

**Der genetische
Fingerabdruck - Signatur
der Zelle**

Petek E, Wagner K

Blickpunkt der Mann 2004; 2 (2)

15-17

Homepage:

www.kup.at/dermann

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

**Krause & Pachernegg GmbH
Verlag für Medizin und Wirtschaft
A-3003 Gablitz**

Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf
Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Der genetische Fingerabdruck – Signatur der Zelle

E. Petek, K. Wagner

Mit der Einführung des „DNA-Fingerprints“ 1985 durch Alec Jeffreys wurde eine Methode etabliert, die erstmals auf molekularer Ebene eine eindeutige Identifizierung von Individuen erlaubte und bisherige immunologische Methoden großteils verdrängte. Ausschlaggebend dafür war die Einfachheit dieser Technik und die Möglichkeit, mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) 10–15 polymorphe DNA-Wiederholungssequenzen aus geringstem Probenmaterial in einer einzigen Reaktion und in 2–3 Tagen analysieren zu können. Dadurch wurde auch die Abklärung komplexerer Abstammungs- und Verwandtschaftsverhältnisse mit einer hohen Wahrscheinlichkeit möglich. Zusätzlich kann durch dieses Verfahren ein einzigartiges DNA-Profil einer Person erstellt und in der forensischen Medizin bzw. zur Identifikation von Opfern eines Unfalls herangezogen werden.

Alec Jeffreys contrived a method for molecular genetic identification of individuals called DNA fingerprint in 1985, and since that time DNA analysis has been successfully applied to paternity testing and identification of individuals succeeding the hitherto used immunological methods. The simplicity of the techniques, especially the use of buccal swabs for DNA extraction and amplification by the polymerase chain reaction (PCR), allows the typing of 10–15 short tandem repeat (STR) loci in a single test tube within 2–3 working days. Sufficiently high likelihood ratios can be calculated and exclusion can be shown in unusual cases such as the motherless situation and in sibling cases. In addition, DNA profiling can now be applied to unusual problems, such as personal identification of victims in accidents. **Blickpunkt DER MANN 2004; 2 (2): 15–17.**

Bereits vor dem formalen Beginn des Human-Genomprojektes im Oktober 1990 wurde von Alec Jeffreys [1] mit dem sogenannten „DNA Fingerprint“ („DNA-Fingerabdruck“ oder „genetischer Fingerabdruck“) eine Methode eingeführt, die erstmals auf molekularer Ebene die eindeutige Identifizierung von Individuen bzw. kernhaltigen Zellen erlaubte. Der genetische Fingerabdruck stellt dabei eine Signatur für das untersuchte biologische Material dar, welche mit Ausnahme von eineiigen Zwillingen einzigartig ist [2]. Man hat damit also einen individuellen Strichcode jedes Menschen zur Verfügung, der ein Muster mehrerer seltener Motive im Genom des untersuchten Individuums darstellt.

Der Begriff Genom steht hierbei für die Gesamtheit der DNA-Untereinheiten (ca. 3 Milliarden Basenpaare im haploiden Chromosomensatz) bzw. aller Chromosomen (Abb. 1) und aller Gene eines Lebewesens. Das Konzept der Weitergabe dieser DNA-Sequenzvariationen von einer Generation auf die nächste ist auf Beobachtungen des Brünner Augustinerpaters Johann Gregor Mendel (1822–1884), den Begründer der klassischen Genetik, zurückzuführen [3]. Eine zentrale Aussage seiner Beobachtungen lautet, daß jedes Lebewesen von einem Gen oder eben einem bestimmten DNA-Motiv immer zwei Anlagen besitzt. Die eine erbt ein Lebewesen von seiner Mutter, die andere von seinem Vater. Die Wahrscheinlichkeit, die eine oder andere Vererbungseinheit an seine Kinder weiterzugeben, beträgt folglich 50 Prozent. Anlagen auf den Geschlechtschromosomen oder der Mitochondrien-DNA wurden dabei nicht berücksichtigt. Die sogenannten Mendel'schen Gesetze stellen die Grundlage dar, um den biologischen Zusammenhang einer Familie und dadurch die Weitergabe von DNA-Motiven zu verstehen und für Abstammungsanalysen verwendbar zu machen.

Basierend auf der Möglichkeit, kernhaltige Zellen eindeutig ihrem Ursprung zuzuordnen, wurde in den

letzten Jahren ein breites Spektrum an Anwendungen entwickelt, die in der forensischen Medizin, der Diagnostik von familiären Erbkrankheiten, sowie bei Verwandtschafts- und Vaterschaftsanalysen nicht mehr wegzudenken sind. Vor allem in der gerichtlichen Urteilsfindung bei Vergewaltigungen oder Verbrechen gegen das menschliche Leben wurde dadurch eine Revolution ausgelöst, die in vielen Fällen bei der richterlichen Beweiswürdigung zur Bevorzugung der molekulargenetischen Ergebnisse gegenüber den Aussagen von Augenzeugen führte. Nicht mehr ersetzbar ist der genetische Fingerabdruck jedoch auf dem Gebiet der Abstammungsanalysen, da es nun erstmals möglich war, mit geringem Probenmaterial, wie zum Beispiel einem einfachen Mundschleimhautabstrich, und zu erschwinglichen Kosten sowie in kurzer Zeit einen möglichen Vater mit Sicherheit auszuschließen oder mit einer Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit als biologischen Vater zu bestätigen.

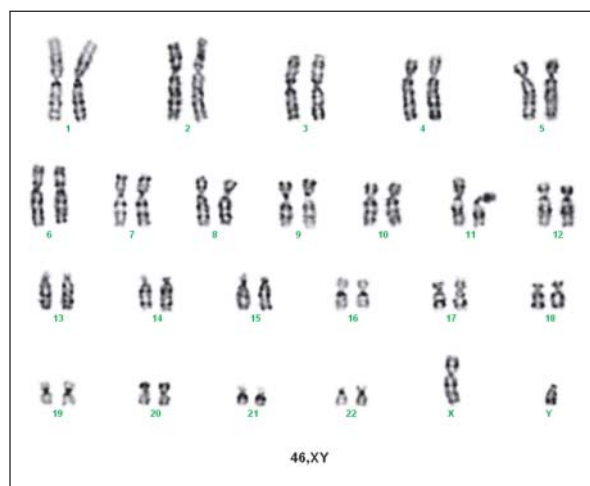


Abbildung 1: Normales männliches Karyogramm (Chromosomensatz) eines Menschen, präpariert aus Lymphozyten. In der Metaphase der Mitose ist der Träger der Erbinformation, die DNA, stark kondensiert und kann unter dem Mikroskop als sogenannte Chromosomen sichtbar gemacht werden. Jedes Chromosomenpaar ist durch seine Morphologie und sein Bandenmuster charakterisiert. Bei den Autosomen (Chromosomen 1–22) wird jeweils eines der beiden Chromosomen, die sich auf molekularer Ebene mitunter durch die VNTRs unterscheiden, weitergegeben. Zusätzlich wird noch eines der beiden Geschlechtschromosomen in die Samen- bzw. Eizelle verpackt.

Aus dem Institut für Medizinische Biologie und Humangenetik, Karl Franzens-Universität Graz, Österreich

Korrespondenzadresse: Univ.-Prof. Dr. Erwin Petek, Karl Franzens-Universität Graz, Institut für Medizinische Biologie und Humangenetik, A-8010 Graz, Harrachgasse 21/8, E-mail: petek@kfunigraz.ac.at

Polymorphismen als Grundlage für den „DNA-Fingerprint“

Jeder DNA-Strang enthält codierende Abschnitte (Exons), die in weiterer Folge zu Proteinen umgeschrieben werden und für die Ausprägung von Merkmalen verantwortlich sind, und nicht-codierende Abschnitte. Diese nicht-codierenden Abschnitte, die den Großteil der Basensequenz der DNA ausmachen, können gemeinsam mit den Exons Bestandteil eines Gens sein – sie werden dann als Introns bezeichnet – oder zwischen den Genen lokalisiert sein. Die Exons unterliegen durch Mutationen ausgelösten Selektionsmechanismen, die zur Entstehung höher entwickelter Eigenschaften geführt haben.

Mutationen mit nachteiliger Wirkung bleiben in den Exons nicht erhalten, dafür aber in den Introns und den weiteren nicht-codierenden genomischen Abschnitten, da diese nur selten einen Einfluß auf den Organismus haben und daher keiner Selektion unterliegen. Dies führte unter anderem dazu, daß sich in diesen nicht-codierenden Regionen Wiederholungssequenzen entwickelt haben, VNTRs (variable number of tandem repeat) genannt [4], die eine mehrfache Wiederholung einer kurzen, bis zu 30 Basenpaare langen Sequenz darstellen. In manchen Regionen kann der Unterschied zwischen einer und dreißig Wiederholungssequenzen liegen. Für die oben erwähnten Anwendungen des genetischen Fingerabdrucks werden hochpolymorphe, d. h. in der Population von einer Person zur anderen Person in der Anzahl der jeweiligen Wiederholungseinheiten stark variierende DNA-Abschnitte herangezogen. Tabelle 1 zeigt ein Beispiel für einen solchen Locus.

In den meisten Fällen genügen bereits weniger als 20 dieser hochpolymorphen Sequenzen, um biologisches Material einer bestimmten Person eindeutig zuzuordnen zu können oder den gemeinsamen Ursprung der untersuchten Proben auszuschließen. Sollten zwei Menschen zufälligerweise die gleiche Anzahl von Wiederholungen in diesen DNA-Bereichen aufweisen, wie es vor allem bei Geschwistern und nahen Verwandten vorkommen kann, so gibt es eine Vielzahl an anderen polymorphen Sequenzbereichen, in denen sie sich eindeutig voneinander unterscheiden. Die VNTRs aller Zellen eines Menschen unterscheiden sich nicht in der Länge, da die DNA in allen kernhaltigen Körperzellen ident ist. Heutzutage werden vor allem STR (short tandem repeat oder auch Mikrosatelliten genannt) für Abstammungsanalysen und Anwendun-

Tabelle 1: Verteilung der D8S1179 Allele in der österreichischen Bevölkerung (aus Steinlechner et al. 2001) [6]. Allelfrequenzen und -anzahl in 204 unverwandten Österreichern.

Allele	Anzahl der Allele in der untersuchten Population	Allelfrequenz
8	5	0,012
9	6	0,015
10	39	0,096
11	21	0,051
12	64	0,157
13	126	0,309
14	104	0,255
15	32	0,078
16	11	0,027

gen in der forensischen Medizin herangezogen (Abb. 2). Darunter versteht man eine VNTR-Sequenz, die aus einer nur kurzen, meist 2–4 Basenpaare langen Wiederholungseinheit besteht und deshalb für die sogenannte Polymerase-Kettenreaktion (PCR), eine sowohl zuverlässige als auch kosten- und zeitsparende Analysemethode, geeignet ist.

Die Polymerase-Kettenreaktion

Nach Isolierung der DNA im Labor werden ca. 15 Genorte mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt, um die Längen und die daraus resultierende Anzahl der Wiederholungssequenzen mittels elektrophoretischer Auftrennung nachzuweisen. Die PCR entwickelte sich in den letzten Jahren zur zentralen Methode der Molekulargenetik [5]. Mit Hilfe dieser Technik ist es möglich, einen von zwei künstlich hergestellten und ca. 20–30 Basenpaare langen DNA-Fragmenten (Primern) flankierten Bereich der Patienten-DNA *in vitro* exponentiell zu vermehren. Mit Hilfe einer hitzestabilen DNA-Polymerase aus thermophilen Bakterien, die für die enzymatische Verlängerung der Primer verantwortlich ist, gelang es, das Verfahren zu automatisieren. Ein PCR-Zyklus, der aus Doppelstrangdenaturierung, Primeranlagerung und Strangverlängerung besteht, dauert im Normalfall 1–2 Minuten und wird 30–35mal wiederholt, um die gewünschte Menge der zu untersuchenden DNA-Fragmente zu gewinnen. Für die gleichzeitige Amplifikation mehrerer DNA-Abschnitte einer Person können die flankierenden Primer der einzelnen DNA-Loci in einer sogenannten „multiplex-PCR“ gemeinsam im Reaktionsgefäß für die DNA-Vermehrung herangezogen werden.

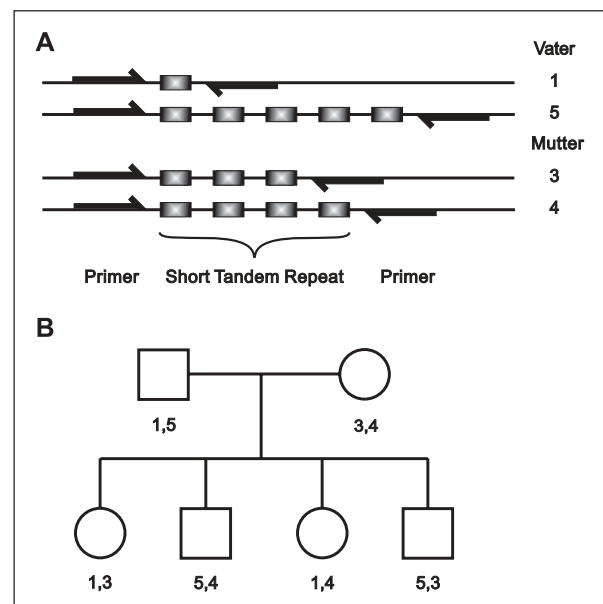


Abbildung 2: (A) zeigt die elterliche Verteilung eines STRs an einem DNA-Locus. Für autosomale DNA-Sequenzen sind jeweils 2 Sequenzen (Allele) vorhanden, wobei ein Allel vom Vater und ein Allel von der Mutter vererbt wurde. Der Vater besitzt ein Allel mit einer Wiederholungssequenz (WS) und eines mit fünf WS. Die Mutter eine Allel mit drei WS und ein Allel mit vier WS. (B) zeigt die Kombinationsmöglichkeiten, die sich aus den elterlichen Allelen ergeben. Alle vier Personen in der zweiten Generation sind voneinander zu unterscheiden, obwohl nur ein DNA-Locus untersucht wurde. Durch Heranziehen mehrerer Loci für die Untersuchung erhöht sich die Wahrscheinlichkeit der molekularen Einzigartigkeit eines Individuums.

Y-Chromosom-spezifische STRs

Wie in Abbildung 1 ersichtlich, besitzt jeder Mensch im Normalfall zusätzlich zu den 22 Autosomenpaaren auch 2 Geschlechtschromosomen, wobei diese sich bei der Frau aus 2 X-Chromosomen und beim Mann aus einem X- und einem Y-Chromosom zusammensetzen. Da das Y-Chromosom immer vom Vater an seine Söhne, jedoch nie an seine Töchter weitergegeben wird, sind STRs, die sich auf diesem Chromosom befinden, für jene Abstammungsanalysen von großer Bedeutung, bei denen der Vater nicht zur Verfügung steht, da jeder in der väterlichen Linie befindliche Mann für eine STR-Analyse herangezogen werden kann. Natürlich können dadurch auch alle in der väterlichen Linie befindlichen Männer nicht als mögliche Väter ausgeschlossen werden. Zusätzlich zu dieser Limitation können natürlich nur Söhne, nicht aber Töchter eindeutig ausgeschlossen bzw. mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit als biologische Nachkommen bestätigt werden. Bei komplexeren Abstammungsanalysen werden in Ausnahmefällen auch STRs von X-Chromosomen herangezogen, wobei zu beachten ist, daß das väterliche X-Chromosom nur an die Töchter weitergegeben wird und eines der beiden mütterlichen X-Chromosomen zufällig an die Kinder, unabhängig vom Geschlecht, geht.

Die Probengewinnung

Für die Abstammungs- und Verwandtschaftsanalysen wird heutzutage nur noch selten Blut der zu untersuchenden Personen benötigt, da für eine Analyse mittels

PCR genügend kernhaltige Zellen viel einfacher und schmerzloser gewonnen werden können. Ein Standardverfahren ist die Gewinnung der DNA aus Zellen der Mundschleimhaut, wobei man bedenken sollte, daß die zu untersuchenden Personen ca. drei Stunden vor der Speichelentnahme nichts gegessen und getrunken haben sollten (Babys sollten in diesem Zeitraum auch nicht gestillt worden sein). Die Abnahmestäbchen müssen dazu an der Wangeninnenseite 4–5mal drehend auf- und abbewegt werden. Der Abstrich soll nach Möglichkeit zwar viel Mundschleimhautzellen, aber wenig Speichel enthalten. Nach der Probenentnahme werden die Abnahmesysteme ca. 15 Minuten an der Luft getrocknet und dann gleich für die Analyse aufbereitet oder über den Postweg versandt, falls die Probenentnahme zu Hause oder beim Arzt bzw. Rechtsanwalt erfolgte. Dieses Procedere erlaubt die Probengewinnung nicht nur bei einem Arzt, sondern es kann sehr einfach jede Person ihre eigene DNA gewinnen.

Literatur:

1. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* 1985; 314: 67–73.
2. Kirby LT. *DNA Fingerprinting*. Stockton Press, New York, 1990.
3. Mendel G. Versuche über Pflanzen-Hybriden. Vorgelegt in den Sitzungen vom 8. Februar und 8. März 1865.
4. Nakamura Y, Leppert M, O'Connell P, Wolff R, Holm T, Culver M, Martin C, Fujimoto E, Hoff M, Kumlin E, et al. Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science* 1987; 235: 1616–22.
5. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155: 335–50.
6. Steinlechner M, Berger B, Scheithauer R, Parson W. Population genetics of ten STR loci (AmpFISTR SGM plus) in Austria. *Int J Legal Med* 2001; 114: 288–90.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)