**Ü7JA1**	0,00248	KP	KP	**107**	**Ü7JA2**	0,00157	KP	KP
18	**Ü8JA1**	0,00247	KP	KP	**108**	**Ü8JA2**	0,00748	KP	KP
19	**Ü9JA1**	0,00197	KP	KP	**109**	**Ü9JA2**	0,00171	KP	KP
20	**Ü10JA1**	0,0193	TP	KP	**110**	**Ü10JA2**	0,00369	TP	KP

Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz..	Übertr.	Spender
21	**Ü1MP3**	0,0057	KP	KP	**111**	**Ü1MP4**	0,0007	KP	KP
22	**Ü2MP3**	0,0317	VP	KP	**112**	**Ü2MP4**	0,0257	TP	KP
23	**Ü3MP3**	0,003	KP	KP	**113**	**Ü3MP4**	0,0516	VP	TP
24	**Ü4MP3**	0,1882	VP	TP	**114**	**Ü4MP4**	0,0289	TP	KP
25	**Ü5MP3**	0,2019	VP	TP	**115**	**Ü5MP4**	0,0744	VP	TP
26	**Ü6MP3**	0,0058	KP	KP	**116**	**Ü6MP4**	0,016	KP	TP
27	**Ü7MP3**	0,0102	KP	KP	**117**	**Ü7MP4**	0,0082	KP	KP
28	**Ü8MP3**	0,0122	TP	KP	**118**	**Ü8MP4**	0,0296	TP	KP
29	**Ü9MP3**	0,0067	KP	KP	**119**	**Ü9MP4**	0,0028	KP	KP
30	**Ü10MP3**	0,155	VP	TP	**120**	**Ü10MP4**	0,0317	TP	TP
31	**Ü1IT1**	0,0221	TP	TP	**121**	**Ü1IT2**	0,0018	KP	KP
32	**Ü2IT1**	0,0108	TP	KP	**122**	**Ü2IT2**	0,0142	KP	KP
33	**Ü3IT1**	0,00413	K	KP	**123**	**Ü3IT2**	0,0271	TP	KP
34	**Ü4IT1**	0	VP	VP	**124**	**Ü4IT2**	0,1058	VP	TP
35	**Ü5IT1**	0	VP	VP	**125**	**Ü5IT2**	0,0709	VP	TP
36	**Ü6IT1**	0,0033	KP	KP	**126**	**Ü6IT2**	0,0044	KP	KP
37	**Ü7IT1**	0,0232	TP	KP	**127**	**Ü7IT2**	0,0069	KP	TP
38	**Ü8IT1**	0,0173	KP	KP	**128**	**Ü8IT2**	0,6541	VP	TP
39	**Ü9IT1**	0	KP	TP	**129**	**Ü9IT2**	0,0086	KP	KP
40	**Ü10IT1**	0	VP	VP	**130**	**Ü10IT2**	0,0786	VP	VP
41	**Ü1DH1**	0,0063	TP	KP	**131**	**Ü1DH2**	0,0049	KP	KP
42	**Ü2DH1**	0,00286	KP	KP	**132**	**Ü2DH2**	0,00328	KP	KP
43	**Ü3DH1**	0,00236	KP	KP	**133**	**Ü3DH2**	0,0174	TP	KP
44	**Ü4DH1**	0,00405	KP	KP	**134**	**Ü4DH2**	0,00181	KP	TP

Drg. - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
45	**Ü5DH1**	0,00612	KP	KP	**135**	**Ü5DH2**	0,00876	TP	TP
46	**Ü6DH1**	0,00162	KP	KP	**136**	**Ü6DH2**	0	KP	KP
47	**Ü7DH1**	0,00203	KP	KP	**137**	**Ü7DH2**	0,00821	KP	KP
48	**Ü8DH1**	0,00166	KP	KP	**138**	**Ü8DH2**	0,00778	KP	KP
49	**Ü9DH1**	0,00243	KP	KP	**139**	**Ü9DH2**	0,00294	KP	KP
50	**Ü10DH1**	0	TP	TP	**140**	**Ü10DH2**	0	TP	TP
51	**Ü1AF1**	0,0012	KP	KP	**141**	**Ü1AF2**	0,0099	KP	KP
52	**Ü2AF1**	0,0147	KP	KP	**142**	**Ü2AF2**	0,0304	TP	TP
53	**Ü3AF1**	0,0085	KP	KP	**143**	**Ü3AF2**	0,0518	TP	KP
54	**Ü4AF1**	0,1355	VP	TP	**144**	**Ü4AF2**	0,006	KP	KP
55	**Ü5AF1**	0,0251	TP	TP	**145**	**Ü5AF2**	0,027	TP	KP
56	**Ü6AF1**	0,0013	KP	KP	**146**	**Ü6AF2**	0,0009	KP	KP
57	**Ü7AF1**	0,008	KP	KP	**147**	**Ü7AF2**	0,009	KP	TP
58	**Ü8IAF1**	0,0076	KP	TP	**148**	**Ü8AF2**	0,0103	TP	KP
59	**Ü9AF1**	0,0082	KP	KP	**149**	**Ü9AF2**	0,002	KP	KP
60	**Ü10AF1**	0,0252	TP	VP	**150**	**Ü10AF2**	0,0334	TP	TP
61	**Ü1MP6**	0,0113	KP	KP	**151**	**Ü1IT3**	0,0243	KP	TP
62	**Ü2MP6**	0,0877	VP	KP	**152**	**Ü2IT3**	0,0021	KP	KP
63	**Ü3MP6**	0,0955	VP	KP	**153**	**Ü3IT3**	0,044	VP	KP
64	**Ü4MP6**	0,4063	VP	TP	**154**	**Ü4IT3**	0,0488	TP	VP
65	**Ü5MP6**	1,1539	VP	TP	**155**	**Ü5IT3**	0,061	VP	VP
66	**Ü6MP6**	0,0002	KP	KP	**156**	**Ü6IT3**	0,0045	KP	KP
67	**Ü7MP6**	0,0607	TP	TP	**157**	**Ü7IT3**	0,0013	KP	KP
68	**Ü8MP6**	0,0468	VP	KP	**158**	**Ü8IT3**	0,1054	VP	VP

Drg. - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg. - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
69	**Ü9MP6**	0,0157	KP	KP	**159**	**Ü9IT3**	0,0331	KP	VP
70	**Ü10MP6**	0,0714	TP	TP	**160**	**Ü10IT3**	0,0735	TP	VP
71	**Ü1JA3**	0,0021	KP	KP	**161**	**Ü1DH3**	0,0006	KP	KP
72	**Ü2JA3**	0,0019	KP	KP	**162**	**Ü2DH3**	0,0019	KP	KP
73	**Ü3JA3**	0,0108	KP	KP	**163**	**Ü3DH3**	0,0007	KP	KP
74	**Ü4JA3**	0,0913	TP	VP	**164**	**Ü4DH3**	0,3399	TP	TP
75	**Ü5JA3**	0,0836	VP	TP	**165**	**Ü5DH3**	2,5723	VP	VP
76	**Ü6JA3**	0,0006	KP	KP	**166**	**Ü6DH3**	0,0172	KP	TP
77	**Ü7JA3**	0,0118	TP	KP	**167**	**Ü7DH3**	0,0023	KP	KP
78	**Ü8JA3**	0,0046	TP	TP	**168**	**Ü8DH3**	0,0078	KP	KP
79	**Ü9JA3**	0,0346	KP	TP	**169**	**Ü9DH3**	0,0102	KP	TP
80	**Ü10JA3**	0,0209	TP	KP	**170**	**Ü10DH3**	0,1671	VP	VP
81	**Ü1MP5**	0,0183	TP	KP	**171**	**Ü1AF3**	0,1641	KP	VP
82	**Ü2MP5**	0,0237	TP	TP	**172**	**Ü2AF3**	0,0937	VP	TP
83	**Ü3MP5**	0,0397	VP	KP	**173**	**Ü3AF3**	0,151	VP	TP
84	**Ü4MP5**	0,0085	TP	KP	**174**	**Ü4AF3**	0,0539	TP	VP
85	**Ü5MP5**	0,1817	VP	VP	**175**	**Ü5AF3**	0,1029	KP	KP
86	**Ü6MP5**	0,0176	KP	TP	**176**	**Ü6AF3**	0,0044	VP	VP
87	**Ü7MP5**	0,0476	TP	TP	**177**	**Ü7AF3**	0,0062	TP	VP
88	**Ü8MP5**	0,6786	VP	TP	**178**	**Ü8AF3**	0,0592	TP	VP
89	**Ü9MP5**	0,023	TP	TP	**179**	**Ü9AF3**	0,044	KP	VP
90	**Ü10MP5**	0,1008	VP	TP	**180**	**Ü10AF3**	0,1673	VP	VP

Tabelle A3: Die Ergebnisse des Übertragungsversuches mit Markierungen für Voll- und Teilprofile (VP, TP) in dunkel- und hellgrau mit besonderer Hervorhebung (Fett) der Spurenverursacher (SV) und Hauptkomponente (HK). Durchgang (Drg.) und Probandenzusammenstellung (PZ), KP (Kein Profil)

Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
1	**Ü1MP1**	0,0643	**VP/ SV**	KP	**91**	**Ü1MP2**	0,0434	**VP/ SV**	KP
2	**Ü2MP1**	0,0627	**VP/ SV**	KP	**92**	**Ü2MP2**	0,0105	KP	KP
3	**Ü3MP1**	0,00457	KP	KP	**93**	**Ü3MP2**	0,0537	**VP/ HK**	TP
4	**Ü4MP1**	0,0677	**VP/ SV**	KP	**94**	**Ü4MP2**	0,0705	**VP/ HK**	TP
5	**Ü5MP1**	0	**VP/ HK**	TP	**95**	**Ü5MP2**	0	**VP/ HK**	TP
6	**Ü6MP1**	0,00191	**VP/ HK**	TP	**96**	**Ü6MP2**	0,0023	KP	KP
7	**Ü7MP1**	0,01	TP	TP	**97**	**Ü7MP2**	0,0203	KP	KP
8	**Ü8MP1**	0,0707	**VP/ SV**	KP	**98**	**Ü8MP2**	0,0321	TP	KP
9	**Ü9MP1**	0,00158	KP	KP	**99**	**Ü9MP2**	0,0131	KP	KP
10	**Ü10MP1**	0	**VP/ HK**	TP	**100**	**Ü10MP2**	0,0219	**VP/ HK**	TP
11	**Ü1JA1**	0,0054	KP	KP	**101**	**Ü1JA2**	0,00733	KP	KP
12	**Ü2JA1**	0,0181	TP	KP	**102**	**Ü2JA2**	0,0537	TP	KP
13	**Ü3JA1**	0,00162	KP	KP	**103**	**Ü3JA2**	0,0081	KP	KP
14	**Ü4JA1**	0,0206	TP	KP	**104**	**Ü4JA2**	0,00153	KP	KP
15	**Ü5JA1**	0,0119	**VP/ SV**	KP	**105**	**Ü5JA2**	0,00124	**VP/ SV**	KP
16	**Ü6JA1**	0,00775	KP	TP	**106**	**Ü6JA2**	0,00279	KP	KP
17	**Ü7JA1**	0,00248	KP	KP	**107**	**Ü7JA2**	0,00157	KP	KP
18	**Ü8JA1**	0,00247	KP	KP	**108**	**Ü8JA2**	0,00748	KP	KP
19	**Ü9JA1**	0,00197	KP	KP	**109**	**Ü9JA2**	0,00171	KP	KP
20	**Ü10JA1**	0,0193	TP	KP	**110**	**Ü10JA2**	0,00369	TP	KP

Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
21	**Ü1MP3**	0,0057	KP	KP	**111**	**Ü1MP4**	0,0007	KP	KP
22	**Ü2MP3**	0,0317	**VP/ HK**	KP	**112**	**Ü2MP4**	0,0257	TP	KP
23	**Ü3MP3**	0,003	KP	KP	**113**	**Ü3MP4**	0,0516	**VP/ HK**	TP
24	**Ü4MP3**	0,1882	**VP/ HK**	TP	**114**	**Ü4MP4**	0,0289	TP	KP
25	**Ü5MP3**	0,2019	**VP/ HK**	TP	**115**	**Ü5MP4**	0,0744	**VP/ HK**	TP
26	**Ü6MP3**	0,0058	KP	KP	**116**	**Ü6MP4**	0,016	KP	TP
27	**Ü7MP3**	0,0102	KP	KP	**117**	**Ü7MP4**	0,0082	KP	KP
28	**Ü8MP3**	0,0122	**TP/HK**	KP	**118**	**Ü8MP4**	0,0296	TP	KP
29	**Ü9MP3**	0,0067	KP	KP	**119**	**Ü9MP4**	0,0028	KP	KP
30	**Ü10MP3**	0,155	**VP/ HK**	TP	**120**	**Ü10MP4**	0,0317	TP	TP
31	**Ü1IT1**	0,0221	TP	TP	**121**	**Ü1IT2**	0,0018	KP	KP
32	**Ü2IT1**	0,0108	TP	KP	**122**	**Ü2IT2**	0,0142	KP	KP
33	**Ü3IT1**	0,00413	KP	KP	**123**	**Ü3IT2**	0,0271	TP	KP
34	**Ü4IT1**	0	VP	VP	**124**	**Ü4IT2**	0,1058	**VP/ HK**	TP
35	**Ü5IT1**	0	VP	VP	**125**	**Ü5IT2**	0,0709	**VP/ HK**	TP
36	**Ü6IT1**	0,0033	KP	KP	**126**	**Ü6IT2**	0,0044	KP	KP
37	**Ü7IT1**	0,0232	TP	KP	**127**	**Ü7IT2**	0,0069	KP	TP
38	**Ü8IT1**	0,0173	KP	KP	**128**	**Ü8IT2**	0,6541	**VP/ HK**	TP
39	**Ü9IT1**	0	KP	TP	**129**	**Ü9IT2**	0,0086	KP	KP
40	**Ü10IT1**	0	VP	VP	**130**	**Ü10IT2**	0,0786	VP	VP
41	**Ü1DH1**	0,0063	TP	KP	**131**	**Ü1DH2**	0,0049	KP	KP
42	**Ü2DH1**	0,00286	KP	KP	**132**	**Ü2DH2**	0,00328	KP	KP
43	**Ü3DH1**	0,00236	KP	KP	**133**	**Ü3DH2**	0,0174	TP	KP
44	**Ü4DH1**	0,00405	KP	KP	**134**	**Ü4DH2**	0,00181	KP	TP

Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
45	**Ü5DH1**	0,00612	KP	KP	**135**	**Ü5DH2**	0,00876	TP	TP
46	**Ü6DH1**	0,00162	KP	KP	**136**	**Ü6DH2**	0	KP	KP
47	**Ü7DH1**	0,00203	KP	KP	**137**	**Ü7DH2**	0,00821	KP	KP
48	**Ü8DH1**	0,00166	KP	KP	**138**	**Ü8DH2**	0,00778	KP	KP
49	**Ü9DH1**	0,00243	KP	KP	**139**	**Ü9DH2**	0,00294	KP	KP
50	**Ü10DH1**	0	TP	TP	**140**	**Ü10DH2**	0	TP	TP
51	**Ü1AF1**	0,0012	KP	KP	**141**	**Ü1AF2**	0,0099	KP	KP
52	**Ü2AF1**	0,0147	KP	KP	**142**	**Ü2AF2**	0,0304	TP	TP
53	**Ü3AF1**	0,0085	KP	KP	**143**	**Ü3AF2**	0,0518	TP	KP
54	**Ü4AF1**	0,1355	**VP/ HK**	TP	**144**	**Ü4AF2**	0,006	KP	KP
55	**Ü5AF1**	0,0251	TP	TP	**145**	**Ü5AF2**	0,027	TP	KP
56	**Ü6AF1**	0,0013	KP	KP	**146**	**Ü6AF2**	0,0009	KP	KP
57	**Ü7AF1**	0,008	KP	KP	**147**	**Ü7AF2**	0,009	KP	TP
58	**Ü8IAF1**	0,0076	KP	TP	**148**	**Ü8AF2**	0,0103	TP	KP
59	**Ü9AF1**	0,0082	KP	KP	**149**	**Ü9AF2**	0,002	KP	KP
60	**Ü10AF1**	0,0252	TP	**VP/ HK**	**150**	**Ü10AF2**	0,0334	TP	TP
61	**Ü1MP6**	0,0113	KP	KP	**151**	**Ü1IT3**	0,0243	KP	TP
62	**Ü2MP6**	0,0877	**VP/ HK**	KP	**152**	**Ü2IT3**	0,0021	KP	KP
63	**Ü3MP6**	0,0955	**VP/ HK**	KP	**153**	**Ü3IT3**	0,044	**VP/ HK**	KP
64	**Ü4MP6**	0,4063	**VP/ HK**	TP	**154**	**Ü4IT3**	0,0488	TP	**VP/ HK**
65	**Ü5MP6**	1,1539	**VP/ HK**	TP	**155**	**Ü5IT3**	0,061	VP	VP
66	**Ü6MP6**	0,0002	KP	KP	**156**	**Ü6IT3**	0,0045	KP	KP
67	**Ü7MP6**	0,0607	TP	TP	**157**	**Ü7IT3**	0,0013	KP	KP
68	**Ü8MP6**	0,0468	**VP/ HK**	KP	**158**	**Ü8IT3**	0,1054	VP	VP

Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender	Drg - PZ		Konz.	Übertr.	Spender
69	**Ü9MP6**	0,0157	KP	KP	**159**	**Ü9IT3**	0,0331	KP	**VP/ SV**
70	**Ü10MP6**	0,0714	TP	TP	**160**	**Ü10IT3**	0,0735	TP	**VP/ HK**
71	**Ü1JA3**	0,0021	KP	KP	**161**	**Ü1DH3**	0,0006	KP	KP
72	**Ü2JA3**	0,0019	KP	KP	**162**	**Ü2DH3**	0,0019	KP	KP
73	**Ü3JA3**	0,0108	KP	KP	**163**	**Ü3DH3**	0,0007	KP	KP
74	**Ü4JA3**	0,0913	TP	**VP/ HK**	**164**	**Ü4DH3**	0,3399	TP	TP
75	**Ü5JA3**	0,0836	**VP/ HK**	TP	**165**	**Ü5DH3**	2,5723	VP	VP
76	**Ü6JA3**	0,0006	KP	KP	**166**	**Ü6DH3**	0,0172	KP	**TP/HK**
77	**Ü7JA3**	0,0118	**TP/HK**	KP	**167**	**Ü7DH3**	0,0023	KP	KP
78	**Ü8JA3**	0,0046	TP	TP	**168**	**Ü8DH3**	0,0078	KP	KP
79	**Ü9JA3**	0,0346	KP	TP	**169**	**Ü9DH3**	0,0102	KP	TP
80	**Ü10JA3**	0,0209	TP	KP	**170**	**Ü10DH3**	0,1671	VP	VP
81	**Ü1MP5**	0,0183	TP	KP	**171**	**Ü1AF3**	0,1641	KP	**VP/ SV**
82	**Ü2MP5**	0,0237	TP	TP	**172**	**Ü2AF3**	0,0937	**VP/ HK**	TP
83	**Ü3MP5**	0,0397	**VP/ HK**	KP	**173**	**Ü3AF3**	0,151	**VP/ HK**	TP
84	**Ü4MP5**	0,0085	TP	KP	**174**	**Ü4AF3**	0,0539	TP	**VP/ HK**
85	**Ü5MP5**	0,1817	VP	VP	**175**	**Ü5AF3**	0,1029	KP	KP
86	**Ü6MP5**	0,0176	KP	TP	**176**	**Ü6AF3**	0,0044	VP	VP
87	**Ü7MP5**	0,0476	TP	TP	**177**	**Ü7AF3**	0,0062	TP	**VP/ HK**
88	**Ü8MP5**	0,6786	**VP/ HK**	TP	**178**	**Ü8AF3**	0,0592	TP	**VP/ HK**
89	**Ü9MP5**	0,023	TP	TP	**179**	**Ü9AF3**	0,044	KP	**VP/ SV**
90	**Ü10MP5**	0,1008	**VP/ HK**	TP	**180**	**Ü10AF3**	0,1673	VP	VP

7.1 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
A	Adenin
Abb.	Abbildung
abh.	abhängig
Aqua dest	lat. Aqua destillatum, destilliertes Wasser
BKA	Bundeskriminalamt
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
ca.	circa
CC5	Fluoreszenzfarbstoff
cm	Zentimeter
CXR-ET	Fluoreszenzfarbstoff
DAD	DNA-Analysedatei
DNA	eng.: Desoxyribonucleic- acid (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxyribonucleosid-triphosphate
Drg.	Durchgang
EBA	Hettich Zentrifuge
EDTA	Ethyldiaminessigsäure
eng.	englisch
et al.	et alia, lat.: und andere
FGA	STR-Locus
FMG	Familienmitglied
FRET	eng. Fluoreszence Resonance Energy Transfer, Fluoreszenz-Energietransfer
G	Guanin
HK	Hauptkomponente
HLA	Human Leukocyte Antigen
HPLC	eng: high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkkeits-chromatographie
HSL	Hauptspurenleger
JOE	2,7-Dimethoxy-4,5-Dichloro-6-Carboxyfluorescein
Kap.	Kapitel
Konz.	Konzentration
KP	kein Profil
kV	Kilovolt
L	large, Kleidergröße
m	männlich
M	medium, Kleidergröße
min	Minute
mind.	mindestens
n.a.	nicht auswertbar

NaCl	Natriumchlorid
nat.	naturalium
ng	Nanogramm
PCR	eng: polymerase chain reaction, Polymerase-Kettenreaktion
pg	Pikogramm
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität (dimensionslose Zahl)
PPESX®17	PowerPlex®ESX 17
PZ	Probandenzusammenstellung
RFU	eng. Relative Fluorescence Unit
RNA	eng. Ribonucleic-acid, Ribonukleinsäure
SDS	Natrium-Dodecylsulfat
sec.	Sekunde
sog.	sogenannt
STR	Short-Tandem-Repeat
SV	Spurenverursacher
T	Thymin
Taq	lat. thermophilus aquaticus, hitzestabil
TMR-ET	6-Carboxy-Tetramethyl-Rhodamin
TP	Teilprofil
U	eng. unit, Enzymeinheit
Übertr.	Überträger
Univ.	Universität
v	vorne (Brustteil) - vorne
VP	Vollprofil
w.	weiblich
z.B.	zum Beispiel

8 Danksagung

Mein erster Dank gilt meinem Institutsprofessor, Herrn Prof. Dr. med. Thomas Bajanowski, für die Möglichkeit am Institut für Rechtsmedizin neben meiner Tätigkeit als Assistenzärztin und wissenschaftlichen Mitarbeiterin zu promovieren und auch Teile meiner Arbeitszeit für die Fertigstellung dieser Arbeit zu Nutzen.

Ganz besonderen Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. rer. nat. Micaela Poetsch für die Bereitstellung und Ausarbeitung meines Promotionsthemas. Danke für die zahlreichen praktischen und wissenschaftlichen Hilfestellungen, danke für dein Fordern und Fördern, danke für dein immer offenes Ohr und deine Geduld.

Danke an die Mitarbeiter der forensischen Molekulargenetik, Heike Schäfer und Birgit Perrey, die mir das Arbeiten im Labor näherbrachten und mir beim praktischen Teil der Arbeit mit Rat und Tat zur Seite standen. Zusätzlichen Dank an die Biologiestudentin, Helen Konrad, für die Unterstützung bei der DNA-Quantifizierung.

Vielen Dank an die Mitarbeiter des rechtsmedizinischen Instituts und deren Familien, die mich mit ihren Sammlungen an Kleidungsstücken tatkräftig unterstützt haben.

Meinen Kollegen ein herzliches Dankeschön für das fleißige Rückenstärken, während ich im Labor und nicht im Obduktionssaal stand. Besonders an meine Kollegen Iliana Tzimas und Dr. Andreas Freislederer, die sich für mich sogar den Nacken wundrubbelten.

Liebe Sally, auch dir ein großes Dankeschön für deine Mühe des Korrekturlesens.

Lieben Dank an meine Eltern, die jederzeit für mich da sind und mir das Medizinstudium ermöglicht haben.

Einen großen Dank auch an meinen Ehemann, Dominic, der mich immer und in jeder Hinsicht unterstützt.

9. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.