

Mai 1998
Nr. 50

Der Verein «Forschung für Leben» informiert:

Die Anwendung der Gentechnologie in der Rechtsmedizin

Prof. Dr. med. Walter Bär
Dr. phil. Adelgunde Kratzer

_____Impressum

Der Verein «Forschung für Leben», gegründet 1990, bezweckt die Information der Bevölkerung über die Ziele und die Bedeutung der biologisch-medizinischen Forschung. Er bringt den Nutzen, aber auch die Gefahren, die sich aus der Forschung ergeben, einfach und klar zur Sprache und baut durch Aufklärung Ängste und Misstrauen ab.

«Forschung für Leben» besteht aus gegen 200 Mitgliedern und Gönnermitgliedern. Die Einzelmitgliedschaft beträgt jährlich Fr. 50.–, die Gönnermitgliedschaft Fr. 500.–.

Bei Interesse oder für weitere Informationen kontaktieren Sie bitte die Geschäftsstelle:
Verein «Forschung für Leben»
Postfach, 8033 Zürich
Geschäftsführerin: Dr. Regula Pfister
Tel. 01 361 49 47, Fax 01 361 53 32
E-Mail: vffleben@access.ch
Internet: <http://www.access.ch/vffleben>

Gentechnologie in der Rechtsmedizin

___ Individuelles DNA-Profil für jeden Menschen

Die Rechtsmedizin befasst sich nicht nur mit spektakulären Todesfällen, wie dies in der Volksmeinung angenommen und durch wöchentliche Krimiserien am Fernsehen immer wieder bestätigt wird. Seit vielen Jahren unterstützt das Institut für Rechtsmedizin an der Universität Zürich-Irchel Ermittlungsbehörden und Ämter, aber auch alle Bürgerinnen und Bürger bei der Klärung rechtlicher Fragen, wo dies mit gentechnologischen Methoden möglich geworden ist.

Es handelt sich dabei vor allem um Fragen der Abstammung, allgemein besser als Vaterschaftsgutachten bekannt, und um die Untersuchung von Sekreten, die als Spuren am Tatort zurückbleiben. Dabei stützen sich alle Untersuchungen auf «genetische» Informationen, die interessanterweise eigentlich stumm sind, d.h. die untersuchten DNA-Abschnitte vermitteln keine genetische Botschaft, sie unterscheiden sich lediglich in ihrer Länge. Somit müssen in keinem Fall genetisch bestimmte Persönlichkeitsmerkmale offengelegt werden. Diesbezüglich sind rechtsmedizinische Anwendungen solcher Untersuchungen also neutral. Der nachweisbare Längenpolymorphismus (sog. Mini- oder Mikrosatellitenpolymorphismen) ist aber derart gross, dass jedes Individuum sein einmaliges DNA-Profil besitzt, welches in der Bevölkerung nur noch bei einem eineiigen Zwillingsgeschwister in gleicher Art vorkäme.

Die medizinisch-naturwissenschaftliche Begutachtung der Vaterschaft ist seit vielen Jahren etabliert. Sie hat in den letzten Jahren eine enorme Entwicklung erfahren. Die eingesetzten Methoden verlagerten sich immer mehr von der klassischen Blutgruppenserologie in Richtung hochspezialisierter, moderner Verfahren der Molekularbiologie. Seit Mitte 1991 werden an allen rechtsmedizinischen Instituten der Schweiz ausschliesslich DNA-Analysen zur Lösung strittiger Abstammungsverhältnisse eingesetzt.

___ DNA-Polymorphismen

Die DNA (Desoxyribonukleinsäure) ist in Form einer doppelsträngigen Spirale, aufgebaut aus vier Grundbausteinen, den Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin, in allen Zellkernen der Körperzellen enthalten. Im Doppelstrang stehen sich in strenger Komplementarität stets die Basen Adenin und Thymin (A=T), respektive Cytosin und Guanin (C=G) paarweise gegenüber. Nur 3–5% der aus 3 Milliarden Grundbausteinen aufgebauten DNA repräsentieren die eigentlichen Erbfaktoren (Gene). Die restlichen 95% der DNA bleiben stumm. Da die DNA-Merkmale an die Nachkommen vererbt werden, eignen sie sich hervorragend für die Abklärung strittiger Abstammungsverhältnisse.

Die DNA-Polymorphismen lassen sich in zwei Gruppen unterteilen, in Sequenzpolymorphismen und in Fragmentlängenpolymorphismen. Die Sequenzpolymorphismen beruhen auf dem Austausch

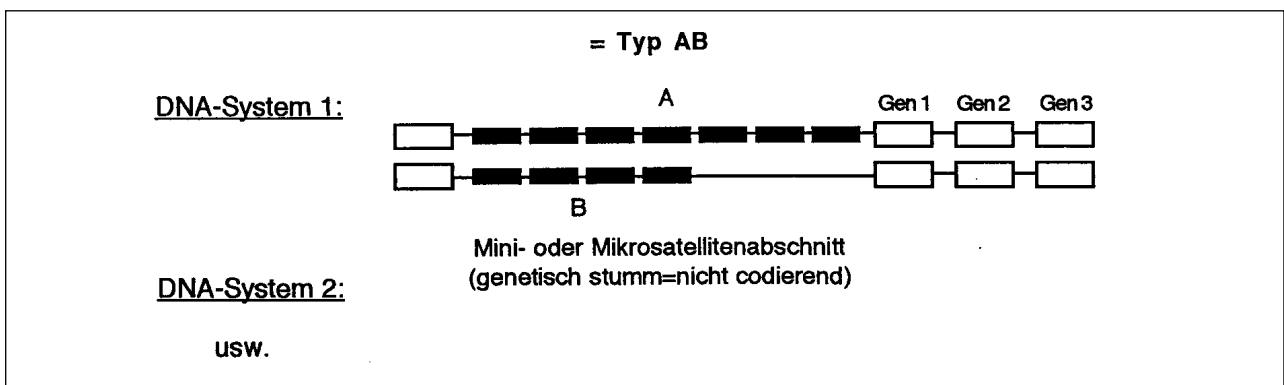


Abbildung 1 Schema eines DNA-Längenpolymorphismus. Die Kombination mehrerer solcher DNA-Einzelsysteme ergibt ein individuelles DNA-Profil. Der Strang A wurde z.B. vom Vater, der andere Strang B von der Mutter vererbt.

einzelner Basen. Im Mittelpunkt der forensischen Hämogenetik stehen aber die Fragmentlängenpolymorphismen der hochpolymorphen VNTR-Loci (= variable number of tandem repeats). Ihre genetische Variabilität beruht darauf, dass innerhalb der DNA Abschnitte existieren, die eine unterschiedliche Anzahl kurzer repetitiver, d.h. sich wiederholender DNA-Sequenzblöcke enthalten (*Abbildung 1*). Solche repetitiven Sequenzbereiche mit tandemartiger Organisation werden auch als Satelliten-DNA bezeichnet. Man unterscheidet je nach Länge der sich wiederholenden Einheiten zwischen Minisatelliten (100-300 Basenpaaren, bp) und Mikrosatelliten (1-6 bp). Der Nachweis der Minisatelliten erfolgt mit sogenannten DNA-Single-Locus-Sonden; die Darstellung der Mikrosatelliten geschieht hauptsächlich mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR). Vaterschaftsanalysen werden in der Regel mit DNA-Single-Locus-Systemen durchgeführt. Mittlerweile werden aber immer häufiger, so z.B. in schwierigen Defizienz- oder Verwandtenfällen die Untersuchungen mit PCR-abhängigen Polymorphismen erweitert.

— Vaterschaftsabklärung – praktische Durchführung

Der wichtigste Schritt bei Beginn der Untersuchung ist die genaue Identifikation der Beteiligten (durch gültige Ausweispapiere) und deren Bestätigung, dass die Blutentnahmeröhrchen korrekt beschriftet wurden. Die DNA-Extraktion und die anschließenden DNA-Analysen mit Single-Locus-Sonden oder PCR-Systemen werden immer im Doppel von zwei Personen unabhängig voneinander durchgeführt.

Für die DNA-Analysen sind wenige Milliliter ungeronnenem (mittels EDTA) Blut von der Kindesmutter, dem Kind und vom vermeintlichen Vater erforderlich. Die Blutentnahmen beim Kind können schon bei der Geburt, z.B. aus Nabelschnurblut vorgenommen werden. Die Wartezeit von bislang 6 Monaten entfällt, es sei denn medizinische oder technische Gründe liessen die Blutentnahme zu einem früheren Zeitpunkt beim Kinde nicht zu.

Die DNA-Analysen lassen sich aber auch an anderem zellkernhaltigem Material durchführen. Mit der Einführung der Polymerasekettenreaktion wur-

de es zudem möglich, geringste Mengen biologischen Materials (z.B. Haarwurzeln) oder teilweise schon degradierte DNA noch zu typisieren. In Fällen mit verstorbenen Beteiligten kann an wenig Restgewebe, das häufig für feingewebliche oder toxikologische Untersuchungen amtlich aufbewahrt wird, eine DNA-Analyse durchgeführt werden.

— Die Analyse

Mit chemiko-physikalischen Verfahren (Proteinase K-Lyse/Phenol/Chloroform Extraktion) wird aus den kernhaltigen weissen Blutzellen intakte, sog. hochmolekulare Desoxyribonukleinsäure (DNA) isoliert. Anschliessend wird die DNA mit einem Enzym, einer sog. Restriktionsendonuclease, an spezifischen Stellen in unzählige kleinere Stücke zerschnitten. Bei der DNA-Analyse zur Darstellung von Minisatelliten wählt man eine Restriktionsendonuclease, die flankierend an den Minisatelliten, aber nicht innerhalb dieser schneidet, da sonst die Längenvariabilität kaum noch interpretiert werden könnte. Aufgrund ihrer negativen Ladung können die verschieden langen DNA-Stücke mittels Agarosegel-Elektrophorese nach Länge sortiert werden. Zur optischen Erfassung solcher Minisatelliten wird eine natürliche Eigenschaft der DNA ausgenutzt. Durch Erhitzen zerfällt die DNA in die beiden

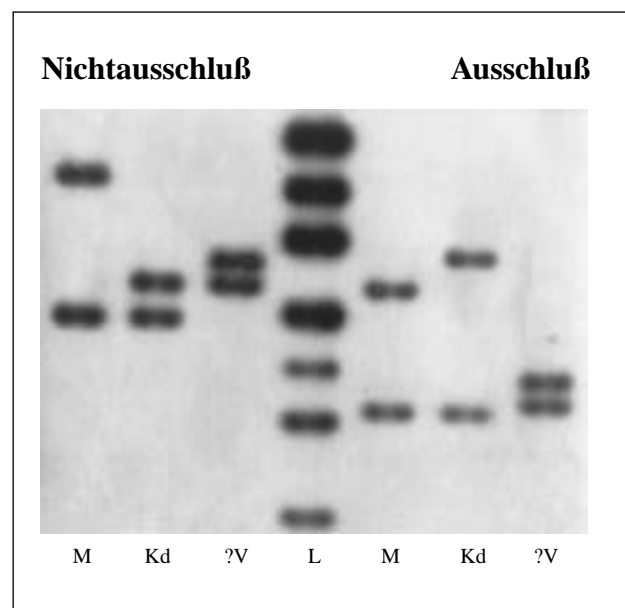


Abbildung 2 DNA-Analyse mit der Single-Locus-Sonde MS31; M = Mutter; Kd = Kind; ?V = Putativvater, L = Längenstandard

Einzelstränge. In kühlerer Umgebung bilden sich die Einzelstränge wieder in perfekter Komplementarität zum Doppelstrang zurück. Bringt man nun ein kurzes, zuvor z.B. radioaktiv markiertes DNA-Stück zu den einzelsträngigen DNA-Fragmenten, so lagert sich das kurze DNA-Stück dort an den Einzelstrang, wo es spiegelbildlich hinpasst.

Solche kurzen, für diagnostische Zwecke markierten DNA-Stücke bezeichnet man als DNA-Sonden. Besteht eine DNA-Sonde aus Minisatelliten, so wird sie sich an alle DNA-Fragmente, die Minisatelliten der gleichen Art enthalten, anlagern und sie dort markieren. Ein aufgelegter Röntgenfilm wird an Stellen, wo Minisatelliten liegen und somit auch radioaktiv markierte Sonde gebunden ist, angehärtet und das Strichmuster kann schliesslich auf dem Film beurteilt werden. In der Regel – aufgrund des extremen Polymorphismus – finden sich Muster aus zwei Banden (Mischerbigkeit); solche aus einer Bande bedeuten Reinerbigkeit (selten).

Die sog. Mischerbigkeitsraten liegen je nach Art von Minisatellitenpolymorphismus zwischen etwa 80 – 97%. Die Kombination der Ergebnisse von vier voneinander unabhängigen DNA-Sonden genügt, um eine Individualisierung jeder Person – ausser eineiigen Zwillingen – zu erreichen. Die allgemeine Vaterschafts-Ausschlusschance erreicht für unverwandte Putativväter zudem praktisch 100%.

___Auswertung von DNA-Analysen in der Vaterschaftsbegutachtung

Die Auswertung erfolgt nach einfachen Erbgeln: Die kindliche DNA stammt je zur Hälfte von der Mutter und vom leiblichen Vater, d.h. eines der beiden DNA-Merkmale im DNA-Muster des Kindes stammt von der Mutter, das andere muss vom leiblichen Vater stammen.

Der Nichtausschluss wie auch der Ausschluss ist auf dem Röntgenfilm von Auge direkt erkennbar (*Abbildung 2*). Das visuelle Resultat wird objektiviert durch die computerunterstützte Messung der Bandenlänge, die die Feststellung der Bandenhäufigkeit gestattet. Diese Häufigkeiten wurden für alle angewendeten DNA-Systeme anhand einer mindestens 400 nicht verwandte Personen umfassenden Stichprobe für die Schweizer Bevölkerung erhoben.

Es werden jeweils vier verschiedene voneinander unabhängige DNA-Single-Locus-Systeme bei Mutter, Kind und vermutetem Kindsvater untersucht. Besteht in allen vier Merkmalsystemen eine Übereinstimmung zwischen einer Bande des fraglichen Vaters und jener Bande des Kindes, die vom leiblichen Vater stammen muss, ist der untersuchte Mann von der Vaterschaft nicht ausgeschlossen. Seine Vaterschaftswahrscheinlichkeit kann anschliessend biostatistisch berechnet werden.

___PCR-Systeme

Die Polymerasekettenreaktion (engl. PCR) gestattet, selektiv spezifische, kurze DNA-Abschnitte, die von zwei bekannten DNA-Sequenzen (sogenannten Primern) eingerahmt werden, millionenfach zu vermehren.

Die PCR-Technik ist die Methode der Wahl geworden, um Mikrosatelliten-Polymorphismen darzustellen, die zunehmend auch in der Vaterschaftsdiagnostik angewendet werden. Hierzu gehören die sogenannten STR-Systeme (Short Tandem Repeats), die repetitive Sequenzen, in der Regel vier Basenpaare, enthalten. Die Amplifikationsprodukte der STR-Systeme weisen Fragmentlängen zwischen 120 und 350 bp auf, die wiederum gelelektrophoretisch aufgetrennt werden; ihre Sichtbarmachung kann durch verschiedene Techniken erfolgen: durch Silberfärbung oder Markierung der PCR-Produkte mit ³²P, Biotin oder mit Fluoreszenzfarbstoffen und anschliessendem Lasernachweis.

Abbildung 3 zeigt das Ergebnis von Vaterschaftsanalysen mit den 3 PCR-Systemen SE33, D21S11 und TC11. Die Markierung der PCR-Produkte mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen ermöglicht die gleichzeitige Analyse und Darstellung von mindestens drei verschiedenen PCR-Systemen auf einem Gel.

Die Vorteile der PCR-Methode gegenüber der Single-Locus-Technik liegen in der raschen Durchführbarkeit und in der Tatsache, dass noch kleinste Mengen genomischer DNA analysiert werden können. Nachteilig wirkt sich dagegen aus, dass die PCR-Systeme im Vergleich zu den Single-Locus-Systemen in der Regel einen geringeren Polymorphismus aufweisen. Ihre Beweiskraft und Ausschlussleistung ist deshalb geringer.

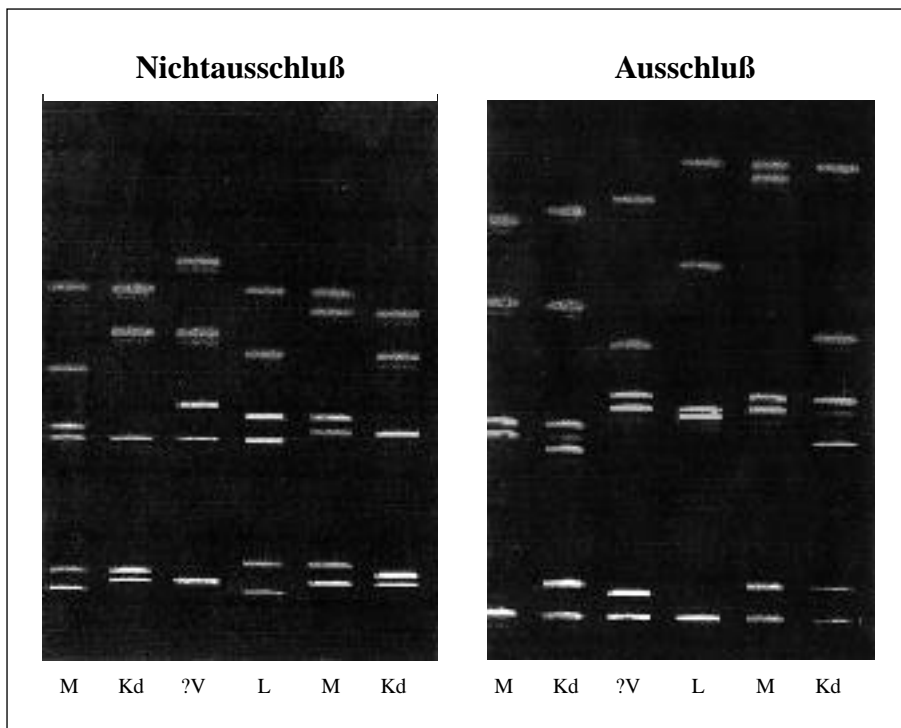


Abbildung 3
Vaterschaftsabklärung mit
den 3 PCR-Systemen SE33,
D21S11 und TC11 (von oben
nach unten); M = Mutter;
Kd = Kind; ?V = Putativvater.

PCR-Systeme werden deshalb vorerst vor allem als Ergänzung zu den Single-Locus-Systemen in Defizienzfällen eingesetzt oder in Fällen, in denen nicht genügend Untersuchungsmaterial für die Durchführung von Single-Locus-Systemen oder nur noch degradierte DNA zur Verfügung steht.

___ Biostatistik und Aussagekraft der DNA-Analysen

Im Falle eines Nichtausschlusses sind die Ergebnisse der DNA-Analysen bezüglich ihres Beweiswertes statistisch zu quantifizieren. Voraussetzung hierfür ist die Kenntnis der DNA-Merkmalverteilung der verwendeten Polymorphismen. Diese müssen aus repräsentativen, d.h. genügend grossen adäquaten Populationsstichproben nicht verwandter Individuen ermittelt werden.

In einfachen Terzettfällen (Mutter, Kind und Putativvater) erfolgt die biostatistische Auswertung nach *Essen-Möller*. 1986 war am Gerichtsmedizinischen Institut der Universität Zürich nur in 76% der Nichtausschlussfälle der positive Vaterschaftsbeweis erbracht. Die resultierende Vaterschaftswahrscheinlichkeit liegt bei Anwendung von vier DNA-Single-Locus-Systemen in der Regel immer über dem bundesgerichtlich geforderten Wert von 99.8% (= Vaterschaft praktisch erwiesen), d.h. die DNA-Analysen führen in einfachen Terzett-

fällen immer zu einem rechtsgenügenden Ergebnis. Mit vergleichbarem Aufwand sind solche Schlussfolgerungen derzeit mit keiner anderen Methodik erreichbar.

Ausschluss von der Vaterschaft

Ein Ausschluss liegt vor, wenn beim Kind ein DNA-Merkmal nachgewiesen wird, das weder bei der Mutter noch beim untersuchten Mann vorhanden ist. Besteht in mindestens zwei der untersuchten DNA-Merkmalssysteme eine Übereinstimmung zwischen Kind und vermutetem Vater, ist der untersuchte Mann mit Sicherheit von der Vaterschaft auszuschliessen.

Die Ausschlüsse sind auf dem Röntgenfilm problemlos erkennbar; bei Anwendung von vier DNA-Systemen treten im Terzettfall immer Mehrfachausschlüsse auf.

___ Ethische Aspekte von DNA-Analysen

Es ist auch möglich, fötales Gewebe nach einem Abort zu untersuchen: so kann z.B. nach einer Vergewaltigung mit Schwängerung, die heute in der Regel zu einer Interruptio führt, indirekt über eine Vaterschaftsanalyse am fötalen Gewebe der Täter identifiziert werden.

Pränatale Vaterschaftsdiagnostik ist zwar grundsätzlich möglich, wird aber aus ethischen

Gründen nur dann durchgeführt, wenn einerseits die dafür nötige Chorionbiopsie nicht allein aus diesem Grund erfolgt, sondern für den Eingriff eine klare medizinische Indikation (z.B. Verdacht auf Missbildung) vorliegt und andererseits eine für das Kind negative Interessenänderung der Frau je nach Ergebnis der DNA-Analyse nicht zur Diskussion steht.

Es ist dank der DNA-Technologie möglich geworden, einerseits alle Männer, die nicht Vater eines Kindes sind, mit Sicherheit von einer Vaterschaft auszuschliessen und andererseits den biologischen Vater mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit zu bezeichnen. Die rechtliche Situation des Kindes und auch der Mutter ist damit einschneidend verbessert worden. Auch wesentlich schwierigere Abstammungsfälle, etwa bei verstorbenen Beteiligten oder verwandten fraglichen Vätern (z.B. Brüdern) können nun mit Erfolg durch Einbezug weiterer Verwandter begutachtet werden. Selbst nachträgliche Identifikationen von Verstorbenen sind mit dieser Methodik möglich geworden. Berühmtestes und berüchtigtes Beispiel war 1992 die Identifizierung des Auschwitz-Arztes Josef Mengele durch englische Wissenschaftler.

___Spurenuntersuchung bei Verbrechen

Aufgrund ihrer Individualität eignen sich solcher DNA-Profile auch hervorragend für die Untersuchung von Kriminalspuren, dem zweiten Einsatzgebiet gentechnologischer Erkenntnisse in der Forensik. (Abbildung 4)

Da die DNA in allen Zellkernen vorhanden ist, können aus Blutspuren, Speichel- und Spermaspuren, aber auch aus Haarwurzelzellen, Knochenfragmenten usw. individuelle DNA-Profile gewonnen werden, die im Vergleich den Spurenverursacher und somit unter Umständen den Täter bezeichnen lassen. Mit der sog. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) gelingt es mittlerweile auch an geringsten Mengen (einige Milliardstelgramm DNA genügen) und selbst an durch Umwelteinflüsse degradierten Kriminalspuren aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

DNA-Profil:	Blutspur	Beschuldigter 1	Beschuldigter 2
DNA-System 1	=====	=====	=====
DNA-System 2	=====	=====	=====
DNA-System 3	=====	=====	=====
DNA-System 4	=====	=====	=====
DNA-System 5	=====	=====	=====
DNA-System 6	=====	=====	=====

Abbildung 4
DNA-Analyse an Blutspur ab zerbrochener Fensterscheibe nach einem Einbruch. Das DNA-Profil in der Spur zeigt Übereinstimmung mit dem Beschuldigten 1. Aufgrund der Individualität des Profils in der Bevölkerung ist Beschuldigter 1 als Spurengeber überführt. Beschuldigter 2 kann hingegen mit Sicherheit als Spurengeber ausgeschlossen werden, weil er das notwendige DNA-Profil nicht besitzt.

Verantwortlich für die Redaktion dieses Beitrages:

Prof. Dr. med. Walter Bär
Dr. phil Adelgunde Kratzer
Institut für Rechtsmedizin
Universität Zürich-Irchel
Winterthurerstrasse 190, 8057 Zürich
Tel. 01 635 56 11, Fax 01 635 68 51
E-Mail: baer@irm.unizh.ch

Nachdruck mit Quellenangabe gestattet.