

## Laborjournal

### KEIN TATORT OHNE DNA - Genetischer Fingerabdruck



Oft hinterlassen Täter nicht nur normale Fingerabdrücke, sondern auch andere biologische Spuren wie z.B. Haare oder Blut am Tatort. Aus diesen Spuren ist es nun möglich, DNA zu isolieren und einen genetischen Fingerabdruck zu erstellen. Für einen genetischen Fingerabdruck werden derzeit zwischen acht und fünfzehn Abschnitte der DNA analysiert, die dann mit denen der Verdächtigen verglichen werden können.

In diesem Experiment schlüpfst du in die Rolle von KriminalbiologInnen. Erstelle genetische Fingerabdrücke aus DNA-Spuren um einen außergewöhnlichen Diebstahl aufzuklären. DNA wird aus Mundabstrichen gewonnen. Mittels Polymerase Ketten Reaktion (PCR) und anschließender DNA-Chip Analyse werden genetische Fingerabdrücke angefertigt. Vergleiche die DNA-Profile der "Verdächtigen" mit den "biologischen Spuren" um den TäterInnen auf die Spur zu kommen!

Datum .....

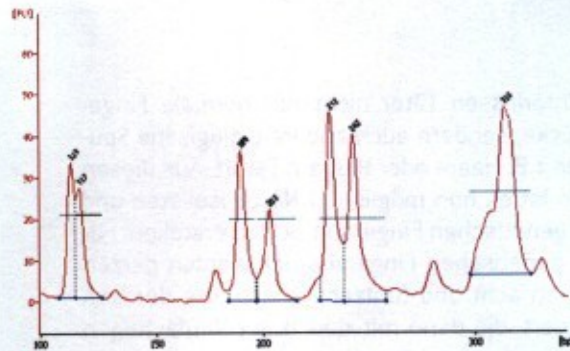
Name .....

*Pylon Kankis*

## Kein Tatort ohne DNA – der genetische Fingerabdruck

Finden ErmittlerInnen an einem Tatort oder Tatwerkzeug biologische Spuren, z.B. Haare oder Blut, so können sie daraus einen genetischen Fingerabdruck erstellen. Wie auch der „normale“ Fingerabdruck dient der genetische Fingerabdruck dazu, eine Person eindeutig zu identifizieren. Er besteht aus der Kombination gewisser Merkmale in der Erbsubstanz (DNA) eines Menschen. Praktisch alle biologischen Spuren (Blut, Speichel, Hautzellen, Sperma, Haarwurzeln) lassen sich untersuchen und mittels Vergleichsprobe einer Person zuordnen.

Wenn eine ausgewertete DNA-Spur und das DNA-Profil einer verdächtigen Person übereinstimmen, kommt diese als TäterIn in Betracht, andernfalls können die KriminalistInnen den/die Verdächtige/n von ihrer Liste streichen. Andererseits können auch Opfer oder deren Spuren identifiziert werden, und so hätte ein stecknadelkopf-kleiner Blutspritzer des Opfers Jenny Towler auf dem Handschuh des Verdächtigen Mackie M. letzteren wohl in den Tower von London gebracht<sup>1</sup>. Mit dem Vergleich genetischer Fingerabdrücke können KriminalistInnen ebenso herausfinden, ob bei verschiedenen Tatorten dieselben Personen ihre Spuren hinterlassen haben - müssen sie nach einem/einer EinzeltäterIn fahnden, nach einer Gruppe, oder waren es vielleicht unabhängige Vergehen.



### Weitere Anwendungsgebiete

Genetische Fingerabdrücke sind aber nicht nur in der Forensik<sup>2</sup> sehr hilfreich. Sie werden auch eingesetzt, um Katastrophenopfer zu identifizieren, oder um Verwandtschaftsverhältnisse zu prüfen, z.B. beim Vaterschaftstest oder in der Ahnenforschung. Bei einer Dopingkontrolle kann man bestimmen, ob die vorliegende Urinprobe tatsächlich vom Athlet oder von der Athletin stammt und nicht unappetitlich mit Fremdurin getrickst wurde. Auch im Natur- und Artenschutz, sowie bei Lebensmittelkontrollen helfen genetische Fingerabdrücke den ErmittlerInnen. So wurden Walfleischsmuggler überführt, die ihre verbotene Ware als "Shrimps" deklariert hatten.



#### Schon gewusst?



##### Schwein oder Emu?

Genetische Fingerabdrücke werden auch genutzt, um ungewöhnlichere Analysen durchzuführen:

So entpuppte sich nach einer DNA-Typisierung das Innenleben eines "Emu-Gourmet-Hamburgers" als gewöhnliches faschierendes Fleisch, und in Deutschland befand man "Shrimps" als gepresstes, gewürztes und gefärbtes Fischmehl.

<sup>1</sup> B. Brecht, Dreigroschenoper

<sup>2</sup> So nennt man jene Arbeitsgebiete, in denen kriminelle Handlungen identifiziert bzw. ausgeschlossen, analysiert oder rekonstruiert werden.

## Wie funktioniert ein genetischer Fingerabdruck?

Jeder Mensch besitzt individuelle Merkmale, auch sein Genom<sup>3</sup> ist einzigartig. Selbst wenn der Großteil der DNA-Sequenz zweier Personen identisch ist, gibt es bestimmte Bereiche, die sehr große Unterschiede zeigen. Diese Abschnitte liegen in "nichtcodierenden" DNA-Bereichen<sup>4</sup>. Aktuell werden für genetische Fingerabdrücke vor allem STR-Marker<sup>5</sup> als genetische Kennzeichen verwendet. STRs sind direkt aufeinander folgende Wiederholungen kurzer Nukleotidabfolgen<sup>6</sup>. Die Anzahl der Wiederholungen dieser 4-5 Nukleotide ist von Mensch zu Mensch unterschiedlich<sup>7</sup>. Mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) werden die STR-Regionen aus dem Genom „herauskopiert“. Anschließend wird die Länge der PCR-Kopien bestimmt, die sich nach der Anzahl der Wiederholungen unterscheidet (siehe Abbildung 1).

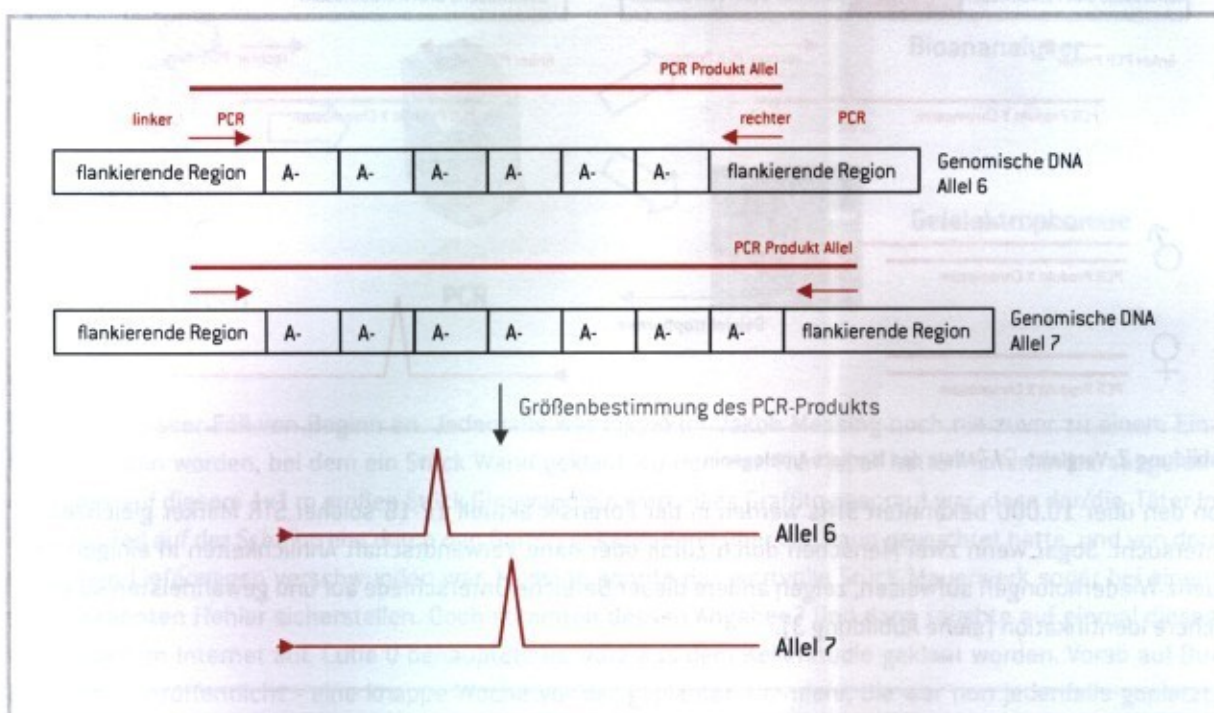


Abbildung 1: Vergleich Allel 6 – Allel 7 des Markers CSF1PO

Jeder Mensch trägt einen doppelten Chromosomensatz, d.h. außer bei den Geschlechtschromosomen (X und Y) ist jeder Bereich der Erbinformation genau zweimal vorhanden. Diese beiden Kopien können genau gleich sein oder Unterschiede zeigen. Man spricht dann von gleichen oder unterschiedlichen Allelen<sup>8</sup>. Auch für jeden STR-Marker kann man also zweimal das gleiche Allel tragen oder zwei verschiedene Allele mit unterschiedlicher Länge<sup>9</sup>.

<sup>3</sup> Als Genom bezeichnet man die gesamte Erbinformation eines Lebewesens.

<sup>4</sup> Als "nichtcodierende DNA Bereiche" bezeichnet man Bereiche zwischen den Genen, d.h. diese DNA Sequenzen enthalten keine Informationen über den Bauplan des Körpers, die physische Verfassung, etc.

<sup>5</sup> STR von englisch: Short - kurz, Tandem - im Sinne von hintereinander, Repet - Wiederholungen.

<sup>6</sup> Nukleotide sind die Grundbausteine der DNA.

<sup>7</sup> Man bezeichnet dies auch als polymorph (was soviel wie "viele Formen" bedeutet).

<sup>8</sup> Ein Allel (von griechisch *allélon* "einander", "gegenseitig") bezeichnet eine mögliche Ausprägung eines Gens oder einer nichtcodierenden Sequenz. Beispielsweise sind die verschiedenen Blutgruppeneigenschaften A, B und O verschiedene Allele des Blutgruppen-Gens.

<sup>9</sup> Trägt eine Person zwei gleiche Allele eines Gens oder Markers spricht man von homozygot, bei zwei unterschiedlichen Allelen von heterozygot.

## Mann oder Frau?

Um herauszufinden, ob eine biologische Spur von einem Mann oder einer Frau stammt, untersucht man den Marker Amelogenin. Dieser Marker liegt in einer nicht-codierenden Sequenz auf den beiden Geschlechtschromosomen X und Y. Auf dem X-Chromosom ist der Marker-Bereich um 6 Nukleotide kürzer. Diesen Unterschied kann man mittels PCR und Analyse der Länge der PCR-Produkte sichtbar machen: Bei Frauen (XX) findet man ein einziges PCR-Produkt (106 Nukleotide lang) bei Männern (XY) zwei (106 und 112 Nukleotide) (siehe Abbildung 2).

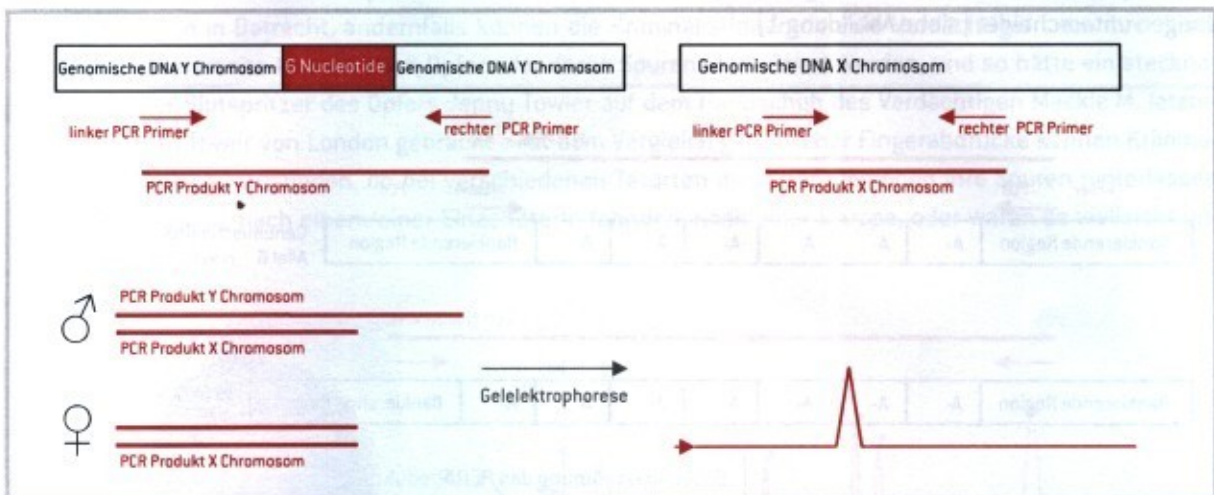


Abbildung 2: Vergleich ♀/♂ Allele des Markers Amelogenin

Von den über 10.000 bekannten STRs werden in der Forensik aktuell 12-16 solcher STR Marker gleichzeitig untersucht. Sogar wenn zwei Menschen durch Zufall oder nahe Verwandtschaft Ähnlichkeiten in einigen Sequenz-Wiederholungen aufweisen, zeigen andere dieser Bereiche Unterschiede auf und gewährleisten so eine sichere Identifikation (siehe Abbildung 3).

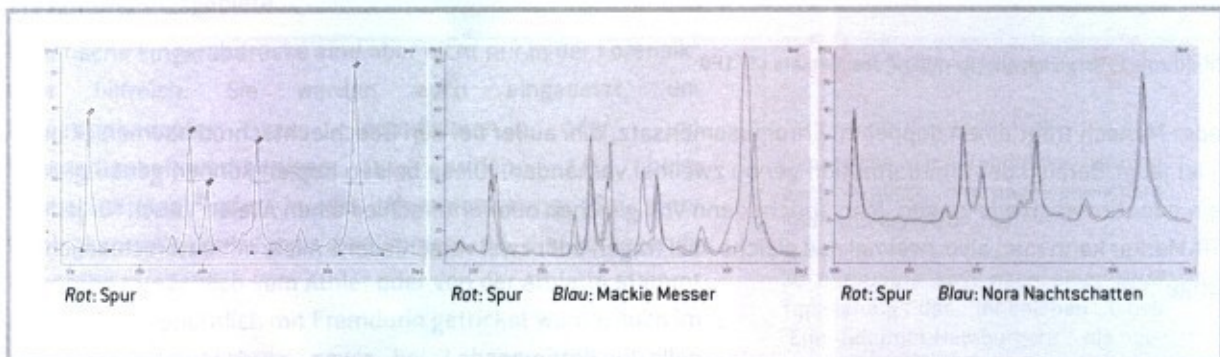
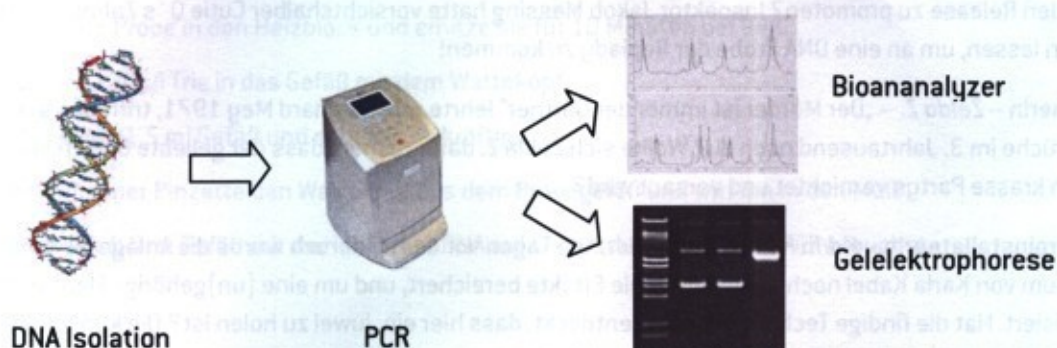


Abbildung 3: Vergleich einer DNA-Spur (links) mit den genetischen Fingerabdrücken von verdächtigen Personen (Mitte und Rechts)

## VERSUCH - KEIN TATORT OHNE DNA

In diesem Experiment werden „am Tatort sichergestellte biologische Spuren“ mittels genetischen Fingerabdrucks geprüft und mit jenen von „Verdächtigen“ verglichen. Zuerst werden wir DNA aus den Mundabstrichen isolieren und mittels PCR die, für die Identifikation relevanten DNA-Abschnitte (short tandem repeats, STRs), aus den Proben vervielfältigen. Durch die anschließende Analyse der PCR Produkte mit dem Bioanalyzer 2100 werden genetische Fingerabdrücke von den „am Tatort gefundenen Spuren“ und den „Verdächtigen“ erstellt und auf Übereinstimmung untersucht. Zusätzlich wird das Ergebnis der PCR auf einem Agarosegel sichtbar gemacht.



### Die Story

Skuril war dieser Fall von Beginn an. Jedenfalls war Inspektor Jakob Messing noch nie zuvor zu einem Einbruch gerufen worden, bei dem ein Stück Wand geklaut worden war. Nun ja, er hatte immerhin herausgefunden, dass auf diesem 1x1 m großen Stück Gipswand ein wertvolles Graffito gesprayt war, dass der/die Täter In oder das Teil auf der Scheibtruhe durch den Garten gekarrt, dann über den Zaun gewuchtet hatte, und von dort mit einem Lieferwagen verschwunden war. Messing konnte das wertvolle Stück Mauerwerk sogar bei einem stadtbekannten Hehler sicherstellen. Doch stimmten dessen Angaben? Und dann tauchte auf einmal dieses Musikvideo im Internet auf. Cutie Q behauptete es wäre aus dem Kellerstudio geklaut worden. Vorab auf Du-Röhre.com veröffentlicht - eine knappe Woche vor der geplanten Premiere, die war nun jedenfalls geplatzt. Jakob Messing blieb nichts anderes übrig, als auf die Auswertung der biologischen Spuren zu warten, die am Tatort sichergestellt wurden.

### Die Spuren

- S10 Mütze im Studio – Haar** – Ein Beanie auf dem Keyboard, Cutie Q behauptete es wäre nicht von ihr. Also könnte das Teil vom Täter oder der Täterin stammen. Die Haare, welche die KriminalistInnen in den Fasern gefunden hatten, werden den Besitzer oder die Besitzerin jedenfalls entlarven.
- S11 Roter Tropfen am Graffito – Blut** – Dieser kleine, rote Punkt war keine Farbe, sondern Blut. Hatte sich der oder die ungebetene HeimwerkerIn beim Heraussägen des Mauerstücks verletzt? Es wird ein Leichtes für Jakob Messings KollegInnen im forensischen Labor sein, den Spender oder die Spenderin auszumachen.
- S12 Kaugummi an der Überwachungskamera** – Mundschleimhautzellen – Ein Kaugummi hatte die Kamera schnell unschädlich gemacht. Hätte der/die SaboteurIn jedoch besser in Biologie aufgepasst, wüsste er oder sie um die glasklare biologische Spur, die da auf der Kameralinse zurückgelassen wurde!

## Die Verdächtigen

War es Rache, wollte sich jemand bereichern, wichtig machen - wenn ja, wer, wieso, was, warum, w...? War der Raub des Graffito nur Ablenkung, oder waren es zwei unabhängige Einbrüche? Der ganze Fall hing von einem Haar, einem Tropfen Blut und einem Kaugummi ab. Die Liste der verdächtigen Personen war zu lang für Jakob Messing. W. wer von diesen hatte in jener Nacht seine Spuren am Tatort hinterlassen?

### Die Verdächtigen:

- V1 **Rapperin – Cutie Q** – Die letzte Scheibe floppte. Täuschte Cutie Q deshalb den Einbruch vor, um den kommenden Release zu promoten? Inspektor Jakob Messing hatte vorsichtshalber Cutie Q's Zahnbürste mitgehen lassen, um an eine DNA Probe der Raplady zu kommen!
- V2 **Gärtnerin – Zelda Z.** – „Der Mörder ist immer der Gärtner“ lehrte uns Reinhard Mey 1971, trifft das auch auf Einbrüche im 3. Jahrtausend noch zu? Wollte sich Zelda Z. dafür rächen, dass der geliebte Garten ständig durch krasse Partys vernichtet und versaut wird?
- V3 **Elektroinstallateurin – Karla Kabel** – In den letzten Tagen vor dem Einbruch wurde die Anlage im Aufnahmerraum von Karla Kabel noch um einige coole Effekte bereichert, und um eine (un)gehörige Handvoll Watt auffrisiert. Hat die findige Technikerin dabei entdeckt, dass hier ein Juwel zu holen ist? Die kunstvoll ausgeschaltete Alarmanlage könnte auf Karla Kabel weisen!
- V4 **Ex-Managerin – Daisy** – Daisy behauptete, Cutie Q wäre „nicht im Vollbesitz ihrer geistigen und körperlichen Kräfte“ gewesen, als jene die Managerin feuerte. War dieser Einbruch späte Rache?
- V5 **Ex-Kollegin – Cleo Patra** – Seit sie sich von Cutie Q getrennt hatte, weil diese „nur mehr Kommerz-Schrott“ produzierte, hat Cleo's Bankkonto wohl schon bessere Zeiten gesehen. Aber ist dies schon genug Motiv um der alten Kollegin eins auszuwischen?
- V6 **Konkurrentin – Jenny J.** – In ihren Rapsongs haben die beiden einander stets aufs Größte befelegt, auch behauptete Jenny J., Cutie Q habe ihr den Text für den letzten Hit geklaut. Dieser Coup wäre eine gelungene Retourkutsche!
- V7 **Stalker – Emil R.** – Nachdem die Madonna-Poster von den Wänden gerissen und durch Bilder von Cutie Q ersetzt wurden, ließ Emil R. seine ganze morbide Energie im Stalking von Cutie Q aus. Es gibt sogar eine richterliche Auflage für Emil R., sich mindestens 1 km von Cutie Q fernzuhalten. Hat dies vielleicht nichts genutzt?
- V8 **Reporterin – Steffi P.** – Die Boulevardzeitung „Morgen“ hatte die Story schon im Druck, noch bevor das Video im Internet verfügbar war. Woher hatte die junge Journalistin Steffi P. ihre Informationen, war sie etwa selbst in Cutie Q's Villa, um ihrer Karriere als rasende Reporterin ein wenig nachzuhelfen?
- V9 **Einbrecherin – Kathi S.** – Der Hehler, in dessen Hinterhof das gestohlene Graffito sichergestellt wurde, behauptete dieses von Kathi S. gekauft zu haben. Hat er nur irgendeinen Namen genannt, oder hatte Kathi S. tatsächlich ihre flinken Hände an dem Kunstwerk?

## ARBEITSABLAUF

### TEIL 1: DNA ISOLATION

- 1) Vom Tutor bzw. der Tutorin erhältst du ein Watte­stäbchen mit einem Mundabstrich. Zieh dir Handschuhe an und entferne den Stiel des Stäbchens knapp über dem Watte­kopf.
- 2) Gib den Watte­kopf mit dem Abstrich in ein 1,5 ml Gefäß mit 600  $\mu$ l NaOH. Beschrifte das Gefäß mit deiner zugewiesenen Nummer.
- 3) Schließe das Gefäß und stecke es für 10 Minuten in den Schüttler.
- 4) Stelle deine Probe in den Heizblock und erhitze sie für 10 Minuten bei 95°C.
- 5) Pipettiere 120  $\mu$ l Tris in das Gefäß mit dem Watte­kopf.
- 6) Schließe das 1,5 ml Gefäß und schüttele es kräftig.
- 7) Nimm mit einer Pinzette den Watte­kopf aus dem Probegefäß und wirf ihn in den Müll.
- 8) Lagere das 1,5 ml Gefäß mit der isolierten DNA auf Eis bis du diese für die PCR brauchst.

### TEIL 2: PCR

- 1) Berechne ein 1,5 ml Gefäß mit Mastermix vor:

|                   | Volumen      |   |
|-------------------|--------------|---|
| Anzahl d. Gruppen | 4            | ✓ |
| Schema            | A            |   |
| dH <sub>2</sub> O | 85,6 $\mu$ l |   |
| PCR-Buffer        | 24 $\mu$ l   |   |
| dNTP's            | 6 $\mu$ l    |   |
| Primer Mix        | 6 $\mu$ l    |   |
| Polymerase        | 2,4 $\mu$ l  |   |
| gesamt            | 124 $\mu$ l  |   |

- 2) Beschrifte für jeden PCR Ansatz ein 0,2 ml PCR-Gefäß mit den Nummern der zu untersuchenden DNAs, bzw. eines mit 0.
- 3) Pipettiere jeweils 19  $\mu$ l Mastermix in die PCR-Gefäße.
- 4) Pipettiere jeweils 1  $\mu$ l deiner DNA Proben zum Mastermix in die entsprechenden PCR Gefäße.
- 5) Pipettiere 1  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O in das PCR-Gefäß 0.
- 6) Platziere dein PCR-Gefäß mit den Gefäßen der anderen KursteilnehmerInnen im Thermocycler, der für 30 Zyklen programmiert wurde (Programm TATORT): Dauer 43 Minuten

Denaturieren: 98°C, 10 Sekunden

Annealing: 59°C, 10 Sekunden

Polymerisierung: 72°C, 20 Sekunden

## ARBEITSABLAUF

### TEIL 3: ANALYSE DER STR MARKER MITTELS BIOANALYZER

- 1) Zieh dir Handschuhe an und lade je 1  $\mu$ l deiner PCR-Produkte in die dir zugewiesenen Taschen des Bioanalyser-Chips (außer Probe 0). Beachte dabei zwei wichtige Dinge:
- 2) In der Tasche befindet sich schon Puffer. Es ist wichtig, dass du die Probe direkt in den Puffer pipettierst.
- 3) Gib Acht, dass du keine Luftblasen in die Tasche pipettierst. Dafür darfst du die Pipette nicht bis zum zweiten Anschlag entleeren, sondern nur bis zum ersten Widerstand.
- 4) Wenn alle Taschen des Chips beladen sind: Stellt den Chip für 1 min in den Chip-Schüttler.
- 5) Platziert den Chip im Bioanalyser und startet das Analyseprogramm.

### TEIL 4: GELELEKTROPHORESE

- 1) Berechne ein 2%-iges Agarosegel. Erhitze dafür Agarose im Laufpuffer in der Mikrowelle. Kühle das Gel vorsichtig ab und gib den Gelfarbstoff zu. Gieße nun vorsichtig das warme, flüssige Gel in das Gelbett. Setze den Kamm ein und warte bis das Gel fest und durchsichtig geworden ist.
- 2) Entferne vorsichtig den Kamm und die Keile und übergieße das Gel nun mit Laufpuffer, bis das Gel etwa 1 mm überschichtet ist und die Probentaschen gefüllt sind.
- 3) Pipettiere 5  $\mu$ l Auftragspuffer (AP) zu deinen PCR Proben.
- 4) Lade in die Probentaste auf der linken Seite 5  $\mu$ l des 100 bp Längenmarkers.
- 5) Lade mit einer frischen Spitze 15  $\mu$ l deiner Proben. Notiert die Reihenfolge aller Proben auf dem Whiteboard bzw. einem Blatt Papier.
- 6) Lasst das Gel bei etwa 100 V laufen.
- 7) Betrachtet das Gel im Transilluminator und macht ein Foto.

### TEIL 5: AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

- 1) Bestimme das Geschlecht der untersuchten Personen. Dazu analysierst du den Marker Amelogenin:

|                    |   |   |
|--------------------|---|---|
| Spur 1 (Haar):     | ♀ | ♂ |
| Spur 2 (Blut):     | ♀ | ♂ |
| Spur 3 (Kaugummi): | ♀ | ♂ |

## ARBEITSABLAUF

### TEIL 5: AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

- 2) Untersuche die genetischen Fingerabdrücke genauer: Bestimme jeweils die Anzahl der unterschiedlichen Allele (1 oder 2) der untersuchten Personen für die drei Marker TH01, TPOX und CSF1PO (die Zahlen in Klammer sagen dir in welchem Bereich du die PCR Produkte der Marker am Elektropherogramm finden kannst). Notiere dann auch die Länge der PCR-Produkte für die Marker:

|                                      | TH01 (171-215)                  |                | TPOX (216-264)                  |                | CSF1PO (287-331)                |                |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------|---------------------------------|----------------|---------------------------------|----------------|
|                                      | Anzahl der verschiedenen Allele | PCR Produkt(e) | Anzahl der verschiedenen Allele | PCR Produkt(e) | Anzahl der verschiedenen Allele | PCR Produkt(e) |
| Rapperin<br>Cutie Q                  |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Gärtnerin<br>Zelda Z.                |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Elektroinstallateurin<br>Karla Kabel |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Ex-Managerin<br>Daisy                |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Ex-Kollegin<br>Cleo Patra            |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Konkurrentin<br>Jenny J.             |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Stalker<br>Emil R.                   |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Reporterin<br>Steffi P.              |                                 |                |                                 |                |                                 |                |
| Einbrecherin<br>Kathi S.             |                                 |                |                                 |                |                                 |                |

- 3) Vergleiche die genetischen Fingerabdrücke der „Verdächtigen“ mit den DNA-Mustern der „Spuren am Tatort“. Welche Fingerabdrücke der „Verdächtigen“ sind identisch mit den „Spuren“.

Spur 1 (Haar): Name der/des passenden Verdächtigen: \_\_\_\_\_

Spur 2 (Blut): Name der/des passenden Verdächtigen: \_\_\_\_\_

Spur 3 (Kaugummi): Name der/des passenden Verdächtigen: \_\_\_\_\_