

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
Direktor: Prof. Dr. med. Eberhard Lignitz

***Entwicklung zweier Pentaplex-PCRs
zur Analyse von
zehn X-chromosomalen STRs***

Daten aus Vorpommern und Lettland

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktor der Medizin
der medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

vorgelegt von
Heiko Petersmann
geboren am 22.05.1973 in Dortmund

2005

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Heyo K. Kroemer
Erstgutachter: Prof. Dr. med. Eberhard Lignitz
Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Reinhard Szibor
Tag der Disputation: 20. Dezember 2005

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenosin
APS	Ammoniumpersulfat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
bp	Basenpaare
C	Cytidin
CE	Kapillarelektrophorese
dATP	Desoxyadenosin-5'-triphosphat
dCTP	Desoxycytidin-5'-triphosphat
ddNTP	2',3'-Didesoxynukleotidtriphosphat
dGTP	Desoxyguanosin-5'-triphosphat
DNA	Desoxyribonucleicacid
dNTP	2'-Desoxynukleotidtriphosphat
dTTP	Desoxythymidin-5'-triphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FAM	6-Carboxyfluorescein
G	Guanosin
GDB	Genome Database
HDL	High density lipoproteins
Het	Heterozygosity
JOE	2',7'-Dimethoxy-4',5'-dichlor-6'-carboxyfluorescein
Kb	Kilobasen

LOD	logarithmic odds ratio
MEC	mean exclusion chance
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PBS-Puffer	Phosphate buffered saline (phosphatgepufferte Salzlsg.)
PCR	polymerase chain reaction
PD	Power of discrimination
PIC	polymorphism information content
ROX	6-Carboxy-X-Rhodamin
Rpm	rounds per minute
STR	short tandem repeat
STS	sequence tagged site
T	Thymidin
TAMRA	N,N,N',N'-Tetramethyl-6-carboxyrhodamin
Taq	Thermus aquaticus
TEMED	Tetramethyldiamin
VNTR	variable number of tandem repeats

Inhalt

1 Einleitung	1
1.1 Zielsetzung	3
2 Material und Methoden	4
2.1 Material	4
2.1.1 Vorpommern	4
2.1.2 Lettland	5
2.2 Charakterisierung der STRs	6
2.2.1 DXS6807	7
2.2.2 DXS8378	8
2.2.3 ARA	9
2.2.4 DXS9898	9
2.2.5 DXS101	10
2.2.6 DXS7424	11
2.2.7 DX7133	12
2.2.8 DXSHPRTB	13
2.2.9 DXS8377	13
2.2.10 DXS10011	15
2.3 DNA-Isolation	16
2.3.1 DNA-Isolation aus Blut	16
2.3.2 DNA-Isolation aus Gewebe	17
2.4 DNA-Amplifikation	18
2.4.1 Amplifizierung der einzelnen STRs	21
2.4.2 Multiplexverfahren	23
2.5 DNA-Trennverfahren und Färbungen	26
2.5.1 Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)	26
2.5.2 Silberfärbung	28
2.5.3 Kapillarelektrophorese (CE)	28
2.5.4 STR-Analyse	29
2.6 DNA Sequenzierung	30
2.6.1 Sequenzierung einzelner Allele der STRs	31
2.6.1.1 Reinigung des PCR-Produktes	32
2.6.1.2 Sequenzierungs-PCR (Cycle Sequencing)	33
2.6.1.3 Aufreinigung des Cycle-Sequencing Produktes	33
2.6.1.4 Sequenzierung mit ABI Prism 310 Genetic Analyser	34
2.7 Statistische Verfahren	35
2.7.1 Frequenzanalyse	36
2.7.2 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	36
2.7.3 PIC (polymorphism information content)	37
2.7.4 Het (Heterozygosity)	37
2.7.5 MEC (mean exclusion chance)	38
2.7.6 Power of Discrimination (PD)	38
2.7.7 Populationsvergleiche und statistische Power	39
3 Ergebnisse	40
3.1 Etablierung der Pentaplex-PCRs	40
3.2 Populationsgenetische Daten	43
3.2.1 Vorpommern	43
3.2.1.1 STR DXS6807	44
3.2.1.2 STR DXS8378	45
3.2.1.3 STR ARA	46
3.2.1.4 STR DXS9898	48
3.2.1.5 STR DXS101	49
3.2.1.6 STR DXS7424	51

3.2.1.7	STR DXS7133	53
3.2.1.8	STR HPRTB	54
3.2.1.9	STR DXS8377	56
3.2.1.10	STR DXS10011	57
3.2.2	Lettland	59
3.2.2.1	STR DXS6807	59
3.2.2.2	STR DCS8378	61
3.2.2.3	STR ARA	62
3.2.2.4	STR DXS9898	64
3.2.2.5	STR DXS101	66
3.2.2.6	STR DXS7424	67
3.2.2.7	STR DXS7133	69
3.2.2.8	STR HPRTB	70
3.2.2.9	STR DXS8377	72
3.2.2.10	STR DXS10011	73
3.2.3	Vergleichende Darstellung der beschreibenden Statistikwerte	75
3.3	Kopplungsgruppenuntersuchung am Beispiel von 11 Familien	77
4	Diskussion	79
4.1	X-chromosomale STRs in der forensischen Routine	79
4.2	Vergleich der Allelverteilung der X-chromosomalen STRs	81
4.2.1	STR DXS6807	82
4.2.2	STR DXS8378	84
4.2.3	STR ARA	85
4.2.4	STR DXS9898	89
4.2.5	STR DXS101	90
4.2.6	STR DXS7424	93
4.2.7	STR DXS7133	94
4.2.8	STR HPRTB	97
4.2.9	STR DXS8377	99
4.2.10	STR DXS10011	100
4.3	Familienuntersuchung zur Bestätigung der Kopplungsgruppen	103
4.4	Fallbeispiele aus der rechtsmedizinischen Praxis	104
4.4.1	Fallbeispiel 1	104
4.4.2	Fallbeispiel 2	107
4.4.3	Fallbeispiel 3	110
5	Zusammenfassung	115
6	Literatur	117
7	Anhang	123
7.1	Charakteristika der Fluorophoren	123
7.2	Verteilung der X-chromosomalen Genotypen in Vorpommern	124
7.3	X-chromosomale Genotypen in Vorpommern	128
7.4	X-chromosomale Haplotypen in Vorpommern	130
7.5	Verteilung der X-chromosomalen Genotypen in Lettland	132
7.6	X-chromosomale Genotypen in Lettland	135
7.7	X-chromosomale Haplotypen in Lettland	136

**Meiner Frau Astrid
und meinen Kindern Phil, Anna und Ron**

1 Einleitung

Die Analyse von menschlichem Erbgut, der DNA (Desoxyribonucleinsäure, im Engl.: **Desoxyribonucleic acid**), hat 118 Jahre nach ihrer ersten Isolierung durch Miescher im Jahre 1869 mit der Entwicklung der Polymerase-Ketten-Reaktion (im Engl.: polymerase chain reaction; PCR; Saiki et al. 1988) durch Kary B. Mullis (1987) einen großen Aufschwung erfahren. Die PCR ermöglicht es, sehr geringe Mengen DNA im einstelligen ng-Bereich in vitro enzymatisch millionenfach zu kopieren.

Der Informationsgehalt der DNA liegt in der Abfolge ihrer Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin. Drei aufeinanderfolgende Basen bilden ein Triplet und codieren für eine von 20 Aminosäuren, den Grundbausteinen der Proteine.

Das Erbgut des Menschen befindet sich wie bei allen Eukaryoten im Zellkern. Es ist im Rahmen des humanen Sequenzierungsprojektes („Human genome project“) inzwischen vollständig in seiner Basenabfolge bekannt, wenn auch viele Gene und ihre Funktionen noch im Dunkeln liegen. Der haploide, also einfache Chromosomensatz des Menschen enthält 23 Chromosomen, der diploide demzufolge 46, davon zwei Geschlechtschromosomen (Gonosomen) X und Y. Nicht alle Abschnitte der DNA kodieren jedoch für ein Gen. Vielmehr sind die Gene durch lange, nicht-kodierende Bereiche voneinander getrennt, in denen häufig repetitive DNA-Abschnitte vorkommen. Einen Teil dieser repetitiven DNA macht Satelliten-DNA aus, die insbesondere in den Zentromer-Regionen und an den Telomeren, den Enden der Chromosomen vorkommt. Viele dieser Satelliten-DNA-Loci sind hinsichtlich ihrer Länge polymorph. Die Nomenklatur der repetitiven DNA ist vielfältig und nicht ganz einheitlich. Kurze Motive mit 2 Basen werden oft als Mikrosatelliten bezeichnet (Litt und Luty, 1989) oder auch als „simple sequence length polymorphisms (einfache Sequenzlängenpolymorphismen) (Tautz, 1989). Loci mit längeren Motiven, im Allgemeinen mehr als acht Basen, werden hingegen oft als Minisatelliten bezeichnet (Jeffreys et al., 1985) oder als variable number of tandem repeats (VNTRs) (Nakamura et al., 1987). Repetitive DNA-Elemente mit drei, vier oder fünf Basen Länge werden auch als short tandem repeats (STRs) bezeichnet (Craig et al, 1988).

Die Anzahl der repetitiven DNA-Motive an einem STR-Locus ist Grundlage für die Bezeichnung des vorliegenden Allels. Im diploiden Chromosomensatz des Menschen liegen für autosomale STRs folglich zwei Allele vor, ebenso wie für das X-

Chromosom bei Frauen. Bei Männern gibt es in STRs auf den beiden Gonosomen X und Y jedoch nur jeweils ein Allel. Die Allelverteilung eines STR-Systems kann zwischen verschiedenen Populationen Unterschiede aufweisen.

STRs eignen sich in besonderer Weise für forensische Gutachten, da sie zwar hinsichtlich ihrer Anzahl der Wiederholungen polymorph sind, aber von konservativen Sequenzen eingeschlossen werden, die als Startpunkt für eine PCR dienen können. Des Weiteren sind sie nicht zu lang, meist 100 bis 500 Basenpaare, und daher zuverlässig mit einer einfachen PCR amplifizierbar. Für ihre Auswertung ist keine Sequenzierung notwendig, sondern nur ein Längenvergleich der PCR-Produkte mit einem bekannten Standard. Außerdem können mehrere Loci in einem PCR-Ansatz mit fluoreszenz-markierten Primern gleichzeitig amplifiziert werden (Multiplex-PCR)(Chamberlain et al., 1988).

STRs finden sich über das gesamte Genom verteilt. Für die Routine wurden zunächst insbesondere autosomale Marker etabliert. Daneben begann die Suche nach STRs auf den Gonosomen, insbesondere auf dem Y-Chromosom. Aber auch über das X-Chromosom verteilt finden sich ca. 400 Millionen Loci mit trimeren und tetrameren STRs (Edwards et al., 1991). Jedoch ist die Bedeutung X-chromosomaler STRs im forensischen Laboralltag zurzeit noch eher gering, weil die Aussagekraft X-chromosomaler STRs in der Spurenanalytik und in einfachen Abstammungsbegutachtungen in keinem Verhältnis zum zusätzlichen Aufwand ihrer Untersuchung steht. In komplizierten Abstammungsbegutachtungen jedoch – z.B. mit verstorbenen Putativvater – kann die zusätzliche oder (in seltenen Fällen) auch die alleinige Analyse X-chromosomaler STRs wesentlich zur Lösung der Frage des Verwandtschaftsverhältnisses beitragen (Szibor et al., 2003b). Das liegt in der Tatsache begründet, dass alle Töchter eines Vaters mindestens ein identisches (väterliches) X-Chromosom tragen, das von der väterlichen Großmutter stammt.

Für die forensische Analyse geeignet sind vor allem solche STRs, die eine größere Anzahl an Allelen besitzen, die in der Bevölkerung weitgehend gleichmäßig verteilt sind, und die sich nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht in der Population verteilen.

Seit 1991 sind eine Reihe von X-chromosomalen STRs charakterisiert worden, und ihre Allelverteilung wurde in europäischen und asiatischen Populationen bestimmt (Edwards et al., 1992; Kishida und Tamaki, 1997; Edelman und Szibor, 1999).

1.1 Zielsetzung

In dieser Studie sollte die Analyse mehrerer X-chromosomaler STRs für die forensische Routine, insbesondere in der Abstammungsbegutachtung, validiert werden. Dazu sollten aussagekräftige, leicht zu amplifizierende STRs aus der Literatur ausgewählt werden und eine oder mehrere X-chromosomale Multiplex-PCRs im Labor etabliert werden. Außerdem sollten die Allelverteilungen dieser STRs in zwei Populationen aus Vorpommern und Lettland bestimmt und mit anderen bekannten Populationen verglichen werden, um die Aussagen in den forensischen Gutachten auf einer sicheren statistischen Basis treffen zu können.

2 Material und Methoden

2.1 Material

Grundlage der hier vorliegenden Arbeit sind Blutproben aus dem Institut für Rechtsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald von 100 weiblichen und 105 männlichen unverwandten Probanden, welche in Vorpommern geboren wurden und hier leben. Das Untersuchungsmaterial wurde in den Jahren 2001 und 2002 gesammelt. Das Einzugsgebiet des Institutes umfasst den östlichen Teil Mecklenburg-Vorpommerns mit den Städten Greifswald, Stralsund, Wolgast, Anklam, Neubrandenburg und Demmin. Zudem wurden Gewebeproben von 78 männlichen und 45 weiblichen unverwandten Probanden aus verschiedenen Regionen Lettlands (Riga, Öiepaja, Ogre, Jelgava, Aizkraukle, Rezenkne, Preili, Balvi, Kuldiga und Madona) untersucht.

Außerdem wurden 40 Personen aus insgesamt zwölf Familien mit untersucht, bei denen es jeweils mindestens zwei Söhne mit derselben Mutter gab. Alle Personen haben sich freiwillig zur Teilnahme an der Studie bereiterklärt.

Alle Proben wurden in Übereinstimmung mit der Deklaration der Konferenz von Helsinki verwendet.

2.1.1 Vorpommern

Als Pommern wird die Großlandschaft südlich der Ostsee von der Darßer Nehrung im Westen bis zu Zarnowitzer See im Osten bezeichnet. Die untere Oder mit Dammschem See, Papenwasser und Stettiner Haff trennt das in Deutschland gelegene Vorpommern (Westpommern, siehe auch Abbildung 2.1) von Hinterpommern (Ostpommern) in Polen.

Seinen Namen trägt das Land auf Grund der Bezeichnung Pomorje („Küstenland“), die im 6./7. Jahrhundert einwandernde slawische Stämme dieser Region gaben. In Kämpfen mit Deutschen, Dänen und Polen entstanden im 12./13. Jahrhundert das slawische Herzogtum der Samboriden mit Sitz in Danzig, das spätere Pomerellen, westlich davon das Herrschaftsgebiet des slawischen Fürstenhauses der Greifen mit der Stammburg in Stettin. Die Christianisierung und die Gründung von Klöstern in der 2. Hälfte des 12. Jahrhunderts zogen deutsche Siedler nach sich. Später erwarb Brandenburg im Westfälischen Frieden (1648) den östlich der Oder gelegenen Teil

Pommerns (Hinterpommern) während das Gebiet Vorpommerns mit Stettin und den Inseln Usedom und Rügen sowie ein schmaler Landstreifen östlich der Oder an Schweden fiel. 1945 kam Vorpommern zur Sowjetischen Besatzungszone; Hinterpommern, Stettin und Swinemünde fielen an Polen.

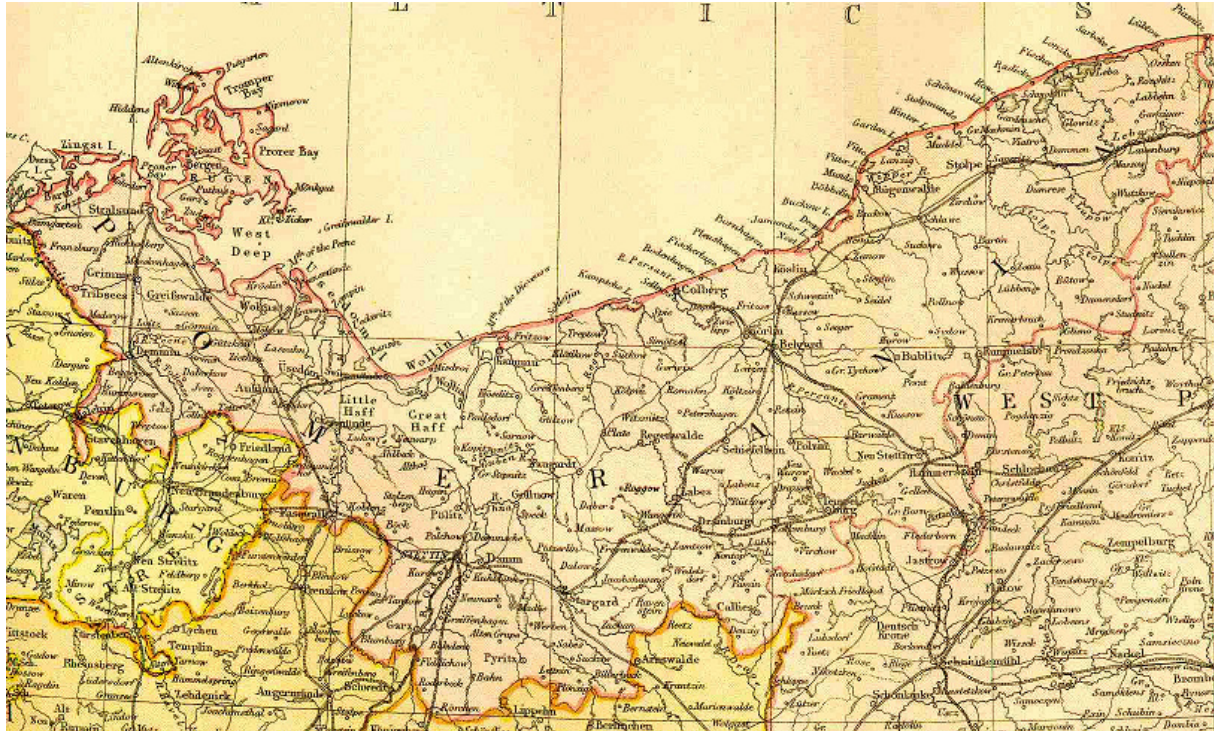


Abbildung 2.1: Historische Karte Pommerns (Pommerania). Der heutige Begriff Vorpommern bezieht sich auf Westpommern und ist Teil des Bundeslandes Mecklenburg-Vorpommern.

2.1.2 Lettland

Im Nord-Osten Europas gelegen, grenzt Lettland im Westen an die Ostsee, im Norden an die Rigaer Bucht und an Estland, im Osten an Russland, im Süd-Osten an Weißrussland und im Süden an Litauen.

Bis zum Ende des 1. Weltkrieges hatten die Letten kein eigenes nationales Staatswesen; ihre Siedlungsgebiete waren in einem Teil Litauens. 1920 wurde endlich die wiederholte Unabhängigkeitserklärung im Rigaer Abkommen von der Sowjetregierung akzeptiert. Das über eine tolerante Minderheitengesetzgebung verfügende kleine Staatswesen erlebte eine kulturelle und wirtschaftliche Blüte. Im Deutsch-Sowjetischen Nichtangriffspakt vom 23.8.1939 wurde Lettland dem Einflussbereich der Sowjetunion überlassen, die von Lettland den Abschluss eines Beistandpakt es erzwang und Lettland im Jahr darauf einverleibte. Nach 1945 wurden etwa 100.000 Letten nach Mittelasien und Sibirien deportiert, dieselbe Anzahl von Nichtletten in Lettland angesiedelt. 1990 proklamierte das lettische Parlament die

Wiederherstellung der souveränen Republik Lettland. Entsprechend heterogen ist die Bevölkerungsstruktur: 1995 waren 54,8 % Letten, 32,8 % Russen, 4,3 % Weißrussen, 2,8 % Ukrainer, 2,6 % Polen und 1,4 % Litauer.



Abbildung 2.2: Übersichtskarte Lettland.

2.2 Charakterisierung der STRs

Die zehn X-chromosomalen STRs dieser Studie DXS6807, DXS8378, ARA, DXS9898, DXS101, DXS7424, DXS7133, HPRTB, DXS8377, und DXS10011 verteilen sich auf vier Kopplungsgruppen (Abbildung 2.3). Kopplungsgruppe 1 umfasst DXS6807 und DXS8378 auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms. Die übrigen STRs gehören zu Kopplungsgruppen, die alle auf dem langen Arm des X-Chromosoms lokalisiert sind. Zur Kopplungsgruppe 2 gehören fünf STRs der zehn untersuchten STRs, nämlich ARA, DXS9898, DXS101, DXS7424 und DXS7133. Zur Kopplungsgruppe 3 gehört lediglich der STR HPRTB und in Kopplungsgruppe 4 befinden sich die beiden STRs DXS8377 und DXS10011.

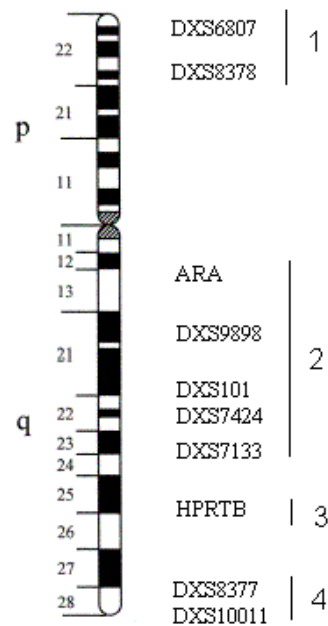


Abbildung 2.3: X-Chromosom Idiogramm (Szibor et al., 2003b; Hering et al., 2004) Die Zahlen 1 bis 4 am rechten Rand bezeichnen die Kopplungsgruppen.

2.2.1 DXS6807

DXS6807 ist ein Tetranukleotid-Marker mit dem Motiv *GATA*. Er wurde 1995 von Murray, Sheffield, Weber, Duyk und Buetow beim Cooperative Human Linkage Center als sequence tagged site (STS) eingetragen. Wie in Abbildung 2.3 zu sehen gehört er zur Kopplungsgruppe 1 (Xpter-Xp22.2). Die Produktlängen der sieben Allele 11, 12,13,14,15,16 und 17 reichen von 251 bis 275 bp (Tabelle 2-1).

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
11	251	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₈ -TGT
12	255	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₉ -TGT
13	259	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₁₀ -TGT
14	263	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₁₁ -TGT
15	267	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₁₂ -TGT
16	271	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₁₃ -TGT
17	275	(GATA) ₁ -GTAATGA-(GATA) ₂ -GAC-(GATA) ₁₄ -TGT

Tabelle 2-1: Nomenklatur der Allele von DXS6807 mit Sequenzen und Fragmentlängen. (Edelmann und Szibor, 1999).

2.2.2 DXS8378

Für diesen Tetranukleotid-Marker (CTAT)_n sind sieben Allele mit Fragmentlängen zwischen 195 und 211 bp beschrieben worden. Er gehört in die Kopplungsgruppe 1. Erstbeschreiber waren Buetow, Murray und Rosen (<http://www.gdb.org>).

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
8	110	(CTAT) ₈
9	114	(CTAT) ₉
10	118	(CTAT) ₁₀
11	122	(CTAT) ₁₁
12	126	(CTAT) ₁₂
13	130	(CTAT) ₁₃
14	134	(CTAT) ₁₄

Tabelle 2-2: Nomenklatur der Allele von DXS8378 mit Sequenzen und Fragmentlängen. (Edelmann et al., 2002)

2.2.3 ARA

Dieser Trinuklotid-Marker (CAG)_n liegt innerhalb des Androgenrezeptors an Position Xq12.2 in der Kopplungsgruppe 2. Die Produktlängen reichen von 258 bis 312 bp und es werden die Allele 12 bis 32 angegeben (Tabelle 2-3). Erstbeschreiber war Edwards et al. (1991).

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
12	258	(CAG) ₁₂
13	261	(CAG) ₁₃
14	264	(CAG) ₁₄
15	267	(CAG) ₁₅
16	270	(CAG) ₁₆
17	273	(CAG) ₁₇
18	276	(CAG) ₁₈
19	279	(CAG) ₁₉
20	282	(CAG) ₂₀
21	285	(CAG) ₂₁
22	288	(CAG) ₂₂
23	291	(CAG) ₂₃
24	294	(CAG) ₂₄
25	297	(CAG) ₂₅
26	300	(CAG) ₂₆
27	303	(CAG) ₂₇
28	306	(CAG) ₂₈
29	309	(CAG) ₂₉
30	312	(CAG) ₃₀
31	315	(CAG) ₃₁
32	318	(CAG) ₃₂

Tabelle 2-3: Nomenklatur der Allele von ARA mit Sequenzen und Fragmentlängen.

2.2.4 DXS9898

DXS9898 (Synonym: CHLC GATA126G01) ist ein Tetranukleotid-Marker, der als sequence tagged site (STS) 1995 von Murray, Sheffield, Weber, Duyk und Buetow beim Cooperative Human Linkage Center eingetragen wurde. Er gehört zur Kopplungsgruppe 1 (Xq21.33). Hering und Szibor (2000) beschrieben Produktlängen

von 189 bis 214 bp bei insgesamt sieben Allelen: 8.3 und 10 bis 15. Die Benennung der einzelnen Allele zeigt die folgende Tabelle.

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
8.3	189	(TATC) ₂ -(ATC)-(TATC)-(ATC)-(TATC) ₅
10	194	(TATC) ₂ -(ATC)- (TATC) ₈
11	198	(TATC) ₂ -(ATC)- (TATC) ₉
12	202	(TATC) ₂ -(ATC)- (TATC) ₁₀
13	206	(TATC) ₂ -(ATC)- (TATC) ₁₁
14	210	(TATC) ₂ -(ATC)- (TATC) ₁₂
15	214	(TATC) ₂ -(ATC)- (TATC) ₁₃

Tabelle 2-4: Nomenklatur der Allele von DXS9898 mit Sequenzen und Fragmentlängen. (Hering und Szibor, 2000)

2.2.5 DXS101

Dies ist ein Trinukleotid-Marker mit zwei verschiedenen variablen Motiven: *CTT* und *ATT* und wurde 1993 von Allen und Belmont erstmals beschrieben. Er liegt in der Kopplungsgruppe 2 (Xq21.33-Xq22.3) (Abbildung 2.3). Es wurden 18 Allele gefunden mit Längen von 179 bis 233 bp. Durch die Kombination der zwei Motive ergeben sich für einige Allele mehrere mögliche Sequenzen (Tabelle 2-5).

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
14	179	
15	182	-(CTT) ₆ -(ATT) ₉ -
16	185	-(CTT) ₆ -(ATT) ₁₀ -
18	191	-(CTT) ₈ -(ATT) ₁₀ -
	191	-(CTT) ₇ -(ATT) ₁₁ -
21	200	-(CTT) ₁₇ -(ATT) ₄ -
22	203	-(CTT) ₁₆ -(ATT) ₆ -
23	206	-(CTT) ₁₅ -(ATT) ₇ -
24	209	-(CTT) ₁₅ -(ATT) ₉ -
	209	-(CTT) ₁₂ -(ATT) ₁₂ -
	209	-(CTT) ₁₄ -(ATT) ₁₀ -
	209	-(CTT) ₁₇ -(ATT) ₇ -
	209	-(CTT) ₁₉ -(ATT) ₅ -
25	212	-(CTT) ₁₃ -(ATT) ₁₂ -
	212	-(CTT) ₁₆ -(ATT) ₉ -
	212	-(CTT) ₁₉ -(ATT) ₆ -
	212	-(CTT) ₁₈ -(ATT) ₇ -
26	215	-(CTT) ₁₄ -(ATT) ₁₂ -
	215	-(CTT) ₁₅ -(ATT) ₁₁ -
	215	-(CTT) ₁₇ -(ATT) ₉ -
28	221	-(CTT) ₁₇ -(ATT) ₁₁ -
30	227	-(CTT) ₁₉ -(ATT) ₁₁ -

Tabelle 2-5: Nomenklatur der Allele von DXS101 mit Sequenzen und Fragmentlängen.
(Edelmann et al., 2000)

2.2.6 DXS7424

Es handelt sich um einen Trinukleotid-Marker *TAA* (Synonym GDB-G00-577-633) im Intron 5 des humanen Bruton-Tyrosin-Kinase-Gens. DXS7424 gehört zur Kopplungsgruppe 2, weist 12 Allele mit Produktlängen zwischen 147 und 180 bp auf und wurde zuerst von Caggana et al. (1997) beschrieben.

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
9	147	(TAA) ₉
10	150	(TAA) ₁₀
11	153	(TAA) ₁₁
12	156	(TAA) ₁₂
13	159	(TAA) ₁₃
14	162	(TAA) ₁₄
15	165	(TAA) ₁₅
16	168	(TAA) ₁₆
17	171	(TAA) ₁₇
18	174	(TAA) ₁₈
19	177	(TAA) ₁₉
20	180	(TAA) ₂₀

Tabelle 2-6: Nomenklatur der Allele von DXS7424 mit Sequenzen und Fragmentlängen. (Edelmann et al., 2002)

2.2.7 DXS7133

Ein Tetranukleotid-Marker (ATAG)_n mit sieben beschriebenen Allelen und Fragmentlängen von 107 bis 133 bp. Er gehört zur Kopplungsgruppe 2. Erstbeschreiber waren Buetow, Murray und Rosen (<http://www.gdb.org>).

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
7	106	(ATAG) ₇
8	110	(ATAG) ₈
9	114	(ATAG) ₉
10	118	(ATAG) ₁₀
11	122	(ATAG) ₁₁
12	126	(ATAG) ₁₂
13	130	(ATAG) ₁₃

Tabelle 2-7: Nomenklatur der Allele von DXS7133 mit Sequenzen und Fragmentlängen. (Edelmann et al., 2002; ergänzt)

2.2.8 HPRTB

Bei HPRTB handelt es sich um einen Tetranukleotid-Marker $(AGAT)_n$ im Intron 3 der humanen Hypoxanthin Phosphoribosyltransferase (kurz: HPRT). Er wurde zuerst von Hearne und Todd 1991 beschrieben. Seine chromosomale Lokalisation wird mit Xq26.1 angegeben. Eine Kopplung von HPRTB mit anderen X-chromosomalen STRs konnte bisher nicht gefunden werden, daher steht er allein in der Kopplungsgruppe 3 (Abb. 2-1). Die Produktlänge reicht von 259 bis 303 bp.

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
6	259	$(AGAT)_6$
7	263	$(AGAT)_7$
8	267	$(AGAT)_8$
9	271	$(AGAT)_9$
10	275	$(AGAT)_{10}$
11	279	$(AGAT)_{11}$
12	283	$(AGAT)_{12}$
13	287	$(AGAT)_{13}$
14	291	$(AGAT)_{14}$
15	295	$(AGAT)_{15}$
16	299	$(AGAT)_{16}$
17	303	$(AGAT)_{17}$

Tabelle 2-8: Nomenklatur der Allele von HPRTB mit Sequenzen und Fragmentlängen.

2.2.9 DXS8377

Dies ist ein Trinukleotid-Marker mit einer etwas komplexeren Struktur: $(AGA)_x-(GGA-AGA)_y-(AGA)_z-GGA-(AGA)_6$. Es sind die fortlaufenden Allele von 37 bis 60 bekannt (Tabelle 2-9) und Fragmentlängen von 204 bis 273 bp. Edelmann et al. (2002) fanden in mehreren Allelen unterschiedliche Strukturen, die zur gleichen Basenpaarzahl führten, so z.B. bei Allel 42, 45, 47, 48, 49 und 51. Er gehört zur Kopplungsgruppe 4 (Xq28) (Abbildung 2.3) und wurde zuerst von Hu et al. (1996) beschrieben.

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
37	204	
38	207	(AGA) ₁₉ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
39	210	
40	213	
41	216	(AGA) ₂₂ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
42	219	(AGA) ₂₁ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	219	(AGA) ₂₃ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
43	222	(AGA) ₂₂ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
44	225	(AGA) ₂₅ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
45	228	(AGA) ₂₆ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	228	(AGA) ₂₄ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
46	231	(AGA) ₂₅ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
47	234	(AGA) ₂₆ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	234	(AGA) ₂₈ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
48	237	(AGA) ₂₇ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	237	(AGA) ₂₅ -(GGA-AGA) ₇ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
49	240	(AGA) ₂₈ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	240	(AGA) ₃₀ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
50	243	(AGA) ₂₉ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
51	246	(AGA) ₂₈ -(GGA-AGA) ₇ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	246	(AGA) ₃₀ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
	246	(AGA) ₃₂ -(GGA-AGA) ₅ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
52	249	(AGA) ₃₁ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
53	252	(AGA) ₃₂ -(GGA-AGA) ₆ -(AGA) ₂ -GGA-(AGA) ₆
54	255	
55	258	
56	261	
57	264	
58	267	
59	270	
60	273	

Tabelle 2-9: Nomenklatur der Allele von DXS8377 mit Sequenzen und Fragmentlängen.
(Edelmann et al., 2002)

2.2.10 DXS10011

Bei diesem Marker handelt es sich um einen Tetranukleotid-Marker mit insgesamt 36 Allelen, davon acht Zwischenallele. Ursprünglich wurde dieses STR dem Y-Chromosom unter der Bezeichnung DYS384 zugeordnet (Gerken et al., L29968 in DDBJ und GeneBank databases). Neuere Untersuchungen von Watanabe et al. (2000) zeigten, dass dieser STR auf dem langen Arm des X-Chromosoms lokalisiert ist. Dies führte zur Umbenennung in DXS10011 (Matsuki T, accession ID GDB:312393).

Die Fragmentlängen reichen von 137 bis 257 bp. Die regulären Allele weisen die Basenabfolge $-AAGAA(\mathbf{GAAA})_n GAAGGAAAG(GAAG)$ auf. Die Zwischenallele lassen sich in drei Gruppen gliedern, wie Tabelle 2-10 zeigt. Der STR-Marker gehört zur Kopplungsgruppe 4 (Abbildung 2.3), (Hering et al., 2004).

Allel	Fragmentlänge [bp]	Sequenz
reguläre Allele mit dem Motiv $-AAGAA(\mathbf{GAAA})_n-$		
20	157	$-AAGAA(\mathbf{GAAA})_{20}GAAGGAAAG(GAAG)$
27	185	$-AAGAA(\mathbf{GAAA})_{27}GAAGGAAAG(GAAG)$
38	229	$-AAGAA(\mathbf{GAAA})_{38}GAAGGAAAG(GAAG)$
Zwischenallele Gruppe 1 mit dem Motiv $-CAGAA(\mathbf{GAAA})GA(\mathbf{GAAA})_6(\mathbf{GAGA})(\mathbf{GAAA})_n-$		
22.2	167	$CAGAA(\mathbf{GAAA})GA(\mathbf{GAAA})_6(\mathbf{GAGA})(\mathbf{GAAA})_{14}GAAGGAAAG(GAAG)-$
27.2	187	$CAGAA(\mathbf{GAAA})GA(\mathbf{GAAA})_6(\mathbf{GAGA})(\mathbf{GAAA})_{18}GAAGGAAAG(GAAG)-$
Zwischenallele Gruppe 2 mit dem Motiv $-AAGAAA(\mathbf{GAAA})_n-$		
28.1	190	$-AAGAAA(\mathbf{GAAA})_{28}GAAGGAAAG(GAAG)-$
36.1	222	$-AAGAAA(\mathbf{GAAA})_{36}GAAGGAAAG(GAAG)-$
Zwischenallele Gruppe 3 mit dem Motiv $-AAGAA(\mathbf{GAAA})_2(\mathbf{GAA})(\mathbf{GAAA})_n-$		
35.3	220	$-AAGAA(\mathbf{GAAA})_2(\mathbf{GAA})(\mathbf{GAAA})_{33}GAAGGAAAG(GAAG)$

Tabelle 2-10: Beispiele für die Nomenklatur der Allele von DXS10011 mit Sequenzen und Fragmentlängen (Lee et al., 2004).

2.3 DNA-Isolation

2.3.1 DNA-Isolation aus Blut

Material und Geräte:

Invisorb® Spin Blood Mini Kit
Proteinase K
Biofuge

Invitek, Berlin
Sigma, Deisenhofen
Heraeus, Hanau

Die DNA-Extraktion erfolgte mit dem Invisorb® Spin Blood Mini Kit. Dabei mussten zunächst die zellkernlosen, aber hämoglobinhaltigen Erythrozyten eliminiert werden, die immerhin um den Faktor 1000 häufiger im Blut vorhandenen sind als die kernhaltigen Leukozyten.

Für die Extraktion wurden die Zellen mittels Proteinkinase K lysiert, das Lysat über einen DNA-bindenden Zentrifugenfilter gegeben, der das Waschen der gebundenen DNA erlaubt. Abschließend wurde die DNA wieder von diesem Filter eluiert. Durch das gezielte Binden der DNA wurden quantitativ Zellreste und vor allem Hämoglobin, das in der anschließenden PCR das Schlüsselenzym Polymerase stören würde, entfernt.

Die DNA-Extraktion erfolgte nach der Vorschrift des Herstellers. Für die Lyse der Erythrozyten wurden 200 µl der aufgetauten oder frischen Blutprobe in ein 1.5 ml Eppendorfcap pipettiert, 1 ml EL Puffer (4 °C) hinzugegeben, kurz gemischt und für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Durch Zentrifugieren bei 5000 rpm für 1 Minute bildete sich ein Lymphozytenpellet. Der Überstand wurde vorsichtig verworfen. Auf das Pellet wurden 400 µl Lysis Puffer A gegeben sowie 20 µl Proteinase K. Nach kurzem Durchmischen wurde das Eppendorfcap für 7 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur und leichtem Schütteln inkubiert. Durch Zugabe von 200 µl Bindungspuffer A mit anschließendem kurzem Durchmischen wurden die optimalen Bindungsbedingungen geschaffen. Die Probe wurde nun auf den Zentrifugenfilter geladen und für 1 Minute inkubiert. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation bei 12000 rpm für 2 Minuten. Das Filtrat wurde verworfen. Für den ersten Waschschrift wurden 550 µl Waschpuffer I zugegeben und bei 12000 rpm für 1 Minute zentrifugiert. Das Filtrat wurde erneut verworfen. Für den zweiten Waschschrift wurden 550 µl Waschpuffer II zugegeben und wiederum bei 12000 rpm für 1 Minute zentrifugiert. Auch dieses Filtrat wurde verworfen und der Waschschrift Nummer II wiederholt. Um die Ethanolreste zu entfernen wurde nach der

Wiederholung des zweiten Waschlages für 4 Minuten bei maximaler Geschwindigkeit zentrifugiert. Für die Eluierung der DNA von dem Filter wurde dieser in ein neues 1,5 ml Auffanggefäß gegeben, 100 µl vorgewärmter Elutionspuffer D auf das Zentrum des Zentrifugenfilters pipettiert und für 3 Minuten inkubiert. Anschließend wurde für 1 Minute bei 10000 rpm zentrifugiert. Es wurden erneut 100 µl Elutionspuffer D auf den Zentrifugenfilter gegeben und wieder für 1 Minute bei 10000 rpm zentrifugiert. In den insgesamt 200 µl Elutionpuffer D befand sich die extrahierte DNA. Die DNA wurde bei -20°C eingefroren gelagert.

2.3.2 DNA-Isolation aus Gewebe

Material und Geräte:

High Pure PCR Template Preparation Kit	Roche Applied Science, Mannheim
Proteinase K	Sigma, Deisenhofen
Biofuge	Heraeus, Hanau
Xylol	Merck Bioscience, Schwalbach
Ethanol	Merck Bioscience, Schwalbach
Isopropanol	Merck Bioscience, Schwalbach

Für die Isolation von Nukleinsäuren aus in Paraffin gebetteten Geweben wurden zunächst Probenstücke in Xylol entparaffiniert und anschließend in absteigender Ethanolreihe (100%, 80 %, 60 % und 40 % Ethanol) rehydriert. Die DNA-Isolation erfolgte dann mit dem *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim) für die Isolierung hochmolekularer Nukleinsäuren mit 30 - 50 kb. Um eine Zellyse und Deaktivierung der DNasen zu erreichen wurden zu 25-50 mg Gewebe 200 µl Gewebe Lysis Puffer und 40 µl Proteinkinase K gegeben, unverzüglich gemischt und über Nacht bei 55 °C inkubiert.

Zum Binden der DNA an den Glasfaserfilter wurden zunächst 200 µl Bindungspuffer zugegeben, gründlich gemischt und für 10 min bei 72 °C inkubiert. Anschließend wurden 100 µl Isopropanol zugegeben und mit der Probe ebenfalls vermischt. Unlösliche Bestandteile wurden mittels einer Pipette verworfen, der verbleibende flüssige Anteil der Probe in das entsprechende Collectiontube mit enthaltenem Filtertube pipettiert und für 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert. Nun wurden Durchfluß und Collectiontube verworfen und der Filtertube in ein neues Collectiontube

eingesetzt. Auf den Filter wurden dann 500 µl Inhibitor Removal Puffer gegeben und erneut für 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert.

Die so gebundene DNA wurde durch Wasch-Zentrifugationsschritte (Zugabe von 500 µl Waschpuffer und Zentrifugieren für 1 min bei 8000 rpm) von den übrigen Zellkomponenten getrennt und gereinigt. Waschpufferreste wurden durch 10 sec. Zentrifugation bei Maximalgeschwindigkeit (14000 rpm) entfernt.

Nach dem Waschen konnte die DNA mit einem niedrig konzentrierten Puffer eluiert werden indem 200 µl vorgewärmter Elutionspuffer (70 °C) auf den Filter gegeben wurden mit anschließender Zentrifugation für 1 min bei 8000 rpm.

Enthalten sind im „High Pure PCR Template Preparation Kit“ die Pufferlösungen *Tissue Lysis Buffer* (Gewebe Lysis Puffer): 4 M Urea, 200 mM Tris, 20 mM NaCl, 200 mM EDTA, pH 7,4 bei 25 °C, *Binding Buffer* (Bindungspuffer): 6 M Guanidine-HCl, 10 mM Urea, 10 mM Tris-HCl, 20 % Triton X-100, pH 4,4 bei 25 °C, *Proteinase K* als Lyophilisat zum Auflösen in Bidest, für die Zelllyse und zur Inaktivierung endogener DNasen, *Inhibitor Removal Buffer* (Inhibitor Entfernungspuffer): 5 M Guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH 6,6 bei 25 °C als Endkonzentrationen nach Zugabe von 20 ml absoluten Ethanol, *Wash Buffer* (Waschpuffer): 20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7,5 bei 25 °C als Endkonzentrationen nach Zugabe von 80 ml absoluten Ethanol, *Elution Buffer* (Elutionspuffer): 10 mM Tris-HCl, pH 8,5 bei 25 °C. Enthalten sind weiterhin *High Pure Filter Tubes* und *Collection Tubes*.

2.4 DNA-Amplifikation

Material und Geräte:

dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Amersham Pharmacia
HotStart Taq-DNA Polymerase	Qiagen, Hilden
PCR-Puffer und MgCl ₂ -Lösung	Qiagen, Hilden
Unmarkierte und Fluoreszenzmarkierte Primer	MWG Biotech and biomers.net, Ulm
Trio Thermoblock	Biometra, Göttingen

Die **Polymerase Chain Reaktion** oder Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR, Saiki et al., 1988) ist ein in vitro Verfahren zur Amplifizierung von DNA, das sich das Enzym DNA-abhängige DNA-Polymerase zu Nutze macht. Sie wurde 1987 von Kary B. Mullis entwickelt.

Das Grundprinzip dieser extremen DNA-Vervielfältigung entspricht dabei den natürlichen Vorgängen bei der DNA-Replikation. Nach einer Denaturierung des Doppelstranges in zwei Einzelstränge werden Oligonukletide als Primer eingesetzt, die komplementär homolog zu dem (+)- bzw.(-)-Strang sind, um ein kurzes Stück doppelsträngige DNA zu erhalten (Annealing). Dieses Stück doppelsträngige DNA benötigt das Enzym DNA-abhängige DNA-Polymerase zur Anlagerung an die DNA. Die DNA-Polymerase synthetisiert dann an beiden Einzelsträngen einen komplementären Strang (Elongation). Die so neu entstandenen Doppelstränge werden wieder getrennt und jeder einzelne erneut durch die Polymerase zu einem Doppelstrang ergänzt. Auf diese Weise kommt es zu einer exponentiellen Vermehrung der DNA. Das Besondere an der PCR ist, dass die Amplifikation in speziellen kleinen Reaktionsgefäßen durchgeführt werden kann, die während der gesamten Prozedur dank einer thermostabilen Polymerase in einem Thermocycler verbleiben können. Für die Automatisierung der PCR ist dies ein wichtiger Aspekt.

Die Phasen der PCR: Denaturierung, Annealing und Elongation oder Synthese werden immer wieder durchlaufen. Der Thermocycler ändert dazu automatisch die Temperatur des Reaktionsgemisches entsprechend des eingegebenen Programms. In der ersten Phase erfolgt die **Denaturierung**, also die Trennung des zunächst als Doppelstrang vorliegenden DNA-Materials bei Temperaturen von 94-95 °C. In der zweiten Phase, dem **Annealing**, lagern sich die Primer an homologe Bereiche der zu amplifizierenden DNA an. Die Annealingtemperatur hängt ab von der Länge und der Basenzusammensetzung der Primer und liegt bei 40-65 °C. In der dritten Phase findet die „Kettenverlängerung“ oder **Synthese** des komplementären Stranges durch das Enzym DNA-Polymerase mittels Nukleotidveresterung ausgehend vom 3'OH-Ende des Primers statt. Heute wird oft die Taq-Polymerase aus *Thermus aquaticus* verwendet, da sie hitzestabil ist. Sonst müsste die Polymerase nach jedem Zyklus neu dazugegeben werden und eine Automatisierung der PCR würde erschwert. Das Temperaturoptimum des Enzyms beträgt 72 °C und wird während der Synthesephase eingehalten.

Da die Taq-Polymerase bereits bei Raumtemperatur sowie in der vorgeschalteten Anfangsphase aktiv ist, kann es zur Verlängerung von nicht spezifisch angelagerten Primern kommen, oder es können Primer verlängert werden, die miteinander in Wechselwirkung getreten sind, sogenannte Primer-Dimere. Dadurch wird die PCR unspezifischer oder kann auch ganz misslingen. Mittels der HotStart-PCR ist es

möglich die Spezifität einer PCR zu erhöhen (Chou et al., 1992). Die HotStart-PCR findet besonders dann Anwendung, wenn nur wenige Moleküle zur Amplifikation verfügbar sind (Einzelzell-PCR) oder wenn mehrere Primerpaare gleichzeitig eingesetzt werden, wie hier in Multiplex-Ansätzen. Ermöglicht wird die HotStart-PCR durch eine spezielle Polymerase, die ihre Enzymaktivität erst aufnimmt, nachdem sie eine bestimmte Zeit einer höheren Temperatur, etwa in Höhe der Denaturierungstemperatur, ausgesetzt war. Die hier verwendete HotStarTaq-Polymerase beginnt erst nach einer 12 minütigen Inkubation bei 95 °C mit der Synthese.

Flankiert wird der zyklische Ablauf von Trennung, Annealing und Synthese von einer **Anfangs-** und einer **Endphase**. In der Anfangsphase wird zur vollständigen Denaturierung der DNA für eine gewisse Zeit, z.B. für 2 Minuten eine Temperatur von 95 °C, bei einer HotStart-PCR auch länger, gehalten. Zum Abschluss wird zur vollständigen Beendigung aller angefangenen Polymerisationen eine bestimmte Zeit, z.B. mindestens 10 Minuten bei 72 °C inkubiert.

Im Reaktionsansatz der PCR müssen enthalten sein:

1. zwei Primer in ausreichender Menge, da der Doppelstrang aus zwei komplementären Einzelsträngen besteht
2. Template-DNA, also die DNA, die vervielfältigt werden soll
3. Nukleotid-Gemisch mit dATP, dGTP, dCTP, dTTP, den Bausteinen der DNA
4. Thermostabile Polymerase z.B. Taq, Vent oder Pfu
5. PCR-Puffer: hier ein einfacher mit KCl, Tris-HCl, MgCl₂ (freies Mg²⁺ wird von der Taq-Polymerase benötigt)

Die Konzentration der einzelnen Komponenten muss oft empirisch für die jeweilige PCR ermittelt werden, genau wie die optimalen Temperaturen.

2.4.1 Amplifizierung der einzelnen STRs

Mit diesem Protokoll wurden alle zehn STRs einzeln und in getrennten Ansätzen amplifiziert. Auf diese Weise wurde vor der Zusammenstellung der Multiplex-PCRs das Temperaturoptimum und die optimale $MgCl_2$ -Konzentration der einzelnen Primerpaare bestimmt. Außerdem wurden diese Protokolle verwendet, um einzelne Allele der STRs aus DNA-Proben von hemizygoten Männern zu sequenzieren. Aus diesen sequenzierten Allelen wurde eine Allelleiter, also ein Standard für jeden STR erstellt.

STR	Primersequenz	Annealingtemperatur
DXS9898	5'CgAgCACACCTACAAAAGCT	58 °C
	5'TCgATTAggTTCAGTTCCCA	
DXS6807	5'gAgCAATgATCTCATTTgCA	58 °C
	5'AAgTAAACATgTATAggAAAAAGCT	
DXS101	5'ACTCTAAATCAgTCCAAATATCT	58 °C
	5'AAATCACTCCATggCACATgTAT	
HPRTB	5'TCTCTATTTCCATCTCTgTCTCC	58 °C
	5'TCACCCCTgTCTATggTCTCg	
ARA	5'TCCAgAATCTgTTCCAgAgCgTgC	58 °C
	5'gCTgTgAAggTTgCTgTTCCTCAT	
DXS7133	5'gCTTCCTTAgATggCATTCA	60 °C
	5'CTTCCAAgAATCAgAAgTCTCC	
DXS10011	5'CTgAgATTgCACCATTTgCAC	60 °C
	5'TgggAgAACCGTTTgAAgTT	
DXS7424	5'CTgCTTgAgTCCAggAATTCAA	60 °C
	5'gAACACgCACATTTgAgAACATA	
DXS8377	5'CACTTCATggCTTACCACA	56 °C
	5'gACCTTTggAAAAGCTAgTgT	
DXS8378	5'CACAggAggTTTgACCTgTT	56 °C
	5'AACTgAgATggTgCCTgA	

Tabelle 2-11: Primersequenzen der zehn STRs.

In einem Reaktionsvolumen von 25 µl wurden 30 ng DNA eingesetzt mit 200 µM dNTPs, 1,5 mM MgCl₂, 15 mM Tris/HCl, 50 mM KCl, 0,3 µM unmarkierte Primer (siehe Tabelle 2-11). und 1 Einheit HotStart Taq. Die PCR begann mit einem Denaturierungs- und Aktivierungsschritt von 12 Minuten bei 95 °C, dann folgten 30 Zyklen mit je 30 Sekunden bei 95 °C (Trennung der Doppelstränge), 90 Sekunden bei der gewählten Ann.-temp. (Tab 2-11) (Annealing, Anlagerung der Primer an die komplementären Sequenzen der Template-DNA) und 120 Sekunden bei 72 °C (Synthese der komplementären Sequenzen als Verlängerung der Primer). Die PCR endete mit 30 Minuten bei 72 °C, um sicher alle begonnenen Synthesen zu Ende zu führen.

2.4.2 Multiplexverfahren

Diese Methode ermöglicht die gleichzeitige Vervielfältigung mehrerer verschiedener DNA-Abschnitte. Die Bedingungen sind dabei schwieriger einzustellen als bei einer einfachen PCR. Sie müssen empirisch für jede Primerkombination ermittelt werden. Um die PCR-Produkte eines Multiplexansatzes in der anschließenden Analyse unterscheiden zu können, werden Fluoreszenz-markierte Primer eingesetzt. Zum Einsatz kommen die Fluorophoren FAM, JOE und TAMRA. Eine Tabelle mit den Charakteristika der einzelnen Fluorophoren findet sich im Anhang.

Für den Ansatz einer Multiplex-PCR werden genau dieselben Komponenten benötigt wie bei einer Einzel-PCR, also Nukleotidgemisch, thermostabile Polymerase, Puffer, Template-DNA und Primer. Der Unterschied besteht darin, dass mehrere Primerpaare gleichzeitig eingesetzt werden, und dass jeweils ein Primer Fluoreszenz-markiert ist.

In dieser Studie wurden zehn STR-Loci zu zwei Multiplex-PCRs kombiniert. Zunächst wurden die STRs DXS9898, DXS6807, DXS101, HPRTB und ARA zusammengefasst, im Weiteren als X-Pentaplex 1 (Tabelle 2-12) bezeichnet. Danach wurden, die STRs DXS7133, DXS10011, DXS7424, DXS8377 und DXS8378 kombiniert, im Weiteren als X-Pentaplex 2 (Tabelle 2-13) bezeichnet.

STR	Primersequenz	Konz.	Label	[bp]	Literatur
DXS9898	5'CgAgCACACCTACAAAAGCT 5'TCgATTAggTTCAGTTCCCA	3pmol	FAM	188- 215	Hering & Szibor (2000)
DXS6807	5'gAgCAATgATCTCATTTgCA 5'AAgTAAACATgTATAggAAAAgCT	5pmol	FAM	250- 270	Edelmann & Szibor (1999)
HPRTB	5'TCTCTATTTCCATCTCTgTCTCC 5'TCACCCCTgTCTATggTCTCg	2pmol	JOE	153- 170	Edwards et al. (1992)
DXS101	5'ACTCTAAATCAgTCCAAATATCT 5'AAATCACTCCATggCACATgTAT	5pmol	JOE	180- 220	Edelmann & Szibor (2001)
ARA	5'TCCAgAATCTgTTCCAgAgCgTgC 5'gCTgTgAAggTTgCTgTTCCTCAT	5pmol	TAMRA	260- 286	Desmarais et al. (1998)

Tabelle 2-12: Pentaplex 1 mit den STRs DXS9898, DXS6807, DXS101, HPRTB und ARA, sowie die zugehörigen Primersequenzen, Fluoreszenzmarkierung und Längenbereich.

STR	Primersequenz	Konz.	Label	[bp]	Literatur
DXS7133	5'gCTTCCTTAgATggCATTCA 5'CTTCCAAgAATCAgAAgTCTCC	3pmol	FAM	104- 128	Edelmann et al. (2002)
DXS10011	5'CTgAgATTgCACCATtGcAC 5'TgggAgAACCgTTTgAAgTT	5pmol	FAM	221- 317	Hering et al. (2004)
DXS7424	5'CTgCTTgAgTCCAggAATTCAA 5'gAACACgCACATTTgAgAACATA	3pmol	JOE	145- 175	Edelmann et al. (2000)
DXS8377	5'CACTTCATggCTTACCACAg 5'gACCTTTggAAAgCTAgTgT	6pmol	JOE	211- 257	Edelmann et al. (2002)
DXS8378	5'CACAggAggTTTgACCTgTT 5'AACTgAgATggTgCCTgA	4pmol	TAMRA	198- 222	Edelmann et al. (2002)

Tabelle 2-13: Pentaplex 2 mit den STRs DXS7133, DXS10011, DXS7424, DXS8377 und DXS8378, sowie die zugehörigen Primersequenzen, Fluoreszenzmarkierung und Längenbereich.

Ein PCR-Multiplexansatz umfasste 12,5 µl mit Primern in der in Tabelle 2-12 und Tabelle 2-13 aufgeführten Konzentration, 15 mM Tris/HCl, 50 mM KCl, 100 µM von jedem der vier dNTPs, 1,5 mM MgCl₂ und einer Einheit HotStart Taq Polymerase. Es wurden 2-5ng DNA eingesetzt.

Die Multiplex-PCR begann mit einem Denaturierungs- und Aktivierungsschritt von 12 Minuten bei 95 °C, gefolgt von 30 Zyklen mit je 1 Minute bei 95 °C (Trennung der Doppelstränge), 1 Minute bei 58 °C (X-Pentaplex 1) bzw. 60 °C (X-Pentaplex 2) (Annealing, Anlagerung der Primer an die komplementären Sequenzen der Template-DNA) und 3 Minuten bei 72 °C (Synthese der komplementären Sequenzen als Verlängerung der Primer). Die PCR endete mit 30 Minuten bei 72 °C, um sicher alle begonnenen Synthesen zu Ende zu führen.

2.5 DNA-Trennverfahren und Färbungen

Zur Trennung von DNA-Gemischen ist die Gelelektrophorese ein wichtiges Instrument, sowohl für präparative als auch für analytische Zwecke. Dabei macht man sich die Wanderung geladener Teilchen im elektrischen Feld zunutze, um selbst komplexe Gemische zu trennen. Als trägegebundenes Elektrophoresesystem erfolgt die Trennung der Moleküle bei der Gelelektrophorese nicht nur auf Grund unterschiedlicher Ladungen, sondern auch auf Grund des Verhältnisses Masse zu Ladung sowie Molekülgröße und Molekülform. Je nach Aufgabenstellung werden Polyacrylamid, Agarose aber auch Celluloseacetat und Stärke als Trägermaterial eingesetzt. Klassischerweise werden diese Trägermaterialien zu festen Gelen verarbeitet, die entsprechend ihrer Herstellungsweise bestimmte Porengrößen und Trenneigenschaften besitzen. Beachtet werden muss, dass die elektrophoretische Beweglichkeit geladener Teilchen abhängt von der Gesamt-Nettoladung des Moleküls, sowie dessen Gestalt und Größe, Porengröße des Trägermaterials, pH-Wert, Temperatur und Ionenstärke der Pufferlösung, die das Gel während der Elektrophorese umgibt und letztlich von der angelegten elektrischen Feldstärke (Cooper, 1981).

Wesentlich für die Trennung von Molekülgemischen ist die anschließende Sichtbarmachung des Ergebnisses. Für Nukleinsäuren kommt u.a. die Färbung des Geles im Anschluß an den Lauf mit Silbernitrat (Ansorge, 1985) oder einem interkalierendem Farbstoff wie Ethidiumbromid in Frage.

2.5.1 Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)

Material und Geräte:

Pharmacia LKB Multiphor II	Amersham Bioenzymes, Freiburg
Pharmacia LKB Multi Temp II	Amersham Bioenzymes, Freiburg
GelBond®PAG film	BioZym Diagnostik GmbH, Hessisch Oldendorf
Pharmacia Sample appl. piece	Amersham Biotech, Freiburg
100 bp DNA Ladder	Invitrogen, Karlsruhe

Die in der Elektrophorese eingesetzten Polyacrylamidgele besitzen ein hohes Auflösungsvermögen. Die dreidimensionale Porenstruktur des Polyacrylamids wird durch radikalische Polymerisation des monomeren Acrylamids und ein

quervernetzendes Agens wie z.B. N,N'-Methylenbisacrylsäureamid erreicht. Ammoniumpersulfat (APS) wird als Radikaldonor und N,N,N',N'-Tetramethyldiamin (TEMED) als Katalysator eingesetzt. Die Porengröße ist durch Variation der Acrylamidkonzentration (T; w/v) sowie durch Veränderung der Quervernetzerkonzentration (C, Anteil des Quervernetzers an der Gesamtacrylamidmasse) steuerbar (Westermeier, 1990). Die Trennschärfe kann bei einer Acrylamidkonzentration von 20 % zwischen 6 und 100 bp betragen. Geringere Acrylamidkonzentrationen führen zu einer geringeren Trennschärfe. Bei nur 3,5 % Acrylamid liegt die Trennbereich nur noch bei 1000 bis 2000 bp (Sambrook et al., 1989).

Hier wurde die PAGE eingesetzt, um erste Informationen über die optimalen Amplifikationsbedingungen der gewählten STRs zu erhalten. Außerdem wurde sie zur Überprüfung von Größe und Menge der PCR-Produkte im Hinblick auf die Sequenzierung genutzt.

Für das STR-Gel mit einem Gesamtvolumen von 30 ml wurden 6,4 ml einer 10 %igen Acryl-PDA, 0,028 M CHES, 0,081 M Tris-Formiat, 221,6 µl einer 10 %igen APS-Lösung und 11,5 µl TEMED sowie 15,5 ml Aqua bidest zusammenpipettiert, vorsichtig gemischt und blasenfrei entsprechend der Herstellerangaben auf die mit der GelBond Folie vorbereitete Glasplatte gebracht. Nach dem Auspolymerisieren war das Gel an der GelBond Folie kovalent gebunden und konnte nach Ablösen von den Glasplatten mit samt der Folie auf die Kühlplatte der Elektrophoresevorrichtung aufgebracht und mittels der Applikationsplättchen mit Proben sowie DNA-Leiter beschickt werden.

Die Elektrophorese wurde vorgenommen für eine Stunde mit 1000 V, 40 mA und 5 W, dann eine weitere Stunde mit 1000 V, 40 mA und 10 W und anschließend 1000 V, 40 mA und 15 W bis die Lauffront den anodischen Pufferstreifen erreicht hatte.

Zur Sichtbarmachung der Banden wurde eine Silberfärbung angeschlossen.

2.5.2 Silberfärbung

Material:

Alle Chemikalien wurden von der Fa. Sigma mit dem Reinheitsgrad per analysi bezogen.

Die Silberfärbung (Merril et al., 1981) ist eine empfindliche Färbung, die auf der Komplexierung von Silberionen an Phosphorsäureestern der DNA beruht. Die so gebundenen Silberionen werden zu elementarem Silber reduziert und dadurch sichtbar. Auch kleine DNA-Mengen bis 0,5 ng (Budowle et al., 1991) können so nachgewiesen werden.

Die hier verwendete Silberfärbung nach Allen et al. (1989) erfolgte in den Schritten Fixieren, Färben, Entwickeln und Abstoppen. Anschließend wurden die Gele durch Trocknen konserviert. Zum Fixieren wurden die Gele für 10 Minuten in 2 %iger Salpetersäure (HNO_3) inkubiert und anschließend 30 Sekunden in Bidest gewaschen. Gefärbt wurde für 20 Minuten in 1 %iger Silbernitrat (AgNO_3). Danach wurde erneut mit Bidest gewaschen. Nun wurden die Gele solange in einer Entwicklerlösung (0,28 M NaCO_3 , 0,037 % Formaldehyd) belassen, bis die Allelleiter gut sichtbar war. Bei Erreichen des optimalen Färbeergebnisses wurden die Gele sofort zum Abstoppen der Entwicklungsreaktion in 10 % Essigsäure gegeben und dort für wenigstens 3 Minuten belassen. Für die Konservierung der Gele wurden diese 2 Minuten mit Bidest gewaschen, 5 Minuten in eine 5 % Glycerinlösung gegeben und letztlich bei Raumtemperatur getrocknet.

2.5.3 Kapillarelektrophorese (CE)

Diese Methode der DNA-Trennung stellt eine Weiterentwicklung der klassischen Gelektrophorese dar. Das Trägermedium ist zwar noch gelartig, jedoch flüssig. Dadurch wird die Anwendung in einer Kapillaren ermöglicht, die automatisch an der Kathode mit dem Trägermedium beschickt wird. Die angelegte Hochspannung von 5000 V trennt die negativen und somit zur Anode wandernden DNA-Fragmente entsprechend ihrer Länge: kurze Stücke wandern am schnellsten, lange am längsten. Das Ergebnis wird bei der Kapillarelektrophores (CE) sichtbar gemacht durch Laser-gestützte Anregung von Fluoreszenzmarkierungen, die vor der elektrophoretischen Trennung eingebracht werden. Daher bietet sich dieses Verfahren für solche Trennvorgänge an, die in hohen Stückzahlen erfolgen sollen

und bei denen leicht, z.B. im Rahmen eines ohnehin stattfindenden Reaktionsschrittes, die Fluorophoren eingebracht werden können. Dies ist der Fall bei der DNA-Sequenzierung, bei der die Fluorophoren während der vorgeschalteten PCR eingebracht werden können, und bei der Analyse von Längenpolymorphismen wie STRs. Hier werden die Fluorophoren an die in der PCR verwendeten Primer gekoppelt. Genau wie die Beschickung der Kapillare und der Gellauf erfolgt auch die Detektion und Dokumentation des Laufes automatisch. Am Ende der Kapillaren werden durch ein Fenster die Fluorophoren von einem Laser angeregt und die emittierte Strahlung registriert. Entsprechend ihrer Länge wandern also die kürzesten DNA-Fragmente als erste durch den Laserstrahl am Anodenende der Kapillare und die längsten DNA-Fragmente als letzte. Für die Auswertung lässt man ebenfalls Fluoreszenz-markierte Längenstandards bei jeder Probe mitlaufen.

2.5.4 STR-Analyse

Material und Geräte:

ABI Prism 310 Genetic Analyser	Applied Biosystems (ABI), Darmstadt
Performance optimized Polymere 4	ABI
Formamid	Sigma, Deisenhofen
Kapillare (47 cm lang, 50 µm Ø)	ABI
Rox-Standard 400	ABI

Die STR-Analyse der Pentaplex-PCR erfolgte mittels Kapillarelektrophorese auf dem ABI Prism 310 Genetic Analyser. Für jeden Ansatz wurden 12 µl Formamid, 0,5 µl Standard-Rox 400 und 1 µl Amplifikat zusammengegeben, für 2 Minuten bei 90 °C denaturiert, anschließend auf Eis gekühlt und abzentrifugiert. Die so vorbereiteten Proben wurden im ABI Prism 310 Genetic Analyser kapillargelelektrophoretisch aufgetrennt. Je Probe dauerte die eigentliche Elektrophorese 24 Minuten. Verwendet wurde das im Gerät fest installierte Modul A mit der dazugehörigen Matrix A (ABI Collection Software Version 2.1). Die Größenbestimmung der einzelnen FAM-, JOE- und TAMRA-markierten PCR-Produkte im Vergleich zu dem ROX-markierten Längenstandard wurde mit der in der Gene Scan 3.1–Software implementierten „local Southern method“ automatisch durchgeführt. Die Auswertung erfolgte manuell im Doppelblindverfahren, bei dem zwei Personen unabhängig voneinander die Zuordnung der einzelnen DNA-Peaks zu definierten Allelen der X-STRs vornahmen. Die Alleltypisierung basiert auf selbst hergestellten Leitern aus bekannten Allelen von Zell-Linien und sequenzierten Allelen

aus den untersuchten Proben. Verfügbare und häufig verwendete Zelllinien sind NA9947A, NA9948, NA3657 sowie K562 (Promega bzw. BRL), die zur Herstellung von Allelleitern herangezogen werden können. Eine Allelübersicht dieser Zelllinien gibt Szibor et al. (2003).

ChrX-marker	K562 (Promega)	K562(BRL)	NA9947A	NA9948	NA3657
DXS6807	11	11	12,14	11	15
DXS8378	10	10	10,11	11	12
ARA	25	25	21,30	26	20
DXS9898	12	12	12,15	14	13
DXS101	23,24	24	24,26	25	24
DXS7424	17	17	14,16	16	18
DXS7133	10	10	9,10	11	9
HPRTB	13	13	14,14	14	13
DXS8377	52	52	45,47	49	55
DXS10011	29	29	36,38	31.2	38

Tabelle 2-14: Gonosomale Marker Profile für fünf Standard DNAs (aus Szibor et al., 2003a).

2.6 DNA Sequenzierung

Zur DNA-Sequenzierung hat sich heute die Sequenzierung nach Sanger (Sanger et al., 1977) durchgesetzt. Sie kann in Form von Cycle-Sequencing von Automaten übernommen werden und spielt daher in Routine-DNA-Labors, also auch in der Forensik, eine große Rolle. Es handelt sich bei der Sequenzierung nach Sanger um ein Kettenabbruchverfahren ähnlich der PCR, nur dass keine exponentielle Vermehrung der DNA erfolgt, sondern ein Kettenabbruch an zufälliger Stelle durch den Einsatz von markierten Didesoxynukleotiden (ddNTPs) zusätzlich zu unmarkierten, nicht zum Abbruch führenden Desoxynukleotiden. Die ddNTPs verursachen einen Kettenabbruch, da die Polymerase am C3 Atom des Zuckers keinen Sauerstoff mehr vorfindet und eine Veresterung mit dem nächsten Nukleotid nicht mehr erfolgen kann. So ähneln sich die Reaktionsansätze von PCR und Sequenzierung auch stark, lediglich die oben beschriebenen ddNTPs werden bei der Sequenzierungs-PCR zusätzlich hinzugefügt. Bei den Primern wird bei der

Sequenzierung kein Primerpaar, sondern nur ein Primer benötigt, da nur in eine Richtung sequenziert wird.

1. ein Primer, da nur einer der Doppelstränge sequenziert werden soll
2. Template-DNA, also die DNA, die sequenziert werden soll
3. Nukleotid-Gemisch mit ausreichender Menge verlängerungsfähiger Nukleotide: dATP, dGTP, dCTP, dTTP, den Bausteinen der DNA
4. Nukleotid-Gemisch mit ausreichender Menge markierter und zum Kettenabbruch führenden ddNTPs: ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP
5. Thermostabile Polymerase z.B. Taq, Vent oder Pfu
6. PCR-Puffer: hier ein einfacher mit KCl, Tris-HCl, MgCl₂ (freies Mg wird von der Taq-Polymerase benötigt)

Durch den zufälligen Kettenabbruch entstehen Ketten unterschiedlicher Länge, je nachdem ob die veränderten Nukleotide früh oder spät eingebaut wurden. Dieses Gemisch unterschiedlich langer Ketten wird mittels CE aufgetrennt werden und analysiert. Es werden alle vier ddNTPs gleichzeitig eingesetzt. Dazu ist jedes ddNTP mit einem anderen Fluoreszenzfarbstoff markiert. So kann das Gerät registrieren, nach welchem ddNTP der Abbruch erfolgt ist, und erstellt die Nukleotidabfolge. Fragmentlängen bis zu 600 Basenpaaren (bp) können so zuverlässig mit einfachen Taq-Polymerasen sequenziert werden. Es sind aber auch schon Taq-Polymerasen erhältlich, die eine Sequenzierung wesentlich längerer Fragmente erlauben.

2.6.1 Sequenzierung einzelner Allele der STRs

Zur Erstellung einer Allelleiter wurden zusätzlich zu den bekannten Allelen von Zelllinien auch weitere Allele von Personen aus dem Untersuchungsgut verwendet. Diese Allele wurden sequenziert, um die Anzahl der Repeats sicher bestimmen zu können. Dazu wurde die DNA dieser Personen mit unmarkierten Primern des jeweiligen STRs in einer Einzel-PCR (2.4.1) amplifiziert, gelelektrophoretisch aufgetrennt (2.5.1) und silbergefärbt (2.5.2). Vor der Sequenzierung muss das PCR-Produkt von nicht inkorporierten Nukleotiden und Primern, sowie von Salzen gereinigt werden.

2.6.1.1 Reinigung des PCR-Produktes

Material und Geräte:

MSB Spin PCRapace kit
Biofuge

Invitex, Berlin
Heraeus

Die zuvor amplifizierten (2.4.1) DNA-Abschnitte wurden gemäß den Herstellerangaben mit dem MSB Spin PCRapace kit gereinigt. Durch Binden der DNA-Fragmente an eine Filtermembran können Rückstände der vorangegangenen PCR, so z.B. Salze, Nukleotide, Primer und weitere Pufferbestandteile, quantitativ entfernt werden. Anschließend wurden die DNA-Fragmente mit einem Puffer mit geringer Salzkonzentration wieder eluiert.

Zu Beginn wurde ein Zentrifugenfilter des Kits in ein 2ml Auffangbehälter gestellt. 130 µl Puffer P wurden direkt in das Gefäß mit den PCR-Produkten gegeben. Die Suspension wurde dann gleich auf den vorbereiteten Zentrifugenfilter gebracht. Nach einer Minute Inkubation wurde für 30 Sekunden bei 10000 rpm zentrifugiert. Dann wurden 700 µl Waschpuffer auf den Zentrifugenfilter gegeben und erneut für 30 Sekunden bei 10000 rpm zentrifugiert. Das Filtrat wurde verworfen. Zur Entfernung der Ethanolreste des Waschpuffers wurde 3 Minuten bei Maximalgeschwindigkeit (12000 bis 14000 rpm) zentrifugiert. Der Zentrifugenfilter wurde in ein frisches 1,5 ml Auffanggefäß überführt. Für die Elution der DNA-Fragmente wurden 20 ml Elutionspuffer auf die Mitte des Zentrifugenfilters gegeben und für 3 Minuten inkubiert. Abschließend wurde für 3 Minuten bei 10000 rpm zentrifugiert. Das so aufgereinigte PCR-Produkt kann in der Sequenzierungs-PCR eingesetzt werden.

2.6.1.2 Sequenzierungs-PCR (Cycle Sequencing)

Material und Geräte:

ABI Prism®Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit	ABI
GeneAmp PCR Systems 9700, 2700 bzw. 2400	ABI

Den Herstellerangaben folgend wurde die Sequenzierungs-PCR mit den in Tabelle 2-11 aufgeführten Primern durchgeführt. Die 10 µl Reaktionsgemisch enthielten 2 µl Terminator Ready Reaction Mix, 1-10 ng des gereinigten PCR-Produktes und 1,6 pmol des entsprechenden Primers. Die PCR umfasste 25 Zyklen mit 95 °C für 30 Sekunden und 60 °C für 4 Minuten.

2.6.1.3 Aufreinigung des Cycle-Sequencing Produktes

Material und Geräte:

Edge Gel Filtration Cartridges Kit Biofuge	Mo Bi Tec GmbH, Göttingen Heraeus
---	--------------------------------------

Die Aufreinigung des Cycle-Sequencing-Produktes erfolgte über eine einfache Säule zum Entfernen von Dye Terminatoren, nicht-inkorporierten Nukleotiden, Primern, DNA-Fragmenten bis zu einer Länge von 15 bp, Puffer und anderen niedermolekularen Verbindungen. Dabei binden die zu entfernenden Moleküle an die Säule, nicht jedoch das PCR-Produkt, dies wurde im Eluat aufgefangen.

Zur Vorbereitung der Edge Gel filtration cartridges wurden diese für 2 Minuten bei 750 xg zentrifugiert, mit 1 ml Bidest beschickt und nochmals für 2 Minuten bei 750 xg zentrifugiert. Anschließend wurden die Edge Gel filtration cartridges in neue Mikrozentrifugenröhrchen umgesetzt und die Proben aufgetragen. In einer dritten Zentrifugation für 2 Minuten bei 750 xg wurden die Cycle-Sequencing-Produkte gereinigt und im Eluat aufgefangen.

2.6.1.4 Sequenzierung mit ABI Prism 310 Genetic Analyser

Material und Geräte:

POP-4 Polymer	ABI
Sequenzierungspuffer mit EDTA 10x	ABI
Kapillare Länge 5-47 cm, Ø 50 µm	ABI
Basecaller 310 POP4	ABI

Die Sequenzierung erfolgte mit dem ABI Prism 310 Genetic Analyser. Das Sequenzierungskit umfasst speziell markierte ddNTPs, die in der Sequenzierungs-PCR eingebracht wurden. Jeder der vier ddNTPs ist mit einem anderen Fluoreszenzfarbstoff markiert, dem ein bestimmtes Emissionsmaximum zugeordnet ist. Die Anregungswellenlänge ist jedoch bei allen vier BigDye Terminatoren gleich und auf den Argonlaser des Gerätes abgestimmt. Erreicht wird die einheitliche Anregungsfrequenz durch Kopplung des Fluoresceindonators (6-Carboxyfluorescein, 6-FAM) mit verschiedenen Dichlororhodaminen, dR6G, dROX, dR110 oder dTAMRA, als Akzeptorfarbstoffe. Die Zuordnung der Farbstoffe zu den Nukleotiden und die entsprechenden Emissionsmaxima sowie die farbliche Darstellung in der Datenausgabe zeigen Tabelle 2-15 und die nachstehende Abbildung (2.4). Die Eigenschaften der Fluorophoren sind dem Anhang zu entnehmen (7.1).

Base	Akzeptorfarbstoff	Farbliche Darstellung
A	dR6G	Grün
C	dROX	Rot
G	dR110	Blau
T	dTAMRA	Schwarz

Tabelle 2-15: Zuordnung der Akzeptorfarbstoffe zu den Nukleotiden und ihre jeweilige farbliche Darstellung.

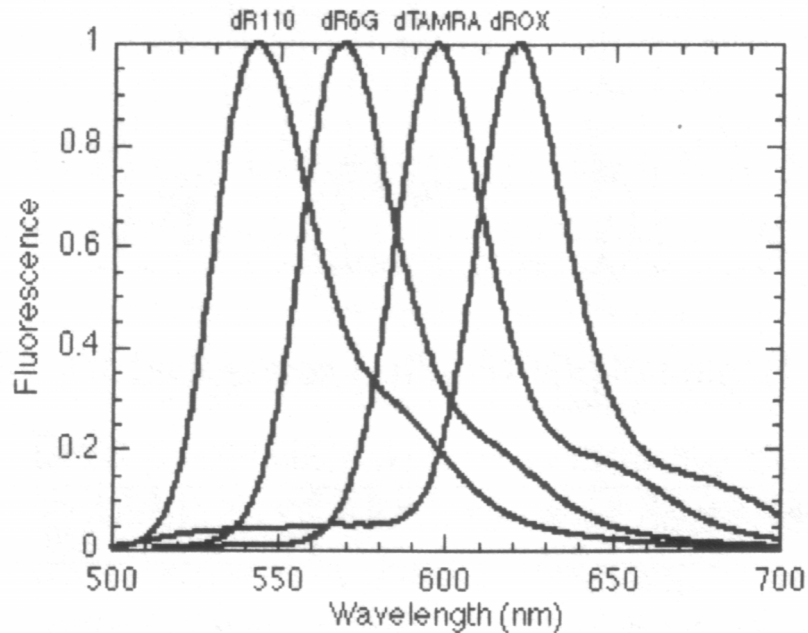


Abbildung 2.4: Emissionsmaxima der Fluorophoren dR110, dR6G, dTAMRA und dROX (aus: ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kits, Protocol, Version 2.0).

Für die automatische Sequenzierung wurden die gereinigten Cycle-Sequenzierungsproben direkt in den ABI Prism 310 Genetic Analyser eingesetzt. Verwendet wurden gerätespezifisch eine Kapillare der Länge 47 cm mit 50 µm Durchmesser und das Programm Seq POP4 (1mL) Rapid E, sowie das Polymer POP-4.

Die Ausgabe der Ergebnisse erfolgte als Datei, die ausgedruckt wurde. Die Auswertung der Sequenzen erfolgte manuell an diesem Ausdruck.

2.7 Statistische Verfahren

Die Eignung von STR-Markern hängt von mehreren populationsgenetischen Faktoren ab. Dazu gehören vor allem eine im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befindliche Population, ein ausreichend hoher Polymorphismusgrad, ein bekanntes Linkage-Ungleichgewicht sowie eine hohe Anzahl Heterozygoter. In mancherlei Hinsicht gleichen sich autosomale und gonosomale STR-Marker, allerdings sind auch spezifische Unterschiede bei manchen Berechnungen zu beachten. So lässt sich z.B. bei Männern natürlicherweise kein Anteil an Heterozygoten für X-STRs berechnen, da sie nur ein X-Chromosom besitzen. Für diese Berechnungen können also nur Frauen herangezogen werden.

2.7.1 Frequenzanalyse

Die Allel-Frequenz wurde mit der „Gen counting method“ (einfaches Auszählen der Allele) als f/n ermittelt. Die Standardabweichung wurde berechnet als Quadratwurzel der Varianz einer binominalen Verteilung ($f(1-f)/2n$).

2.7.2 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Zur Berechnung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes werden in der Literatur diverse Möglichkeiten vorgeschlagen.

So testet Edwards et al. (1992) das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht gleich in mehrfacher Weise: 1. Auf Grundlage der erwarteten Heterozgotenrate H nach Nei (1978), da in einer zufällig paarenden Population H gleich der beobachteten Rate der Heterozygoten ist. 2. Auf Grundlage der erwarteten Anzahl verschiedener homozygoter und heterozygoter Genotypen nach Chakraborty et al. (1991). Auch hier müssen für eine gleichmäßig durchmischte Population Erwartungswerte und beobachtete Daten innerhalb der Standardabweichungen übereinstimmen.

Die vorgenannten Methoden sind in der Lage, grobe Abweichungen der in der entsprechenden Untersuchung vorkommenden Genotypfrequenzen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht festzustellen. Beurteilt werden können jedoch nicht alle möglichen Genotypen einer Probe, sondern nur die tatsächlich vorkommenden.

Zusätzlich schlagen Edwards et al. (1992) weitere Tests für das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vor, die sich auf alle für eine Probe möglichen Genotypen beziehen. Diese benötigen jedoch eine größere Probenzahl als sie im Rahmen dieser Studie möglich waren.

Des Weiteren können angewandt werden der Hardy-Weinberg Exakt Test nach Haldane (1954) und Guo und Thompson (1992). Ist die Alternativ-Hypothese zur Null-Hypothese (H_0 =zufällige Paarung der Gameten) die des Heterozygoten-Überschusses oder Mangels ($=H_1$) so kann der U-Test nach Rousset und Raymond (1995) angewandt werden. Für diese Berechnung wurde hier das Softwarepaket GENEPOP V1.2 verwendet. Aufgrund der geringen Probenanzahl wurde hier der exakte Binomial Test verwandt.

2.7.3 PIC (polymorphism information content)

Dieser Parameter eignet sich für die Beurteilung autosomaler und gonosomaler STR-Marker gleichermaßen. Er gibt, wie der Name schon sagt, Auskunft über den Polymorphismusgrad. Der PIC gibt einen Anhaltspunkt über die Anzahl und Verteilung der Allele eines Markers. Hat ein Marker z.B. nur wenige Allele, bzw. hat ein Marker zwar viele Allele, von denen aber nur eines oder sehr wenige häufig sind, so ist der PIC niedrig. Darüber hinaus sollte der PIC immer im Zusammenhang mit der Heterozygotie desselben Markers betrachtet werden. Die Heterozygotie ergibt sich aus der Zahl der Allele und ihrer Frequenz. Sind beide Werte hoch, so spricht das für eine gute Qualität eines STR-Locus im Hinblick auf einen, für die Forensik geeigneten Marker.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2 p_i^2 p_j^2$$

2.7.4 Het (Heterozygosity)

Dieser Parameter eignet sich, ebenso wie der PIC, für die Beurteilung autosomaler und gonosomaler STR-Marker. Das Ausmaß der Heterozygotie pro Locus hängt von der Anzahl der Allele und von den Allelfrequenzen ab. Je mehr Allele an einem Locus vorkommen und je ähnlicher die Allelfrequenzen sind, desto höher ist der Heterozygotiegrad (Weir, 1996). Der Heterozygotiegrad dient der Erfassung der genetischen Variation innerhalb einer Population. Benutzt wurde die Formel nach Nei (1978) für die Erwartungswerte mit Wurzel aus $(f(1-f)/n)$ als Standardabweichung, die dann mit den tatsächlich gefundenen Werten verglichen wurde. Zusätzlich wurde die Berechnung mit dem frei im Internet verfügbaren Programm GENEPOP 3.3 (<http://www.biomed.curtin.edu.au/genepop/>) durchgeführt.

$$H = \frac{2N \left(1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \right)}{2N - 1}$$

2.7.5 MEC (mean exclusion chance)

Der Wert MEC (engl. für durchschnittliche Ausschlusswahrscheinlichkeit) zeigt an, welche Aussagekraft ein STR besitzt, um eine Person in einem Defizienzgutachten als Vater auszuschließen, wenn der Betreffende tatsächlich nicht der Vater ist (Krüger et al. 1968). Die Ausschlusswahrscheinlichkeit ist um so größer, je höher die Anzahl von Allelen an einem Locus in einer Population ist und je einheitlicher die relative Häufigkeit der Allele ist.

Der zuerst von Krüger et al. (1968) eingeführte MEC gilt für autosomale Marker in Trios bestehend aus Mutter, Kind und putativem Vater. Für X-chromosomale Marker ist er nicht so gut geeignet. Er wird allerdings meist zum Vergleich ebenfalls angegeben. Für X-chromosomale Marker werden hier drei verschiedene MECs berechnet. Der MEC II (Kishida et al., 1997) bezieht sich auf Trios mit Töchtern, ebenso der MEC III modifiziert nach Desmarais (Desmarais et al., 1998). Der MEC IV bezieht sich auf Vater-Tochter-Duos ohne Mutter (Desmarais et al., 1998). Der nachstehenden Tabelle sind die entsprechenden Formeln sowie ihre Quellen zu entnehmen.

MEC I
$$\sum_i f_i^3(1-f_i)^2 + \sum_i f_i(1-f_i)^3 + \sum_{i < j} f_i f_j (f_i + f_j)(1-f_i-f_j)^2$$

Krüger et al., 1968

MEC II
$$\sum_i f_i^3(1-f_i) + \sum_i f_i(1-f_i)^2 + \sum_{i < j} f_i f_j (f_i + f_j) \cdot (1-f_i-f_j)$$

Kishida et al., 1997

MEC III
$$1 - \sum_i f_i^2 + \sum_i f_i^4 - (\sum_i f_i^2)^2$$

Desmarais et al., 1998

MEC IV
$$1 - 2 \sum_i f_i^2 + \sum_i f_i^3$$

Desmarais et al., 1998

2.7.6 Power of Discrimination (PD)

Die Diskriminationskraft (engl.: power of discrimination) als Effizienzmaß kombinierter Markersysteme wird im Falle der X-chromosomalen Marker für Männer und Frauen getrennt berechnet.

Dabei entspricht die Formel zur Berechnung der PD bei Frauen der autosomaler Marker. Die Berechnung erfolgte hier nach Desmarais (1998).

$$\text{PD bei M\u00e4nner} \quad 1 - \sum_i f_i^2$$

$$\text{PD bei Frauen} \quad 1 - 2(\sum_i f_i^2)^2 + \sum_i f_i^4$$

2.7.7 Populationsvergleiche und statistische Power

Die Populationsvergleiche wurde mittels SAS Analytics 2004 durchgef\u00fchrt, hier wurde der Chi-Square als auch der Likelihood Ratio Chi-Square genutzt. Das Signifikanzniveau lag bei $\alpha = 0,05$. Zus\u00e4tzlich wurde die statistische Power, auch statistische Testst\u00e4rke genannt, mit $\geq 80\%$ ber\u00fccksichtigt. F\u00fcr medizinische Untersuchungen schlug Cohen schon 1969 in seinem Buch „Statistical Power Analytics for the Behavior Science“ einen β -Wert (Fehler 2. Art) von 0,20 vor, $1 - \beta = 1 - 4\alpha$. Die Testst\u00e4rke hat somit den Wert von $1 - \beta$, wobei β die Wahrscheinlichkeit bezeichnet, den Fehler 2. Art zu begehen, und wird allgemeiner auch als Fehlerwahrscheinlichkeit 2. Art bezeichnet. Cohen (1969) schlug bei geringem Stichprobenanzahl eine zus\u00e4tzliche Ber\u00fccksichtigung vor, um keine „falschen“ Signifikanzen zu verwenden, diese zus\u00e4tzliche Ber\u00fccksichtigung ging auch in die vorliegende Arbeit mit ein.

3 Ergebnisse

3.1 Etablierung der Pentaplex-PCRs

Aus der Vielzahl aus der Literatur bekannter X-chromosomaler STRs wurden DXS101, ARA, DXS10011 und DXS8377 auf Grund ihrer großen Aussagekraft ausgewählt. Für weitere STRs wurden die folgenden Auswahlkriterien angelegt: Erstens sollte möglichst jede der vier bekannten X-chromosomalen Kopplungsgruppen von wenigstens zwei STRs repräsentiert werden. Dies war für drei der vier Kopplungsgruppen möglich, da Kopplungsgruppe 3 nur einen STR, nämlich HPRTB, enthält (Abbildung 2.3). Zweitens sollten die STRs hinsichtlich der Annealingtemperatur koamplifizierbar sein mit den erstgenannten STRs DXS101, ARA, DXS10011 und DXS8377. Drittens mussten die weiteren STRs geeignete Allellängen aufweisen, um mit den vier erstgenannten kombiniert werden zu können. Um die Kopplungsgruppen gut besetzen zu können, wurde HPRTB aufgenommen (Pentaplex 1, 58 °C Annealingtemperatur), da dieser STR eine eigene Kopplungsgruppe darstellt. Die vier gleich zu Beginn auf Grund ihres PDs ausgewählten STRs gehören zu gleichen Teilen zwei verschiedenen Kopplungsgruppen an. ARA und DXS101 (Pentaplex 1, Annealingtemperatur 58 °C) gehören in die Kopplungsgruppe 2, während DXS10011 und DXS8377 (Pentaplex 2, Annealingtemperatur 60 °C) in die Kopplungsgruppe 4 gehören. Um auch STRs der Kopplungsgruppe 1 zu integrieren, wurden DXS6807 (Pentaplex 1, Annealingtemperatur 58 °C) und DXS8378 (Pentaplex 2, Annealingtemperatur 60 °C) aufgenommen. Aus der mit vielen potentiell geeigneten STRs besetzten Kopplungsgruppe 2 wurden mit DXS7133 und DXS7424 (beide Pentaplex 2, Annealingtemperatur 60 °C) und DXS9898 (Pentaplex 1, Annealingtemperatur 58 °C) drei weitere aussagekräftige STRs aufgenommen. Die außerdem getesteten STRs DXS9895, DXS7132, DXS6789, DXS6800 und DXS7423 wurden nicht in eine der zwei Pentaplex-PCRs aufgenommen, weil entweder keine stabile Amplifikation möglich war (DXS9895) oder weil die erforderliche Annealingtemperatur unter 58 °C lag (DXS7132, DXS6789, DXS6800 und DXS7423) und eine Koamplifikation so nicht möglich war. Die Allellängen der in Frage kommenden STRs stellten kein Hindernis dar.

Alle zehn X-STRs konnten in zufällig ausgewählten DNA-Proben mit reproduzierbar guten Ergebnissen amplifiziert werden. Die Effizienz der Amplifikation war für DXS9898 und HPRTB geringfügig höher als für die meisten anderen X-STRs und für ARA eher niedriger. Stotter-Banden mit n-1 Repeats konnten insbesondere in HPRTB, DXS7133 und DXS7424 festgestellt werden. Diese waren jedoch klein und blieben unter 10 % der tatsächlichen Peakhöhe.

Die Primersequenzen wurden – wie in Tabelle 2-12 und Tabelle 2-13 dargestellt, aus der Literatur entnommen. Für DXS10011 wurden nicht die zunächst beschriebenen Sequenzen von Watanabe et al. (2000) verwendet, sondern die von Hering et al. (2004) kürzlich publizierten. Die letzteren Primersequenzen erlaubten eine stabilere Amplifikation.

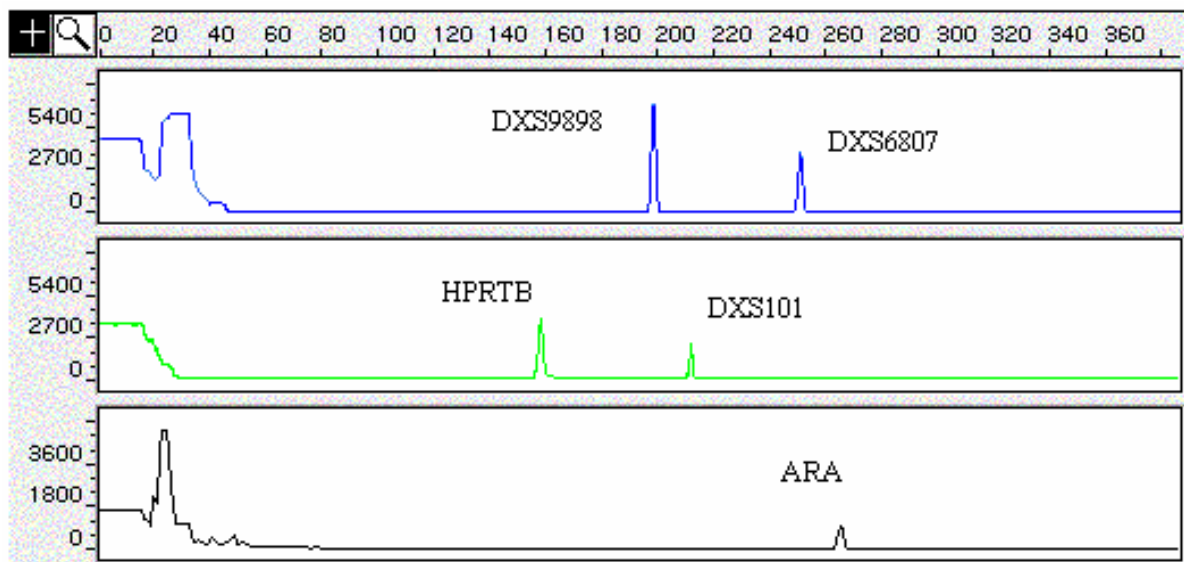


Abbildung 3.1: Pentaplex 1 am Beispiel eines männlichen Probanden mit einem Peak pro Marker.

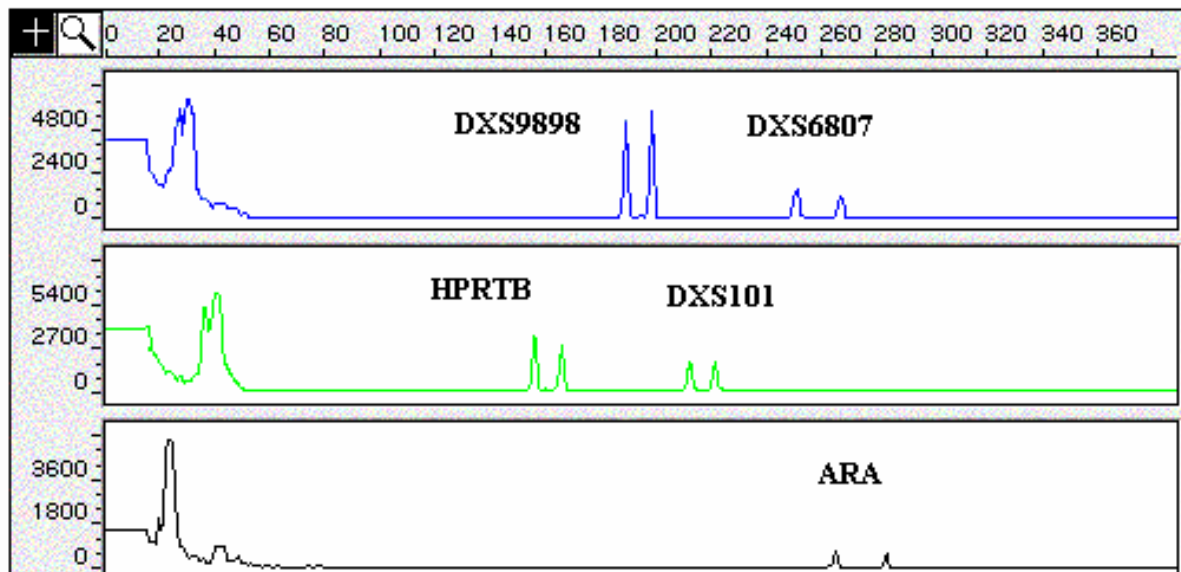


Abbildung 3.2: Pentaplex 1 am Beispiel eines weiblichen Probanden mit zwei Peaks pro Marker.

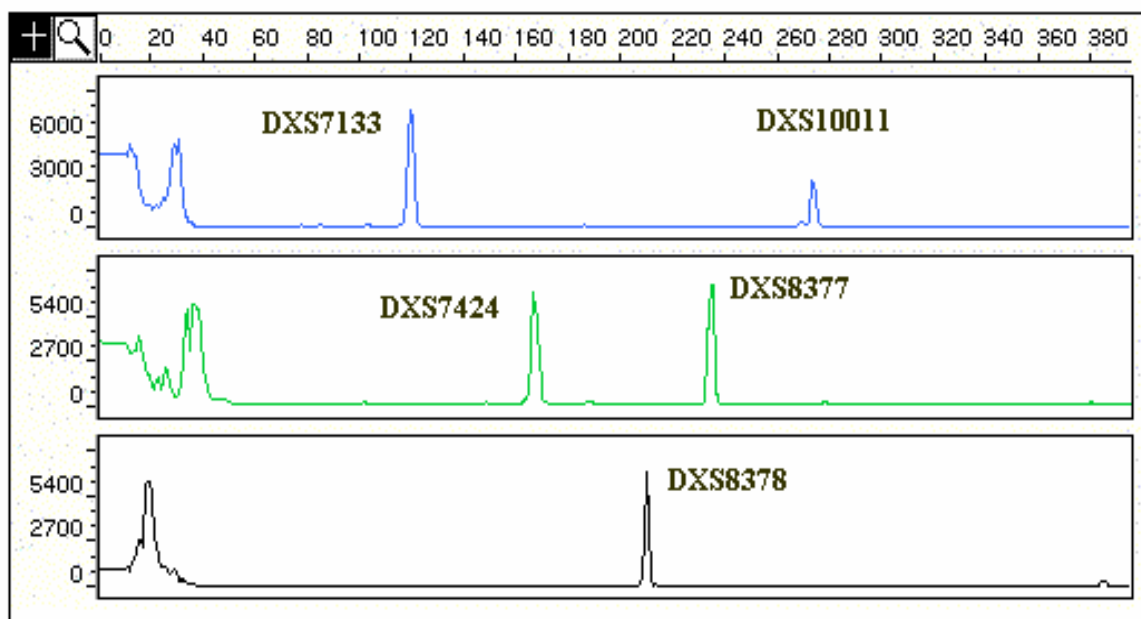


Abbildung 3.3: Pentaplex 2 am Beispiel eines männlichen Probanden mit einem Peak pro Marker.

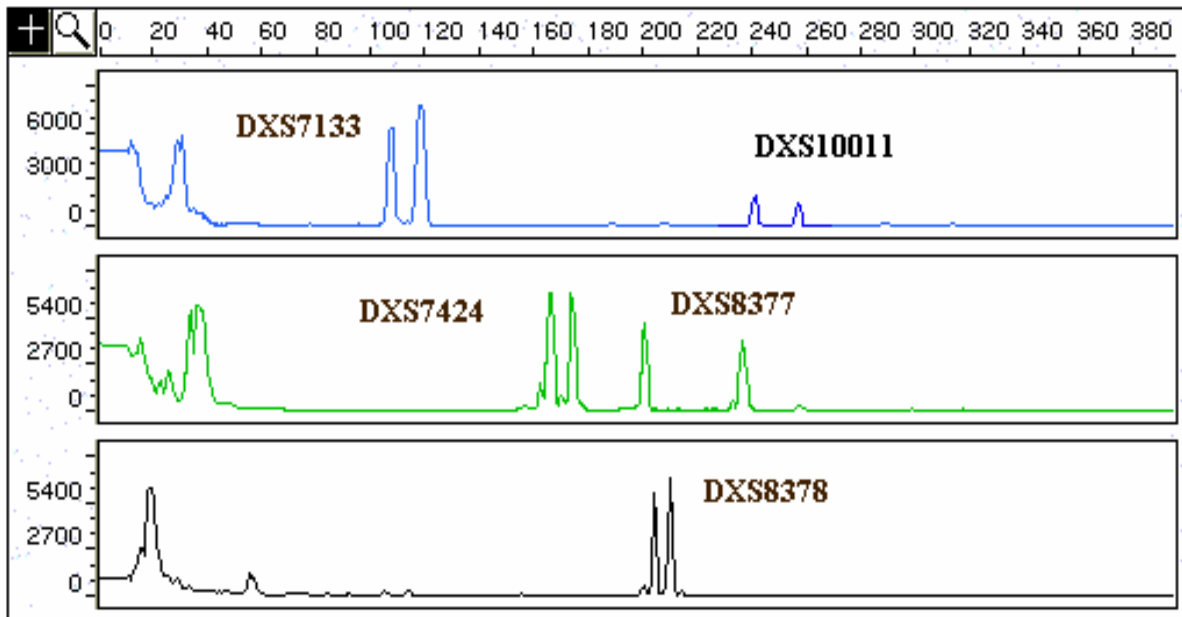


Abbildung 3.4: Pentaplex 2 am Beispiel eines weiblichen Probanden mit zwei Peaks pro Marker.

3.2 Populationsgenetische Daten

Im Folgenden werden die erhobenen populationsgenetischen Daten für die einzelnen untersuchten X-chromosomalen STRs zunächst für die Population in Vorpommern, dann für die Population aus Lettland vorgestellt. Alle Daten (mit Ausnahme des Markers ARA, siehe Diskussion) sind auch Bestandteil der X-chromosomalen Datenbank ChrX-STR (<http://www.chrx-str.org/>) der Forensic ChrX Research Group (Szibor et al., 2005a).

3.2.1 Vorpommern

Mit Hilfe der zwei so kombinierten Pentaplex-PCRs konnten populationsgenetische Daten in 100 Frauen und 105 Männern in allen zehn STRs erhoben werden. Die X-chromosomalen Haplotypen der Männer und die X-chromosomalen Genotypen der Frauen befinden sich im Anhang. In keinem der sequenzierten Allele der X-chromosomalen STRs konnten Abweichungen zu den bisher publizierten Sequenzen festgestellt werden, weder in den Repeatsequenzen noch in den angrenzenden Regionen.

Im Folgenden werden die Allelfrequenzen in den einzelnen STRs vorgestellt.

3.2.1.1 STR DXS6807

In DXS6807 wurden in dieser Untersuchung neun Allele gefunden: 11 bis 18 und 20. Das häufigste Allel war Allel 11 mit 0,439 (0,4700 bei Frauen, 0,3810 bei Männern), gefolgt von den beiden häufigen Allelen 14 (Frequenz=0,256) und 15 (Frequenz=0,226). Allel 13 und Allel 16 kamen selten, die Allele 12, 17, 18 und 20 sehr selten und nur bei Männern vor. Es fanden sich 35 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 11	40	0,3810	94	0,4700	23	134	0,439
Allel 12	2	0,0190	0	0,0000	0	2	0,007
Allel 13	2	0,0190	5	0,0250	0	7	0,023
Allel 14	25	0,2381	53	0,2650	9	78	0,256
Allel 15	27	0,2571	42	0,2100	3	69	0,226
Allel 16	3	0,0286	6	0,0300	0	9	0,030
Allel 17	3	0,0286	0	0,0000	0	3	0,010
Allel 18	2	0,0190	0	0,0000	0	2	0,007
Allel 20	1	0,0095	0	0,0000	0	1	0,003
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	35	305	1,0000

Tabelle 3-1: Allelfrequenzen für DXS6807 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.635, der Het 0.691. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.851 und für PC_m 0.689. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,438, für MEC II 0.638, für MEC III 0.636 und für MEC IV 0.491.

DXS6807

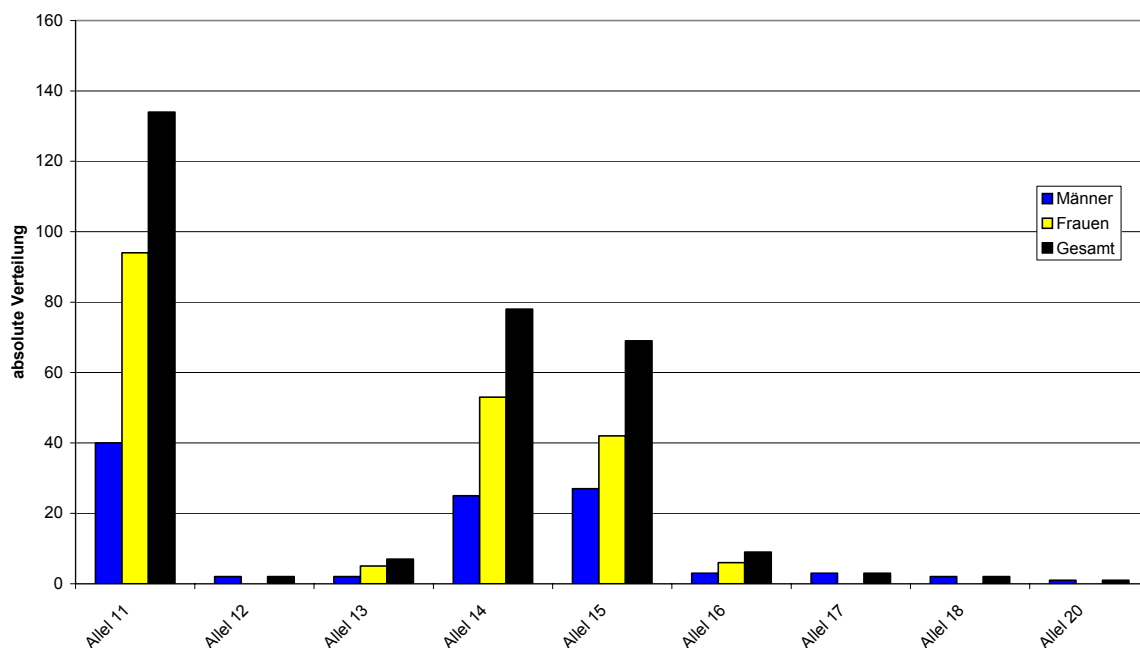


Abbildung 3.5: Allelfrequenzen für DXS6807 in Vorpommern.

3.2.1.2 STR DXS8378

Für die untersuchte Population kamen in DXS8378 sieben Allele zur Darstellung: 8 bis 14. Die beiden häufigsten Allele waren Allel 11 und Allel 10 mit 0,374 (0,3700 bei Frauen, 0,3810 bei Männern) und 0,312 (0,2950 bei Frauen, 0,3429 bei Männern), gefolgt von Allel 12. Allel 9 und Allel 13 kamen selten vor, Allel 8 und 14 sehr selten, zudem Allel 8 nur bei Männern. Es fanden sich 28 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 8	1	0,0095	0	0	0	1	0,0033
Allel 9	3	0,0286	5	0,025	0	8	0,0262
Allel 10	36	0,3429	59	0,295	9	95	0,3115
Allel 11	40	0,3810	74	0,37	9	114	0,3738
Allel 12	23	0,2190	52	0,26	10	75	0,2459
Allel 13	2	0,0190	8	0,04	0	10	0,0328
Allel 14	0	0,0000	2	0,01	0	2	0,0066
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	28	305	1,0000

Tabelle 3-2: Allelfrequenzen für DXS8378 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.643, der Het 0.703. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.853 und für PC_m 0.701. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,461, für MEC II 0.668, für MEC III 0.643 und für MEC IV 0.499.

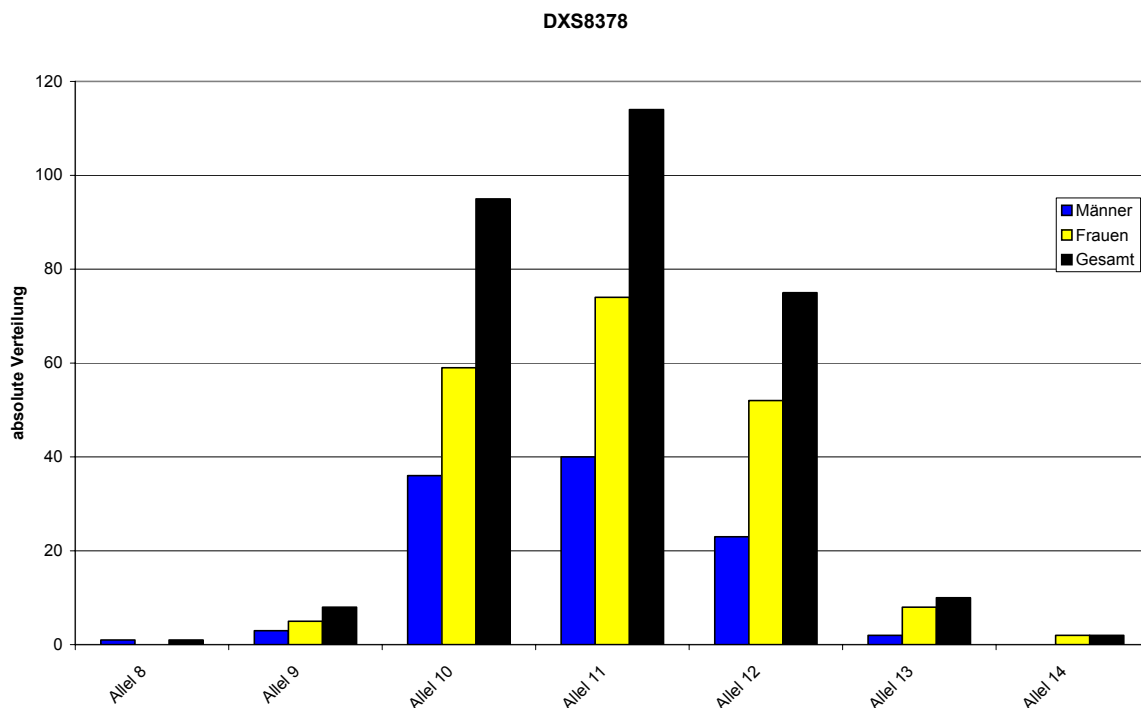


Abbildung 3.6: Allelfrequenzen für DXS8378 in Vorpommern.

3.2.1.3 STR ARA

In der untersuchten Population kamen in ARA 21 Allele zur Darstellung: 11 bis 31. Die beiden häufigsten Allele waren Allel 21 und Allel 22 mit 0,157 (0,1620 bei Frauen, 0,144 bei Männern) und 0,154 (0,152 bei Frauen, 0,152 bei Männern). Allel 13, Allel 16, Allel 15, Allel 17, Allel 29 und Allel 30 kamen sehr selten vor, Allel 13 und 16 nur bei Männern und die Allele 17 und 30 nur bei Frauen. Es fanden sich 17 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 11	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 12	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 13	1	0,010	0	0,000	0	1	0,003
Allel 14	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 15	1	0,010	1	0,005	0	2	0,007
Allel 16	1	0,010	0	0,000	0	1	0,003
Allel 17	0	0,000	2	0,010	0	2	0,007
Allel 18	9	0,087	9	0,045	0	18	0,059
Allel 19	9	0,087	23	0,116	3	32	0,105
Allel 20	12	0,115	31	0,157	4	43	0,141
Allel 21	15	0,144	33	0,162	3	48	0,157
Allel 22	16	0,152	31	0,152	4	47	0,154
Allel 23	10	0,096	18	0,091	0	28	0,092
Allel 24	14	0,135	20	0,101	2	34	0,111
Allel 25	7	0,067	15	0,076	0	22	0,072
Allel 26	2	0,019	7	0,035	0	9	0,030
Allel 27	4	0,038	5	0,025	0	9	0,030
Allel 28	3	0,029	2	0,010	0	5	0,016
Allel 29	1	0,010	1	0,005	0	2	0,007
Allel 30	0	0,000	2	0,010	1	2	0,007
Allel 31	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Summe:	105	1,000	200	1,000	17	305	1,000

Tabelle 3-3: Allelfrequenzen für ARA in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.878, der Het 0.892. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.977 und für PD_m 0.889. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,779, für MEC II 0.882, für MEC III 0.879 und für MEC IV 0.793.

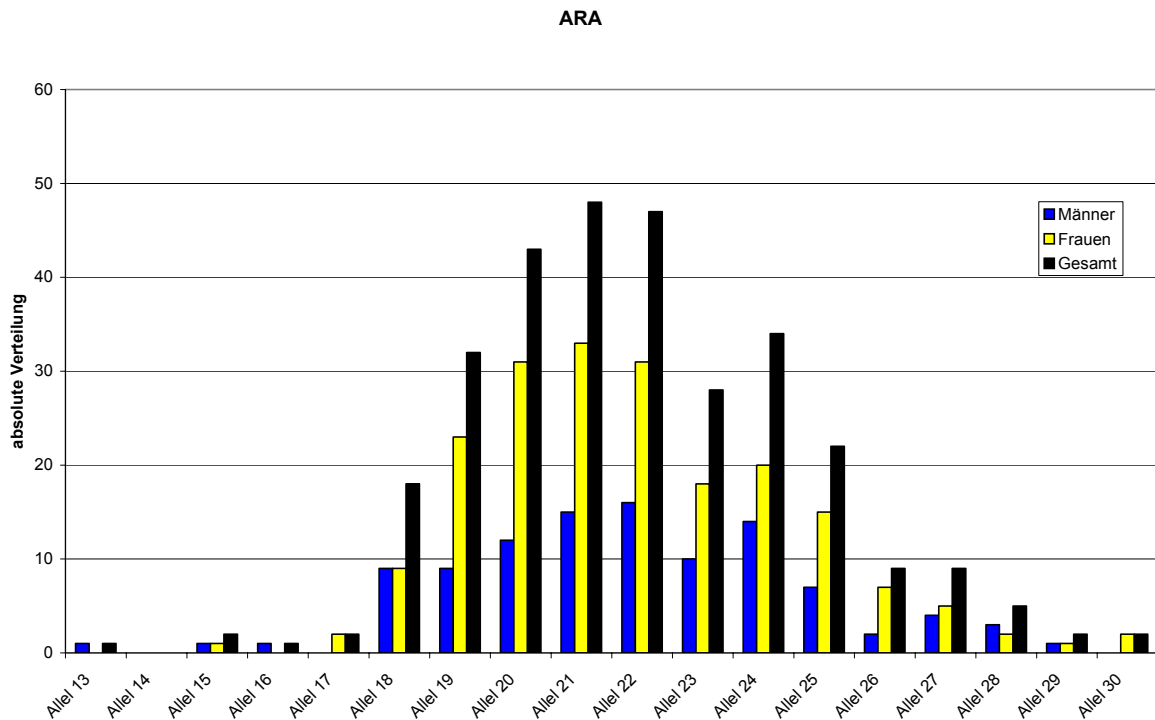


Abbildung 3.7: Allelfrequenzen für ARA in Vorpommern.

3.2.1.4 STR DXS9898

Die untersuchte Population zeigte in DXS9898 sieben Allele: 8.3; 9 bis 14. Das häufigste Allel war Allel 12 mit 0,331 (0,3300 bei Frauen, 0,3333 bei Männern), gefolgt von den Allelen 8.3, 11 und 13 mit Frequenzen von 0,197 bis 213. Allel 14 kam selten (Frequenz=0,033), die Allele 9, 10 und 15 sehr selten vor (Frequenzen 0,003; 0,007 und 0,007). Die Allele 9 und 10 kamen nur bei Frauen vor. Es fanden sich 22 homozygote Frauen, verteilt auf die Allele 8.3 und 11 bis 13.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 8.3	27	0,2571	38	0,1900	5	65	0,213
Allel 9	0	0,0000	1	0,0050	0	1	0,003
Allel 10	0	0,0000	2	0,0100	0	2	0,007
Allel 11	21	0,2000	43	0,2150	3	64	0,210
Allel 12	35	0,3333	66	0,3300	9	101	0,331
Allel 13	17	0,1619	43	0,2150	5	60	0,197
Allel 14	4	0,0381	6	0,0300	0	10	0,033
Allel 15	1	0,0095	1	0,0050	0	2	0,007
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	22	305	1,0000

Tabelle 3-4: Allelfrequenzen für DXS9898 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.644, der Het 0.763. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.903 und für PC_m 0.761. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC II 0.723, für MEC III 0.721 und für MEC IV 0.585.

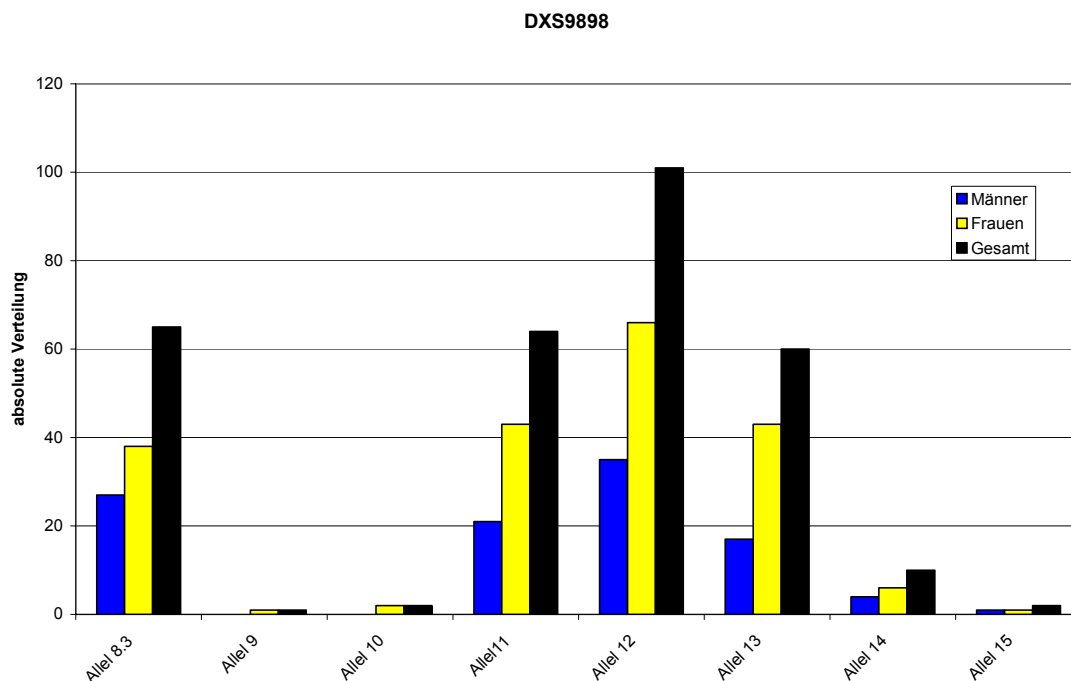


Abbildung 3.8: Allelfrequenzen für DXS9898 in Vorpommern.

3.2.1.5 STR DXS101

Die untersuchte Population wies in DXS101 18 Allele auf: 14 bis 30 und Allel 32. Die drei häufigsten Allele sind die Allele 24, 25 und 26 mit 0,200 (0,1950 bei Frauen, 0,2095 bei Männern), 0,177 (0,1650 bei Frauen, 0,2095 bei Männern) und 0,167

(0,1950 bei Frauen, 01143 bei Männern), gefolgt von Allel 23, 27 und 28. Allel 14 und Allel 21 kamen sehr selten vor, Allel 14 nur bei Männern und die Allele 15 und 16 nur bei Frauen. Es fanden sich 18 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 14	1	0,0095	0	0,0000	0	1	0,003
Allel 15	0	0,0000	5	0,0250	0	5	0,016
Allel 16	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Allel 17	2	0,0190	1	0,0050	0	3	0,010
Allel 18	7	0,0667	12	0,0600	1	19	0,062
Allel 19	4	0,0381	10	0,0500	0	14	0,046
Allel 20	3	0,0286	8	0,0400	0	11	0,036
Allel 21	1	0,0095	2	0,0100	0	3	0,010
Allel 22	1	0,0095	3	0,0150	0	4	0,013
Allel 23	10	0,0952	16	0,0800	2	26	0,085
Allel 24	22	0,2095	39	0,1950	6	61	0,200
Allel 25	21	0,2000	33	0,1650	3	54	0,177
Allel 26	12	0,1143	39	0,1950	6	51	0,167
Allel 27	10	0,0952	11	0,0550	0	21	0,069
Allel 28	7	0,0667	14	0,0700	0	21	0,069
Allel 29	2	0,0190	3	0,0150	0	5	0,016
Allel 30	2	0,0190	4	0,0200	0	6	0,020
Allel 32	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	18	305	1,0000

Tabelle 3-5: Allelfrequenzen für DXS101 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.864, der Het 0.878. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.972 und für PD_m 0.875. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,751, für MEC II 0.862, für MEC III 0.863 und für MEC IV 0.771.

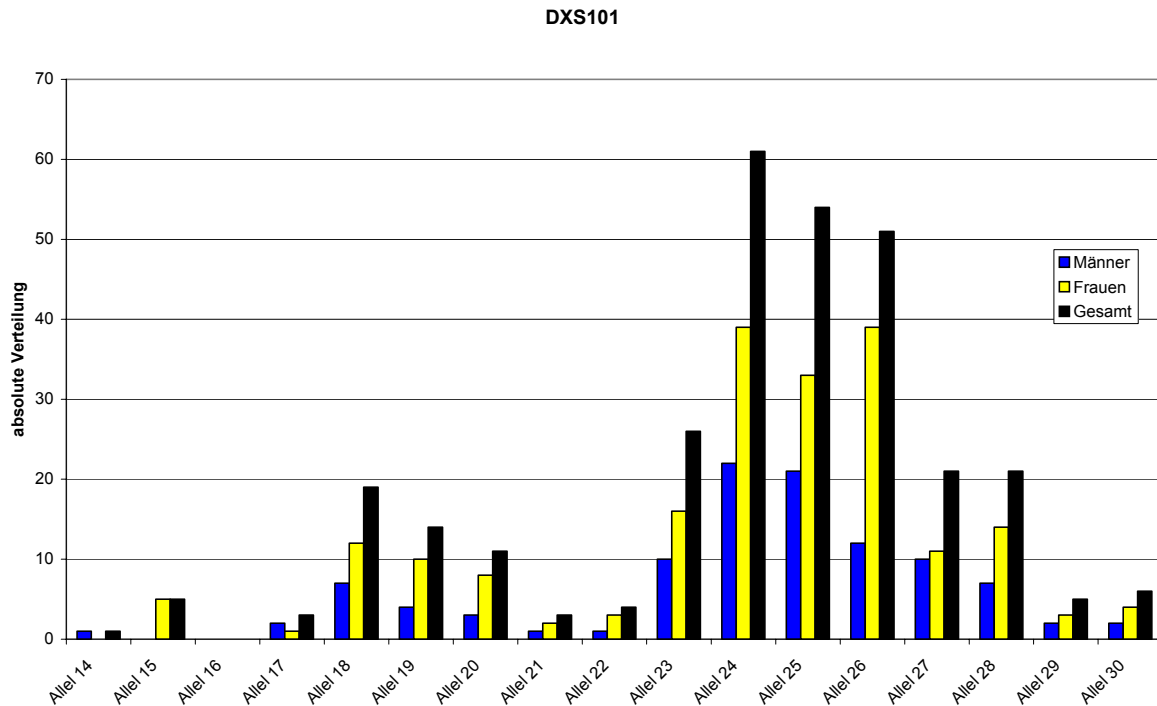


Abbildung 3.9: Allelfrequenzen für DXS101 in Vorpommern.

3.2.1.6 STR DXS7424

Die untersuchte Population zeigte in DXS7424 elf Allele: 10 bis 20. Die beiden häufigsten Allele waren Allel 16 und Allel 15 mit 0,292 (0,2850 bei Frauen, 0,3048 bei Männern) und 0,256 (0,2750 bei Frauen, 0,2190 bei Männern), gefolgt von Allel 14 und Allel 17. Allel 12 und Allel 13 kamen selten vor. Allel 10, Allel 11, Allel 18, Allel 19 und 20 sehr selten, zudem Allel 19 und 20 nur bei Männern, und Allel 10 und 18 nur bei Frauen. Es fanden sich 27 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 10	0	0,0000	2	0,0100	0	2	0,0066
Allel 11	1	0,0095	0	0,0000	0	1	0,0033
Allel 12	4	0,0381	6	0,0300	0	10	0,0328
Allel 13	4	0,0381	8	0,0400	0	12	0,0393
Allel 14	24	0,2286	40	0,2000	4	64	0,2098
Allel 15	23	0,2190	55	0,2750	9	78	0,2557
Allel 16	32	0,3048	57	0,2850	9	89	0,2918
Allel 17	15	0,1429	30	0,1500	5	45	0,1475
Allel 18	0	0,0000	2	0,0100	0	2	0,0066
Allel 19	1	0,0095	0	0,0000	0	1	0,0033
Allel 20	1	0,0095	0	0,0000	0	1	0,0033
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	27	205	1,0000

Tabelle 3-6: Allelfrequenzen für DXS7424 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.747, der Het 0.783. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.918 und für PD_m 0.781. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,572, für MEC II 0.747, für MEC III 0.747 und für MEC IV 0.616.

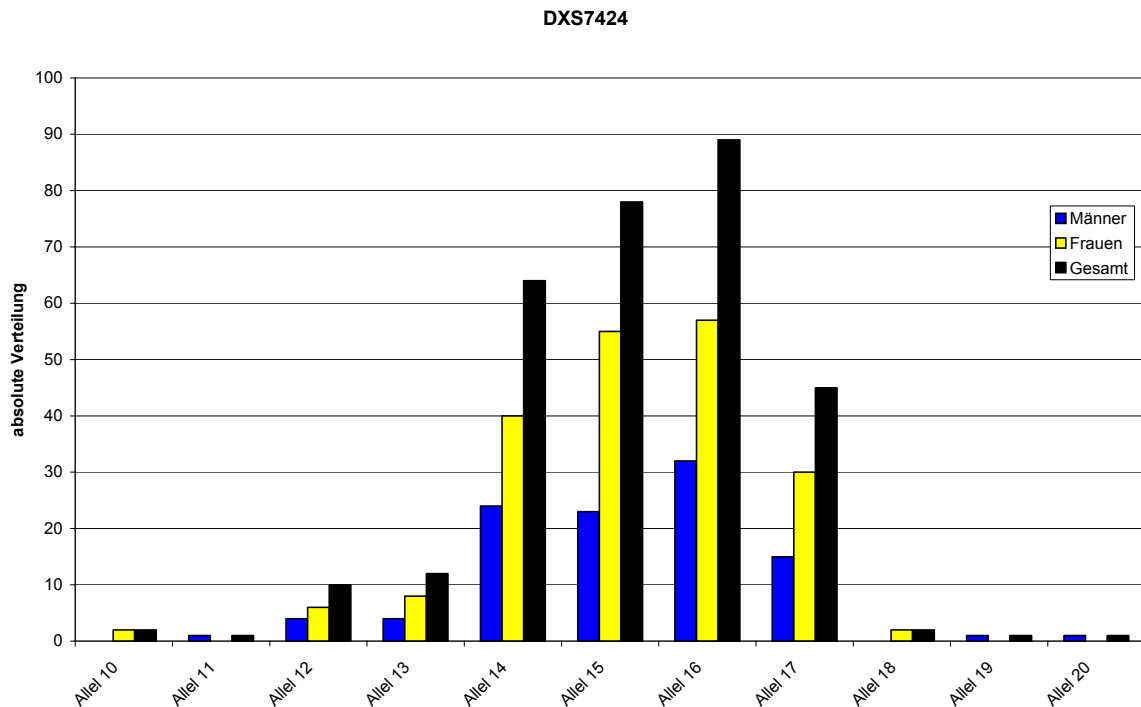


Abbildung 3.10: Allelfrequenzen für DXS7424 in Vorpommern.

3.2.1.7 STR DXS7133

Die untersuchte Population wies in DXS7133 sieben Allele auf: 7 bis 13. Die beiden häufigsten Allele waren Allel 11 und Allel 9 mit 0,423 (0,3600 bei Frauen, 0,5429 bei Männern) und 0,348 (0,3750 bei Frauen, 0,2952 bei Männern), gefolgt von zwei häufigen Allelen 10 und 12 mit ähnlichen Häufigkeiten. Allel 7, Allel 8 und Allel 13 kamen selten vor, Allel 7 zudem nur bei Frauen. Es fanden sich 27 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 7	0	0,0000	2	0,0100	0	2	0,007
Allel 8	1	0,0095	6	0,0300	2	7	0,023
Allel 9	31	0,2952	75	0,3750	14	106	0,348
Allel 10	10	0,0952	24	0,1200	0	34	0,112
Allel 11	57	0,5429	72	0,3600	10	129	0,423
Allel 12	5	0,0476	17	0,0850	1	22	0,072
Allel 13	1	0,0095	4	0,0200	0	5	0,016
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	27	305	1,0000

Tabelle 3-7: Allelfrequenzen für DXS7133 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.626, der Het 0.684. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.844 und für PC_m 0.682. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,432, für MEC II 0.628, für MEC III 0.627 und für MEC IV 0.483.

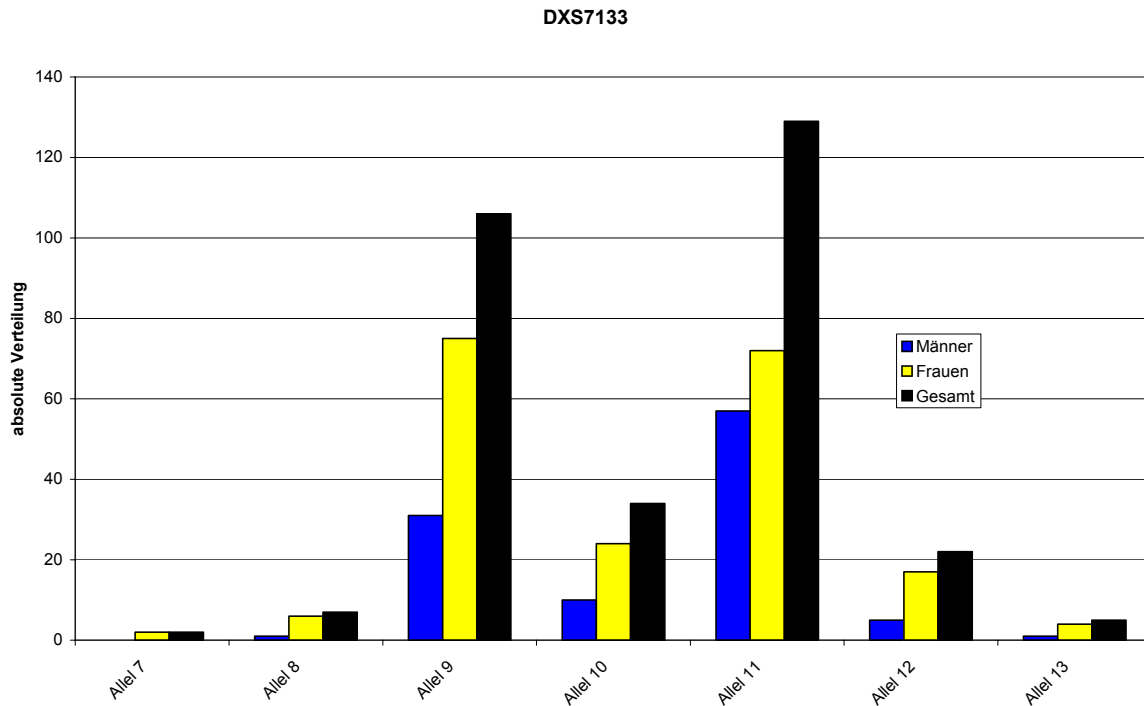


Abbildung 3.11: Allelfrequenzen für DXS7133 in Vorpommern.

3.2.1.8 STR HPRTB

Die untersuchte Population zeigte in HPRTB neun Allele: 9 bis 17. Die beiden häufigsten Allele waren Allel 12 und Allel 13 mit 0,341 (0,3400 bei Frauen, 0,3429 bei Männern) und 0,328 (0,3050 bei Frauen, 0,3714 bei Männern), gefolgt von den drei häufigen Allelen 11, 14 und 15 mit ähnlichen Häufigkeiten. Allel 9 und Allel 10 kamen sehr selten und nur bei Frauen, Allel 16 ebenfalls sehr selten und nur bei Männern vor. Es fanden sich 22 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 9	0	0,0000	1	0,0050	0	1	0,003
Allel 10	0	0,0000	2	0,0100	0	2	0,007
Allel 11	9	0,0857	27	0,1350	3	36	0,118
Allel 12	36	0,3429	68	0,3400	11	104	0,341
Allel 13	39	0,3714	61	0,3050	7	100	0,328
Allel 14	12	0,1143	22	0,1100	1	34	0,111
Allel 15	8	0,0762	19	0,0950	0	27	0,089
Allel 16	1	0,0095	0	0,0000	0	1	0,003
Allel 17	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Summe:	105	1,0000	200	1,0000	22	305	1,0000

Tabelle 3-8: Allelfrequenzen für HPRTB in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.701, der Het 0.744. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.892 und für PC_m 0.742. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,516, MEC II 0.701, für MEC III 0.701 und für MEC IV 0.562.

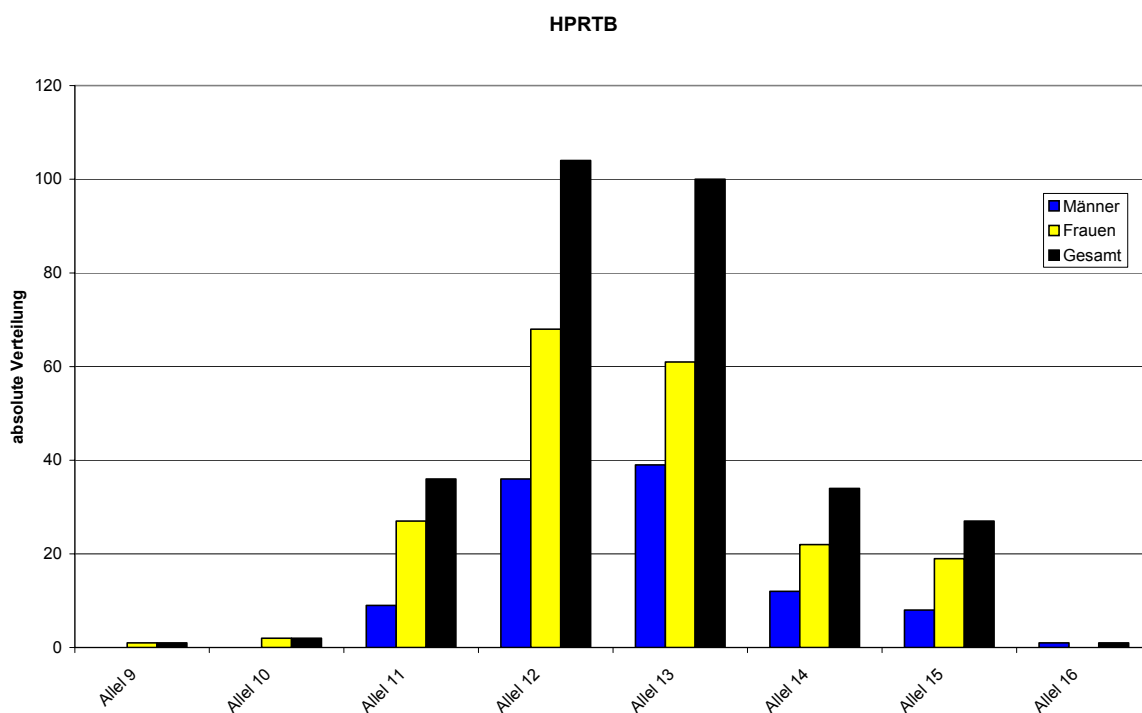


Abbildung 3.12: Allelfrequenzen für HPRTB in Vorpommern.

3.2.1.9 STR DXS8377

Die untersuchte Population wies in DXS8377 18 Allele auf: 39 bis 56. Das häufigste Allel war Allel 51 mit 0,138 (0,1350 bei Frauen, 0,1429 bei Männern). Weitere häufige Allele waren Allel 50, Allel 49, Allel 48 und Allel 47. Allel 41, Allel 54, Allel 56, Allel 42 und Allel 55 kamen selten vor, Allel 39 sehr selten. Die Allele 39 und 55 traten nur bei Frauen auf. Es fanden sich 9 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 39	0	0	2	0,0100	0	2	0,0066
Allel 40	0	0	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 41	2	0,0190	3	0,0150	0	5	0,0164
Allel 42	4	0,0381	2	0,0100	0	6	0,0197
Allel 43	7	0,0667	6	0,0300	0	13	0,0426
Allel 44	8	0,0762	15	0,0750	0	23	0,0754
Allel 45	4	0,0381	11	0,0550	0	15	0,0492
Allel 46	12	0,1143	15	0,0750	3	27	0,0885
Allel 47	11	0,1048	18	0,0900	0	29	0,0951
Allel 48	9	0,0857	21	0,1050	0	30	0,0984
Allel 49	9	0,0857	23	0,1150	1	32	0,1049
Allel 50	10	0,0952	23	0,1150	0	33	0,1082
Allel 51	15	0,1429	27	0,1350	3	42	0,1377
Allel 52	5	0,0476	14	0,0700	1	19	0,0623
Allel 53	7	0,0667	6	0,0300	0	13	0,0426
Allel 54	1	0,0095	4	0,0200	0	5	0,0164
Allel 55	0	0	6	0,0300	1	6	0,0197
Allel 56	1	0,0095	4	0,0200	0	5	0,0164
Summe:	105	1,0000	200	1,000	9	305	1,0000

Tabelle 3-9: Allelfrequenzen für DXS8377 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.907, der Het 0.827. Für PD_f ergab sich ein Wert von 0.986 und für PD_m 0.915. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,827, für MEC II 0.908, für MEC III 0.908 und für MEC IV 0.838.

DXS8377

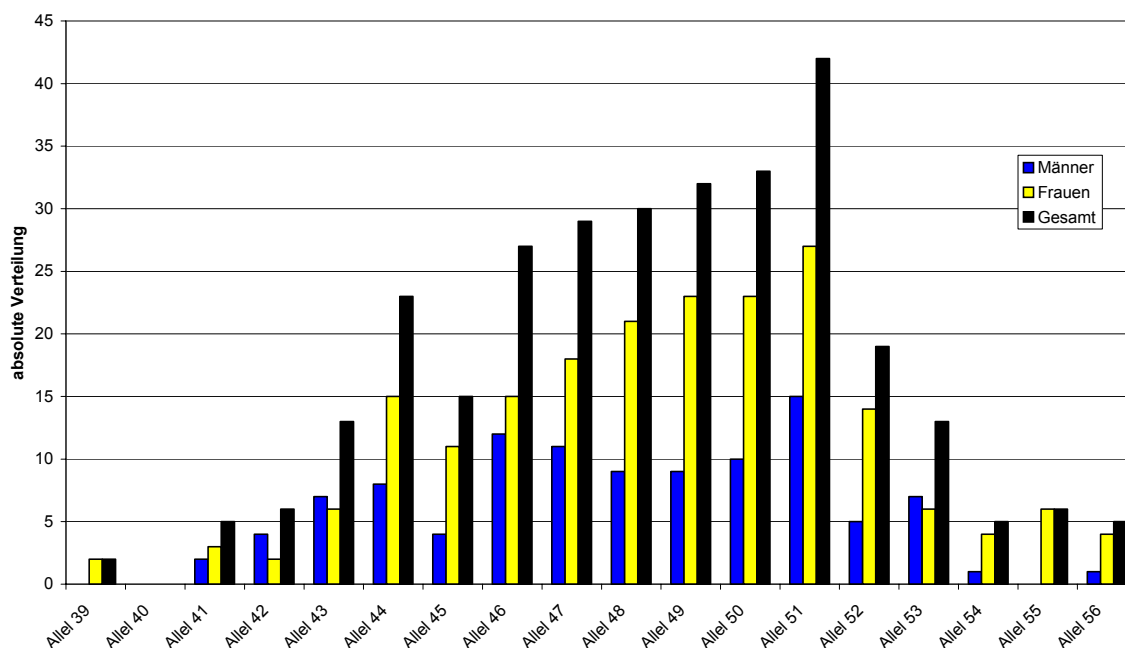


Abbildung 3.13: Allelfrequenzen für DXS8377 in Vorpommern.

3.2.1.10 STR DXS10011

Die untersuchte Population zeigte in DXS10011 30 Allele: Die drei häufigsten Allele waren Allel 38 mit 0,089 (0,0650 bei Frauen, 0,1333 bei Männern), Allel 32.2 mit 0,075 (0,0650 bei Frauen, 0,0952 bei Männern) und Allel 36 mit 0,075 (0,085 bei Frauen, 0,0571 bei Männern). Allel 36.2, Allel 46, Allel 47, Allel 45, Allel 38.2, Allel 31 und Allel 30 kamen sehr selten vor, Allel 28, Allel 29.2, Allel 30, Allel 31 und 36.2 nur bei Frauen. Es fanden sich 5 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 28	0	0,0000	4	0,0200	0	4	0,0131
Allel 29	2	0,0190	10	0,0500	1	12	0,0393
Allel 29.2	0	0,0000	2	0,0100	0	2	0,0066
Allel 30	0	0,0000	3	0,0150	0	3	0,0098
Allel 30.2	5	0,0476	4	0,0200	0	9	0,0295
Allel 31	0	0,0000	3	0,0150	0	3	0,0098
Allel 31.2	5	0,0476	16	0,0800	0	21	0,0689
Allel 32	9	0,0857	6	0,0300	1	15	0,0492
Allel 32.2	10	0,0952	13	0,0650	0	23	0,0754
Allel 33	1	0,0095	6	0,0300	0	7	0,0230
Allel 33.2	4	0,0381	14	0,0700	2	18	0,0590
Allel 34	4	0,0381	9	0,0450	0	13	0,0426
Allel 34.2	2	0,0190	5	0,0250	0	7	0,0230
Allel 35	6	0,0571	4	0,0200	0	10	0,0328
Allel 35.2	1	0,0095	3	0,0150	0	4	0,0131
Allel 36	6	0,0571	17	0,0850	1	23	0,0754
Allel 36.2	0	0,0000	1	0,0050	0	1	0,0033
Allel 37	6	0,0571	12	0,0600	0	18	0,0590
Allel 38	14	0,1333	13	0,0650	0	27	0,0885
Allel 38.2	1	0,0095	2	0,0100	0	3	0,0098
Allel 39	2	0,0190	14	0,0700	0	16	0,0525
Allel 40	6	0,0571	11	0,0550	0	17	0,0557
Allel 41	4	0,0381	10	0,0500	0	14	0,0459
Allel 42	5	0,0476	11	0,0550	0	16	0,0525
Allel 43	4	0,0381	3	0,0150	0	7	0,0230
Allel 44	4	0,0381	1	0,0050	0	5	0,0164
Allel 45	2	0,0190	1	0,0050	0	3	0,0098
Allel 46	1	0,0095	1	0,0050	0	2	0,0066
Allel 47	1	0,0095	1	0,0050	0	2	0,0066
Allel 49	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Summe:	105	1,0000	200	1,000	5	305	1,0000

Tabelle 3-10: Allelfrequenzen für DXS10011 in Vorpommern.

Der PIC betrug 0.944, der Het 0.950. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.995 und für PD_m 0.948. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,895, für MEC II 0.946, für MEC III 0.945 und für MEC IV 0.899.

DXS10011

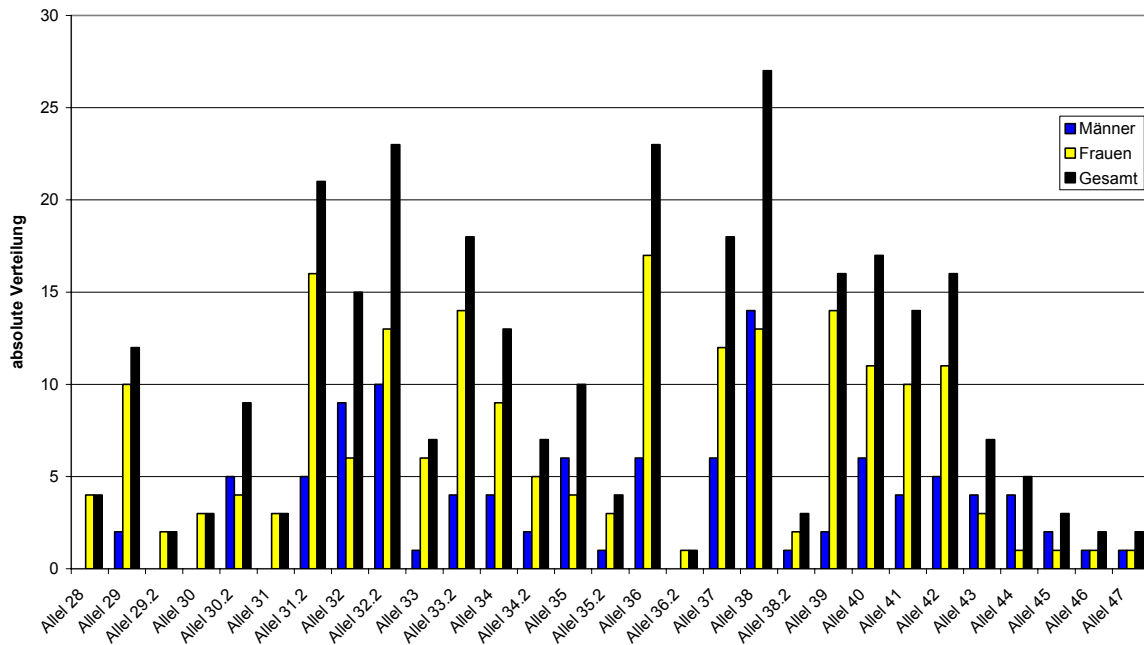


Abbildung 3.14: Allelfrequenzen für DXS10011 in Vorpommern.

3.2.2 Lettland

3.2.2.1 STR DXS6807

Für diesen Marker fanden sich in der lettischen Population sechs Allele. Dabei trat Allel 11 mit 0,446 (0,4333 bei Frauen, 0,4615 bei Männern) am häufigsten auf. Die Allele 14 (0,185 gesamt, 0,1795 bei Männern, 0,1889 bei Frauen) und 15 (0,196 gesamt, 0,2436 bei Männern, 0,1556 bei Frauen) kamen in etwa gleich häufig vor, genauso wie die weniger häufigen Allele 12 und 13 ungefähr gleiche Frequenzen zeigten. Allel 16 kam am seltensten vor. Es wurden 14 homozygote Frauen beobachtet.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 11	36	0,4615	39	0,4333	10	75	0,446
Allel 12	3	0,0385	8	0,0889	0	11	0,065
Allel 13	4	0,0513	7	0,0778	0	11	0,065
Allel 14	14	0,1795	17	0,1889	0	31	0,185
Allel 15	19	0,2436	14	0,1556	2	33	0,196
Allel 16	2	0,0256	5	0,0556	2	7	0,042
Allel 17	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Allel 18	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Allel 20	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Summe:	78	1,0000	90	1,0000	14	168	1,0000

Tabelle 3-11: Allelfrequenzen für DXS6807 in Lettland.

Der PIC betrug 0.700, der Het 0.724. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.884 und für PD_m 0.719. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,499, für MEC II 0.682, für MEC III 0.681 und für MEC IV 0.540.

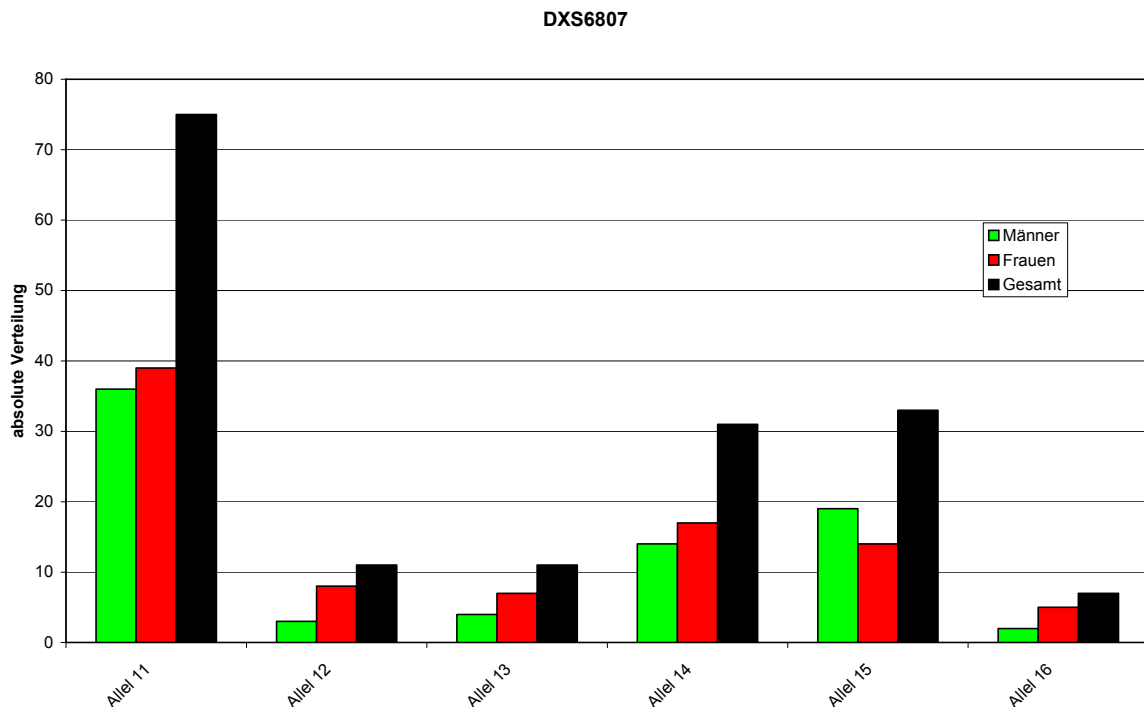


Abbildung 3.15: Allelfrequenzen für DXS6807 in Lettland.

3.2.2.2 STR DXS8378

Von den insgesamt sieben aufgetretenen Allelen war Allel 10 mit 0,3512 (0,3718 bei Männern, 0,3333 bei Frauen) das häufigste Allel dieses Markers in der untersuchten Population. Es wurde gefolgt von den Allelen 12 und 11 mit 0,2619 (0,2179 bei Männern, 0,3000 bei Frauen) und 0,2440 (0,2821 bei Männern, 0,2,111 bei Frauen). Bedeutend seltener traten die Allele 13, 9, 8 und 14 auf. Von den 90 Frauen waren 12 in diesem Marker homozygot.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 8	2	0,0256	3	0,0333	0	5	0,0298
Allel 9	4	0,0513	5	0,0556	1	9	0,0536
Allel 10	29	0,3718	30	0,3333	6	59	0,3512
Allel 11	22	0,2821	19	0,2111	1	41	0,2440
Allel 12	17	0,2179	27	0,3000	4	44	0,2619
Allel 13	3	0,0385	6	0,0667	0	9	0,0536
Allel 14	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Summe:	78	1,000	90	1,000	12	168	1,000

Tabelle 3-12: Allelfrequenzen für DXS8378 in Lettland.

Der PIC betrug 0.720, der Het 0.746. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.890 und für PD_m 0.741. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,509, für MEC II 0.698, für MEC III 0.699 und für MEC IV 0.559.

DXS8378

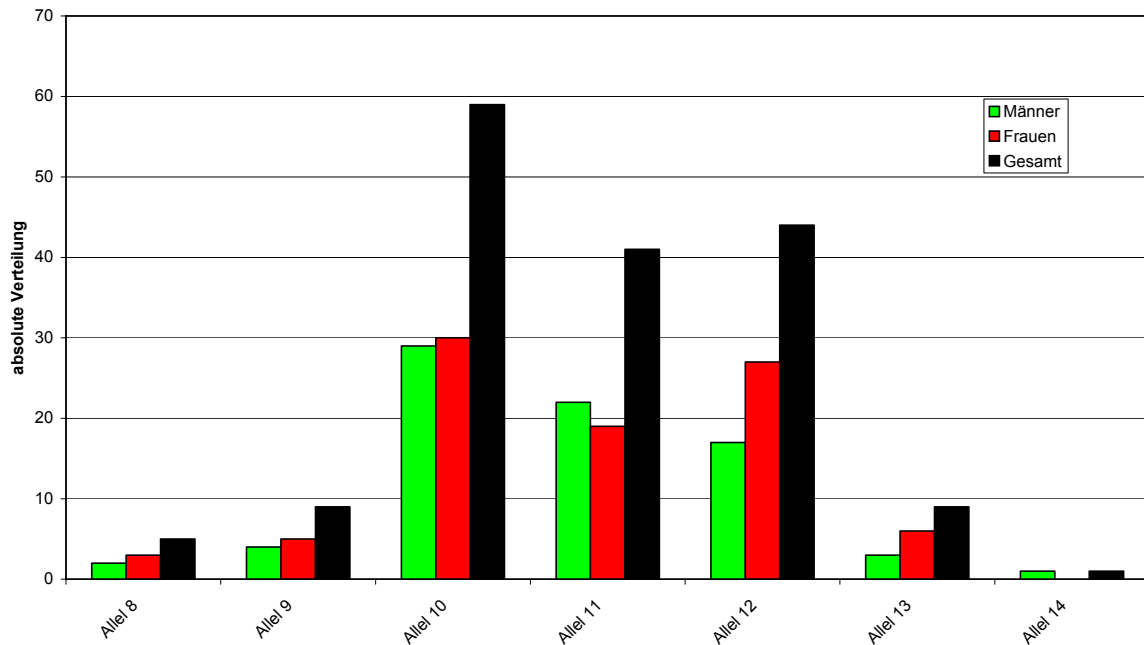


Abbildung 3.16: Allelfrequenzen für DXS8378 in Lettland.

3.2.2.3 STR ARA

In der lettischen Population ließen sich in ARA 14 Allele, fortlaufend von Allel 16 bis Allel 30, nachweisen. Am häufigsten trat dabei Allel 19 mit 0,131 (0,128 bei Männern, 0,133 bei Frauen) auf. Ebenfalls noch relativ häufig waren Allel 21 (0,113), die Allele 23 und 24 (beide 0,107), gefolgt von Allel 27 (0,101), Allel 20 (0,095), Allel 18 (0,089) sowie Allel 25 (0,083). Mit etwas Abstand folgten dann die Allele 24, 30, 26, 16 und 28, 29 und als Schlußlicht Allel 17. Die Allele 16 und 28 konnten nur bei Männer und Allel 17 nur bei Frauen nachgewiesen werden. Deutlich unterschiedliche Verteilungen bei Männern und Frauen fanden sich in den Allelen 18 und 30, wobei diese Allele bei Frauen häufiger vorkamen. Fünf Frauen waren in diesem Marker homozygot.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 11	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 12	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 13	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 14	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 15	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Allel 16	3	0,038	0	0,000	0	3	0,018
Allel 17	0	0,000	1	0,011	0	1	0,006
Allel 18	4	0,051	11	0,122	1	15	0,089
Allel 19	10	0,128	12	0,133	1	22	0,131
Allel 20	6	0,077	10	0,111	1	16	0,095
Allel 21	10	0,128	9	0,100	1	19	0,113
Allel 22	10	0,128	8	0,089	0	18	0,107
Allel 23	9	0,115	9	0,100	1	18	0,107
Allel 24	5	0,064	4	0,044	0	9	0,054
Allel 25	7	0,090	7	0,078	0	14	0,083
Allel 26	1	0,013	4	0,044	0	5	0,030
Allel 27	8	0,103	9	0,100	0	17	0,101
Allel 28	3	0,038	0	0,000	0	3	0,018
Allel 29	1	0,013	1	0,011	0	2	0,012
Allel 30	1	0,013	5	0,056	0	6	0,036
Allel 31	0	0,000	0	0,000	0	0	0,000
Summe:	78	1,000	90	1,000	5	168	1,000

Tabelle 3-13: Allelfrequenzen für ARA in Lettland.

Der PIC betrug 0.904, der Het 0.914. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.984 und für PD_m 0.908. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,812, für MEC II 0.900, für MEC III 0.899 und für MEC IV 0.914.

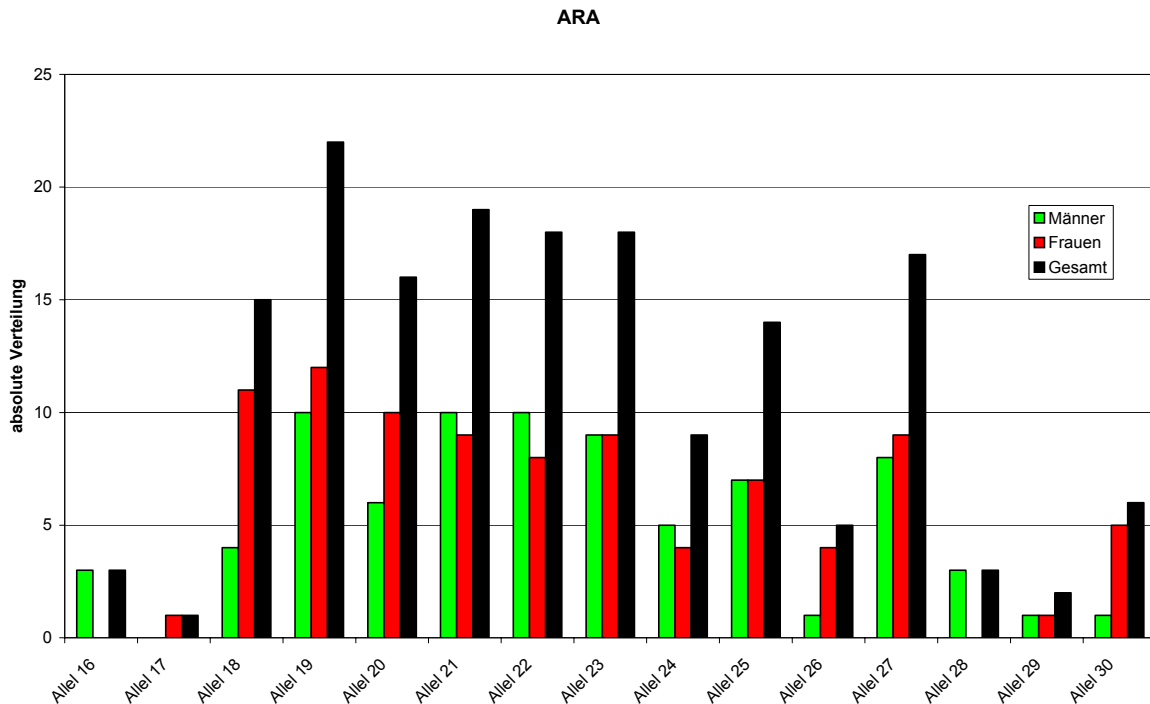


Abbildung 3.17: Allelfrequenzen für ARA in Lettland.

3.2.2.4 STR DXS9898

Es konnten für DXS9898 in der lettischen Population sechs Allele nachgewiesen werden, wobei Allel 12 mit 0,310 (0,2949 bei Männern, 0,3300 bei Frauen) und Allel 8.3 mit 0,286 (0,2949 bei Männern, 0,1900 bei Frauen) am häufigsten nachgewiesen wurden. Allel 11 war mit 0,214 (0,2436 bei Männern, 0,2150 bei Frauen) ebenfalls noch relativ häufig vertreten, gefolgt von Allel 13 mit 0,131 (0,1282 bei Männern, 0,2150 bei Frauen). Eher selten kamen Allel 14 (0,048) und Allel 10 (0,012) vor. Es zeigten sich 14 homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 8.3	23	0,2949	25	0,1900	5	48	0,286
Allel 9	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Allel 10	1	0,0128	1	0,0100	4	2	0,012
Allel 11	19	0,2436	17	0,2150	4	36	0,214
Allel 12	23	0,2949	29	0,3300	0	52	0,310
Allel 13	10	0,1282	12	0,2150	1	22	0,131
Allel 14	2	0,0256	6	0,0300	5	8	0,048
Allel 15	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Summe:	78	1,0000	90	1,0000	14	168	1,0000

Tabelle 3-14: Allelfrequenzen für DXS9898 in Lettland.

Der PIC betrug 0.737, der Het 0.762. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.900 und für PD_m 0.757. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,530, für MEC II 0.717, für MEC III 0.716 und für MEC IV 0.580.

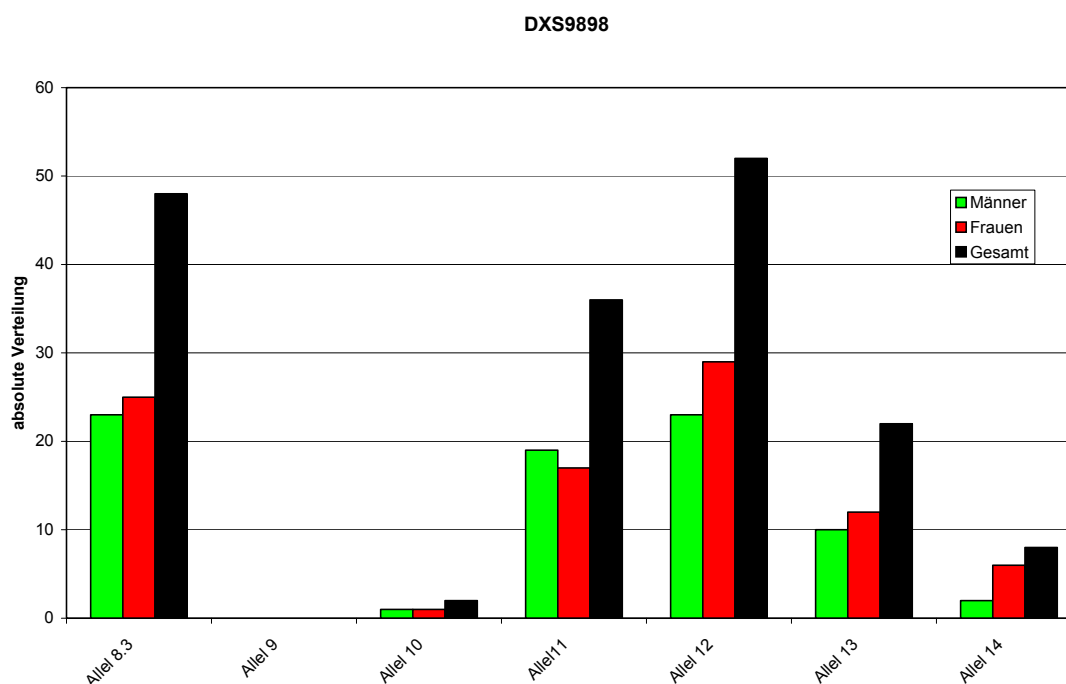


Abbildung 3.18: Allelfrequenzen für DXS9898 in Lettland.

3.2.2.5 STR DXS101

In der lettischen Population fanden sich 16 Allele, worunter Allel 24 mit 0,292 (0,3590 bei Männern, 0,2333 bei Frauen) am häufigsten auftrat. In einigem Abstand folgte Allel 23 mit 0,179 (0,1538 bei Männern, 0,2000 bei Frauen) und wieder mit etwas Abstand Allel 25 mit 0,095 (0,0641 bei Männern, 0,1222 bei Frauen). Daran schlossen sich die selten aufgetretenen Allele 17, 27, sowie mit gleicher Häufigkeit 26, 20 und 18 sowie weiter Allel 22, 21 und 19. Sehr selten konnten die Allele 29, 16, 15, 30 und 32 nachgewiesen werden. Dabei wurde Allel 21 nur bei Frauen gefunden, die sehr seltenen Allele 15, 30 und 32 nur bei Männern. Insgesamt fanden sich drei homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 14	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Allel 15	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,006
Allel 16	1	0,0128	1	0,0111	0	2	0,012
Allel 17	7	0,0897	4	0,0444	0	11	0,065
Allel 18	4	0,0513	5	0,0556	0	9	0,054
Allel 19	2	0,0256	2	0,0222	0	4	0,024
Allel 20	4	0,0513	5	0,0556	0	9	0,054
Allel 21	0	0,0000	6	0,0667	0	6	0,036
Allel 22	3	0,0385	5	0,0556	1	8	0,048
Allel 23	12	0,1538	18	0,2000	0	30	0,179
Allel 24	28	0,3590	21	0,2333	1	49	0,292
Allel 25	5	0,0641	11	0,1222	1	16	0,095
Allel 26	5	0,0641	4	0,0444	0	9	0,054
Allel 27	3	0,0385	7	0,0778	0	10	0,060
Allel 28	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,000
Allel 29	1	0,0128	1	0,0111	0	2	0,012
Allel 30	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,006
Allel 32	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,006
Summe:	78	1,0000	90	1,0000	3	168	1,0000

Tabelle 3-15: Allelfrequenzen für DXS101 in Lettland.

Der PIC betrug 0.846, der Het 0.859. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.965 und für PD_m 0.853. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,719, für MEC II 0.840, für MEC III 0.840 und für MEC IV 0.738.

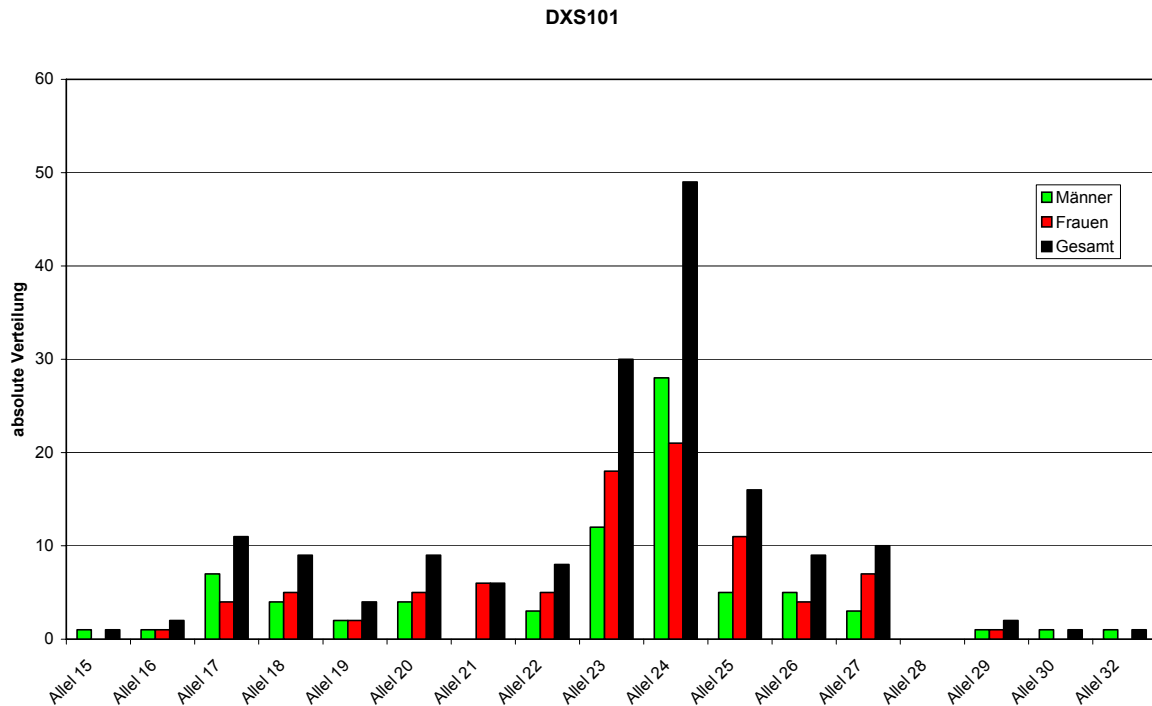


Abbildung 3.19: Allelfrequenzen für DXS101 in Lettland.

3.2.2.6 STR DXS7424

Hier fanden sich in der untersuchten lettischen Population elf Allele. Allel 14 kam mit 0,3155 (0,3205 bei Männern, 0,3111 bei Frauen) am häufigsten vor. Ebenfalls konnten oft beobachtet werden die Allele 16 (0,2024; 0,2051 bei Männern, 0,2000 bei Frauen) und 15 (0,1845; 0,1795 bei Männern, 0,1889 bei Frauen) sowie etwas seltener die Allele 13 (0,1071; 0,1026 bei Männern, 0,1111 bei Frauen) und 17 (0,0833; 0,1154 bei Männern, 0,0556 bei Frauen). Sehr selten kamen die Allele 18, 19, 10, 11 und 20 vor. Ungleiche Verteilung zwischen Männern und Frauen kamen nur bei den seltenen oder sehr seltenen Allelen vor, so bei Allel 17, 12, 10, 11 und 20. Es wurden acht homozygote Frauen gezählt.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 10	0	0,0000	1	0,0111	0	1	0,0060
Allel 11	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Allel 12	2	0,0256	5	0,0556	0	7	0,0417
Allel 13	8	0,1026	10	0,1111	1	18	0,1071
Allel 14	25	0,3205	28	0,3111	5	53	0,3155
Allel 15	14	0,1795	17	0,1889	1	31	0,1845
Allel 16	16	0,2051	18	0,2000	1	34	0,2024
Allel 17	9	0,1154	5	0,0556	0	14	0,0833
Allel 18	1	0,0128	4	0,0444	0	5	0,0298
Allel 19	2	0,0256	1	0,0111	0	3	0,0179
Allel 20	0	0,0000	1	0,0111	0	1	0,0060
Summe:	78	1,0000	90	1,0000	8	168	1,0000

Tabelle 3-16: Allelfrequenzen für DXS7424 in Lettland.

Der PIC betrug 0.791, der Het 0.809. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.936 und für PD_m 0.804. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,622, für MEC II 0.778, für MEC III 0.779 und für MEC IV 0.656.

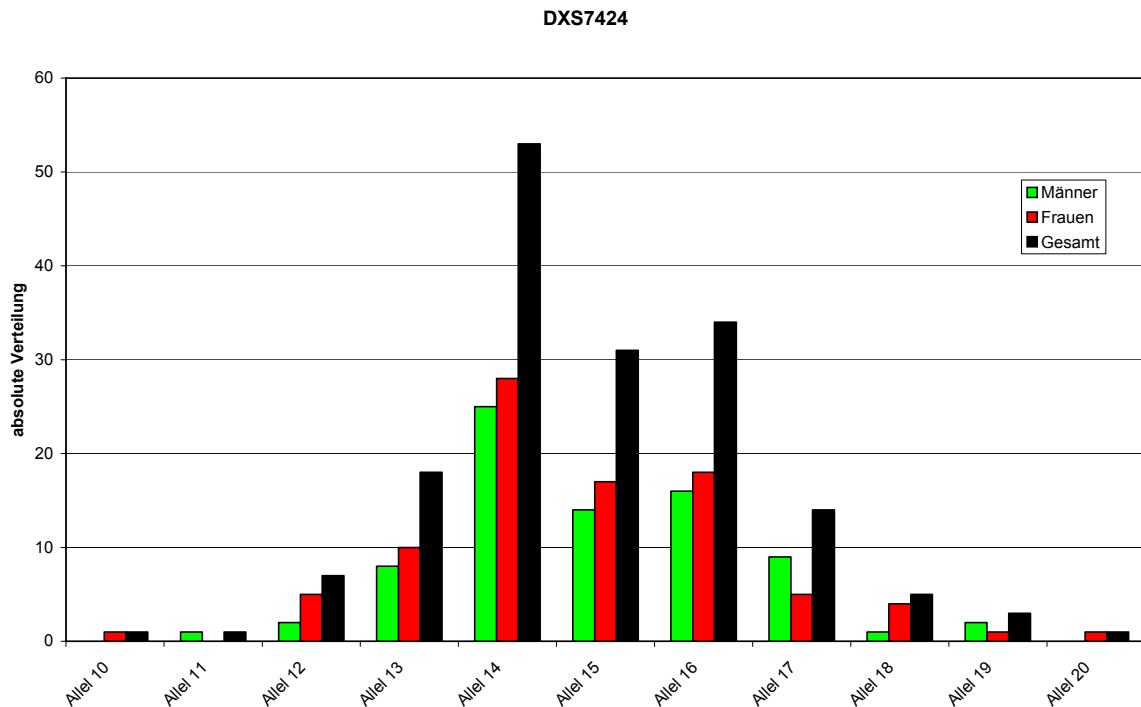


Abbildung 3.20: Allelfrequenzen für DXS7424 in Lettland.

3.2.2.7 STR DXS7133

Es wurden die fünf Allele 8 bis 12 für die untersuchte Population aus Lettland nachgewiesen. Dabei waren Allel 11 mit 0,3750 (0,4103 bei Männern, 0,3444 bei Frauen) und Allel 10 mit 0,3512 (0,2821 bei Männern, 0,4111 bei Frauen) die häufigsten Allele. Etwas seltener kam Allel 9 mit 0,2143 (0,2436 bei Männern, 0,1889 bei Frauen) vor. Selten war Allel 12 (0,0536) und Allel 8 konnte nur bei einer Person nachgewiesen werden. Es wurden 12 homozygote Frauen gezählt.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 7	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 8	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Allel 9	19	0,2436	17	0,1889	0	36	0,2143
Allel 10	22	0,2821	37	0,4111	6	59	0,3512
Allel 11	32	0,4103	31	0,3444	6	63	0,3750
Allel 12	4	0,0513	5	0,0556	0	9	0,0536
Allel 13	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Summe:	78	1,0000	90	1,0000	12	168	1,0000

Tabelle 3-17: Allelfrequenzen für DXS7133 in Lettland.

Der PIC betrug 0.659, der Het 0.693. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.843 und für PD_m 0.689. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,421, für MEC II 0.628, für MEC III 0.626 und für MEC IV 0.482.

DXS7133

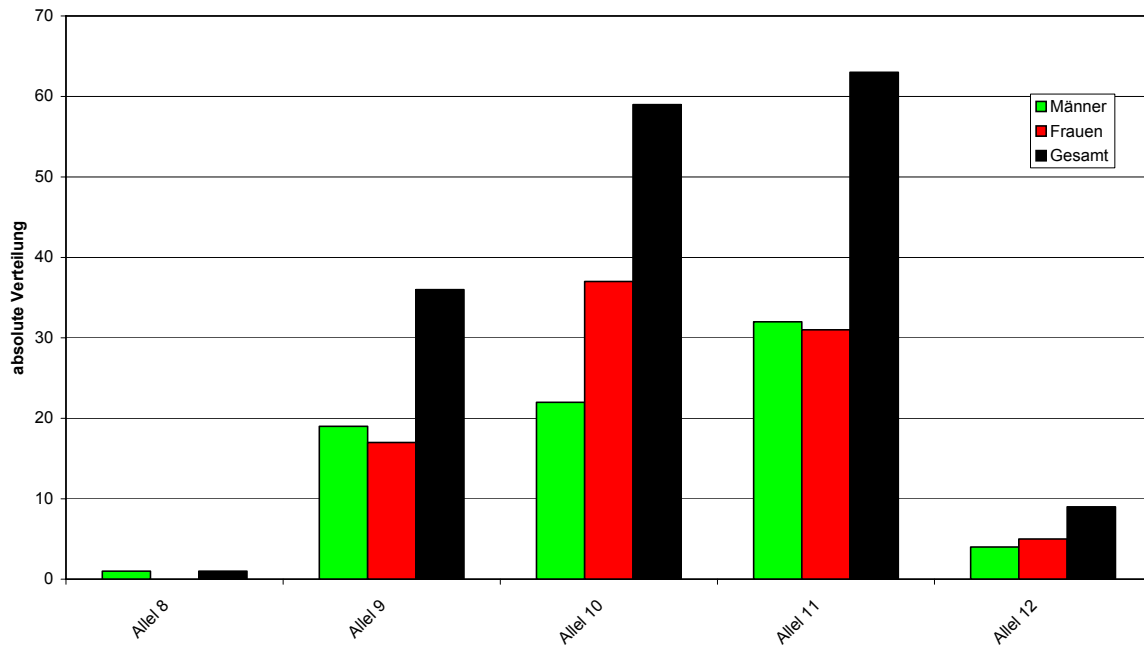


Abbildung 3.21: Allelfrequenzen für DXS7133 in Lettland.

3.2.2.8 STR HPRTB

In der lettischen Population fanden sich neun Allele. 95 % aller Allele stellten die vier Allele 12, 13, 11 und 14. Allel 12 trat mit 0,369 (0,4231 bei Männern, 0,3222 bei Frauen) am häufigsten auf, gefolgt von Allel 13 mit 0,298 (0,2692 bei Männern, 0,3222 bei Frauen). Allel 11 wies eine Häufigkeit von 0,149 (0,1538 bei Männern, 0,1444 bei Frauen) auf und Allel 14 eine Häufigkeit von 0,137 (0,1410 bei Männern, 0,1333 bei Frauen). Die Allele 10, 15, 17, 9 und 16 waren sehr selten und konnten bis auf Allel 15 nur bei Frauen nachgewiesen werden. Es wurden neun homozygote Frauen beobachtet.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 9	0	0,0000	1	0,0111	0	1	0,006
Allel 10	0	0,0000	2	0,0222	0	2	0,012
Allel 11	12	0,1538	13	0,1444	1	25	0,149
Allel 12	33	0,4231	29	0,3222	4	62	0,369
Allel 13	21	0,2692	29	0,3222	2	50	0,298
Allel 14	11	0,1410	12	0,1333	2	23	0,137
Allel 15	1	0,0128	1	0,0111	0	2	0,012
Allel 16	0	0,0000	1	0,0111	0	1	0,006
Allel 17	0	0,0000	2	0,0222	0	2	0,012
Summe:	78	1,0000	90	1,0000	9	168	1,0000

Tabelle 3-18: Allelfrequenzen für HPRTB in Lettland.

Der PIC betrug 0.716, der Het 0.743. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.889 und für PD_m 0.737. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,507, für MEC II 0.695, für MEC III 0.690 und für MEC IV 0.556.

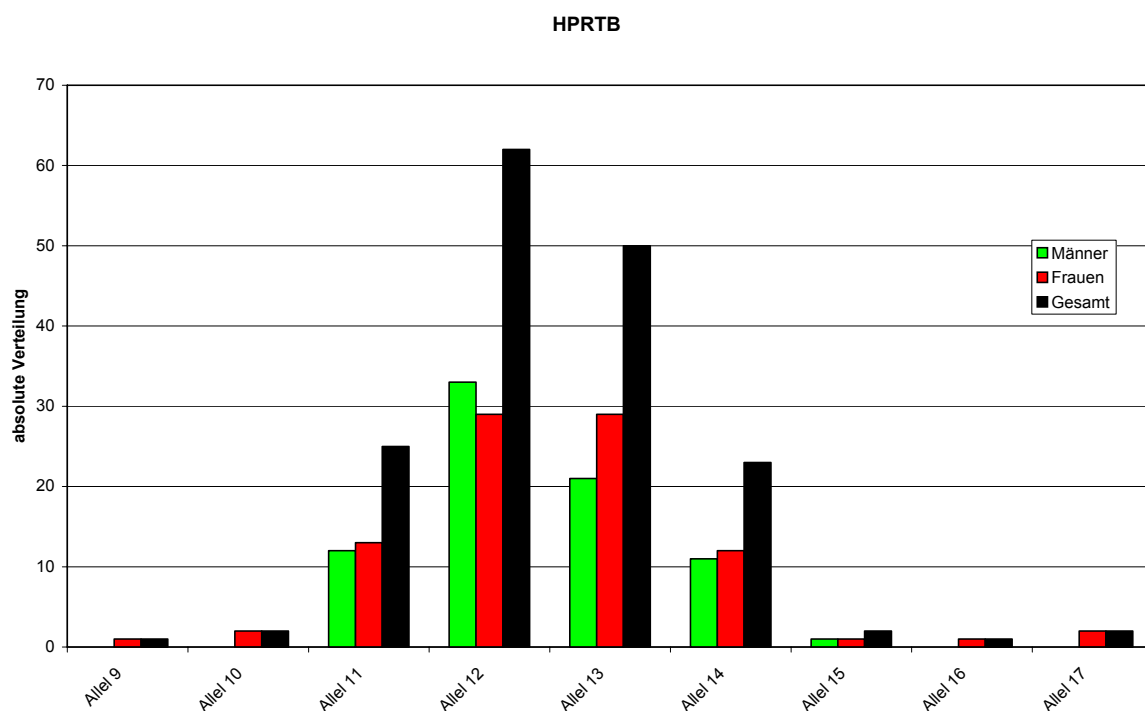


Abbildung 3.22: Allelfrequenzen für HPRTB in Lettland.

3.2.2.9 STR DXS 8377

Es wurden in der lettischen Population 17 Allele für DXS8377 gefunden. Allel 48 wurde am häufigsten beobachtet (0,1667; 0,1667 bei Männern, 0,1667 bei Frauen), gefolgt von den Allelen 49 (0,131; 0,1410 bei Männern, 0,1222 bei Frauen), 50 (0,1131; 0,0769 bei Männern, 0,1444 bei Frauen) und 51 (0,1012; 0,1026 bei Männern, 0,1000 bei Frauen). Zu den etwas weniger häufigen Allelen zählten Allel 46 (0,0774), Allele 45 und 47 (beide 0,0655), Allele 52 und 53 (0,0595) sowie Allel 43 (0,0476). Noch seltener waren die Allele 42 und 55 (beide 0,0298), Allel 54 (0,0119) und die Allele 40, 41 und 56, die jeweils nur bei einer Person nachgewiesen werden konnten. In Allel 50 wurde deutlich häufiger bei Frauen als bei Männern gefunden. Es wurden drei homozygote Frauen beobachtet.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 39	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 40	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Allel 41	0	0,0000	1	0,0111	0	1	0,0060
Allel 42	2	0,0256	3	0,0333	0	5	0,0298
Allel 43	5	0,0641	3	0,0333	0	8	0,0476
Allel 44	3	0,0385	1	0,0111	0	4	0,0238
Allel 45	6	0,0769	5	0,0556	0	11	0,0655
Allel 46	7	0,0897	6	0,0667	0	13	0,0774
Allel 47	4	0,0513	7	0,0778	0	11	0,0655
Allel 48	13	0,1667	15	0,1667	2	28	0,1667
Allel 49	11	0,1410	11	0,1222	1	22	0,1310
Allel 50	6	0,0769	13	0,1444	0	19	0,1131
Allel 51	8	0,1026	9	0,1000	0	17	0,1012
Allel 52	4	0,0513	6	0,0667	0	10	0,0595
Allel 53	4	0,0513	6	0,0667	0	10	0,0595
Allel 54	1	0,0128	1	0,0111	0	2	0,0119
Allel 55	2	0,0256	3	0,0333	0	5	0,0298
Allel 56	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Summe:	78	1,0000	90	1,000	3	168	1,0000

Tabelle 3-19: Allelfrequenzen für DXS8377 in Lettland.

Der PIC betrug 0.901, der Het 0.911. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.983 und für PD_m 0.905. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,809, für MEC II 0.897, für MEC III 0.898 und für MEC IV 0.821.

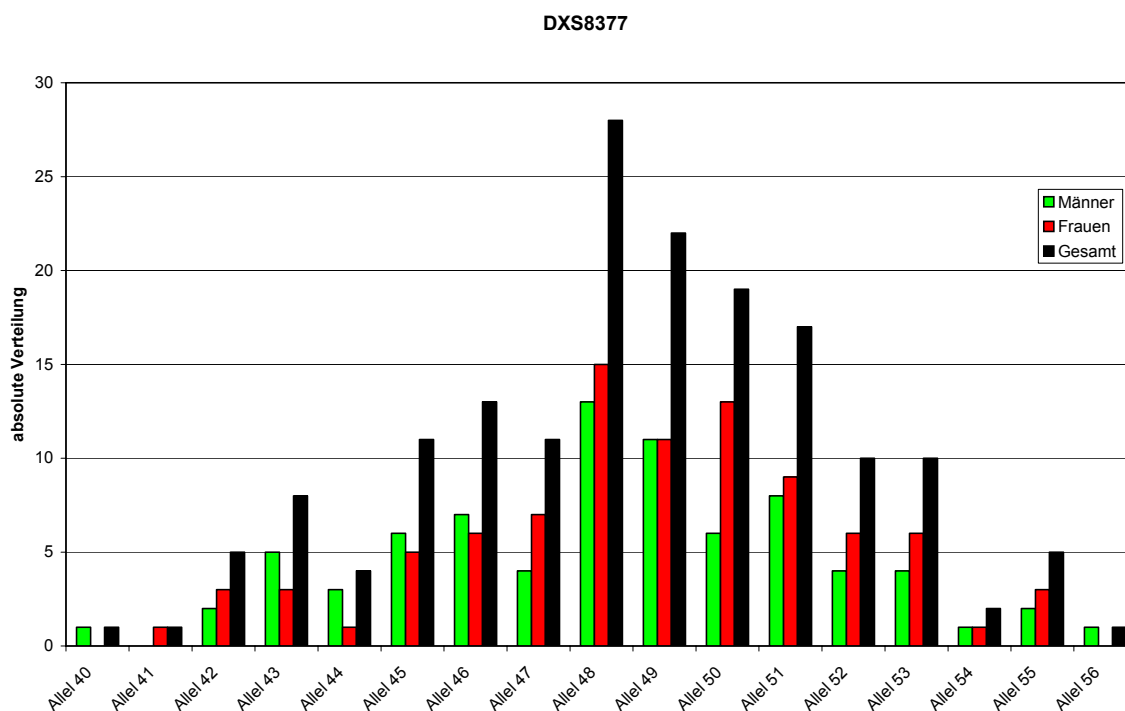


Abbildung 3.23: Allelfrequenzen für DXS8377 in Lettland.

3.2.2.10 STR DXS 10011

Für diesen allelreichen Marker konnten in der lettischen Population 25 Allele nachgewiesen werden. Dabei waren die Allele 31.2 (0,0952, 0,1026 bei Männern, 0,0889 bei Frauen), 38 (0,0893, 0,0897 bei Männern, 0,0889 bei Frauen), 30.2 (0,0833, 0,0769 bei Männern, 0,0889 bei Frauen) 32.2 (0,0774, 0,0641 bei Männern, 0,0889 bei Frauen) und 36 (0,0714, 0,0769 bei Männern, 0,0667 bei Frauen) am häufigsten vertreten. Ohne größere Abstände folgten in absteigender Häufigkeit die Allele 35 und 49 (beide 0,0655), 33.2, 37, 34, 39 und 42 (beide 0,0357), 29, 32, 35.2 und 41 (alle vier 0,0298), 28,30,44 und 45 (alle vier 0,0179), 34.2, 43 und 46 (alle drei 0,0119) sowie mit der geringsten Häufigkeit die Allele 31 und 47 (beide 0,0060). Die sehr seltenen Allele 31, 34.2 und 47 kamen nur bei Männern vor, Allel 29 wurde überwiegend bei Frauen beobachtet. Es fanden sich lediglich zwei homozygote Frauen.

Allele	Männer		Frauen			Gesamt	
	[n]	Häufigkeit [f/n]	[n]	Häufigkeit [f/n]	Homozygote Anzahl	[n]	Häufigkeit [f/n]
Allel 28	2	0,0256	1	0,0111	0	3	0,0179
Allel 29	1	0,0128	4	0,0444	0	5	0,0298
Allel 29.2	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 30	2	0,0256	1	0,0111	0	3	0,0179
Allel 30.2	6	0,0769	8	0,0889	0	14	0,0833
Allel 31	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Allel 31.2	8	0,1026	8	0,0889	0	16	0,0952
Allel 32	2	0,0256	3	0,0333	0	5	0,0298
Allel 32.2	5	0,0641	8	0,0889	0	13	0,0774
Allel 33	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 33.2	3	0,0385	6	0,0667	0	9	0,0536
Allel 34	3	0,0385	4	0,0444	0	7	0,0417
Allel 34.2	2	0,0256	0	0,0000	0	2	0,0119
Allel 35	5	0,0641	6	0,0667	0	11	0,0655
Allel 35.2	2	0,0256	3	0,0333	0	5	0,0298
Allel 36	6	0,0769	6	0,0667	1	12	0,0714
Allel 36.2	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 37	4	0,0513	4	0,0444	0	8	0,0476
Allel 38	7	0,0897	8	0,0889	0	15	0,0893
Allel 38.2	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Allel 39	2	0,0256	4	0,0444	0	6	0,0357
Allel 40	5	0,0641	6	0,0667	0	11	0,0655
Allel 41	2	0,0256	3	0,0333	1	5	0,0298
Allel 42	3	0,0385	3	0,0333	0	6	0,0357
Allel 43	1	0,0128	1	0,0111	0	2	0,0119
Allel 44	2	0,0256	1	0,0111	0	3	0,0179
Allel 45	2	0,0256	1	0,0111	0	3	0,0179
Allel 46	1	0,0128	1	0,0111	0	2	0,0119
Allel 47	1	0,0128	0	0,0000	0	1	0,0060
Allel 49	0	0,0000	0	0,0000	0	0	0,0000
Summe:	78	1,0000	90	1,000	2	168	1,0000

Tabelle 3-20: Allelfrequenzen für DXS10011 in Lettland.

Der PIC betrug 0.941, der Het 0.949. Für PD_f ergibt sich ein Wert von 0.994 und für PD_m 0.942. Die Werte der verschiedenen MECs betragen für MEC I 0,883, für MEC II 0.939, für MEC III 0.889 und für MEC IV 0.889.

DXS10011

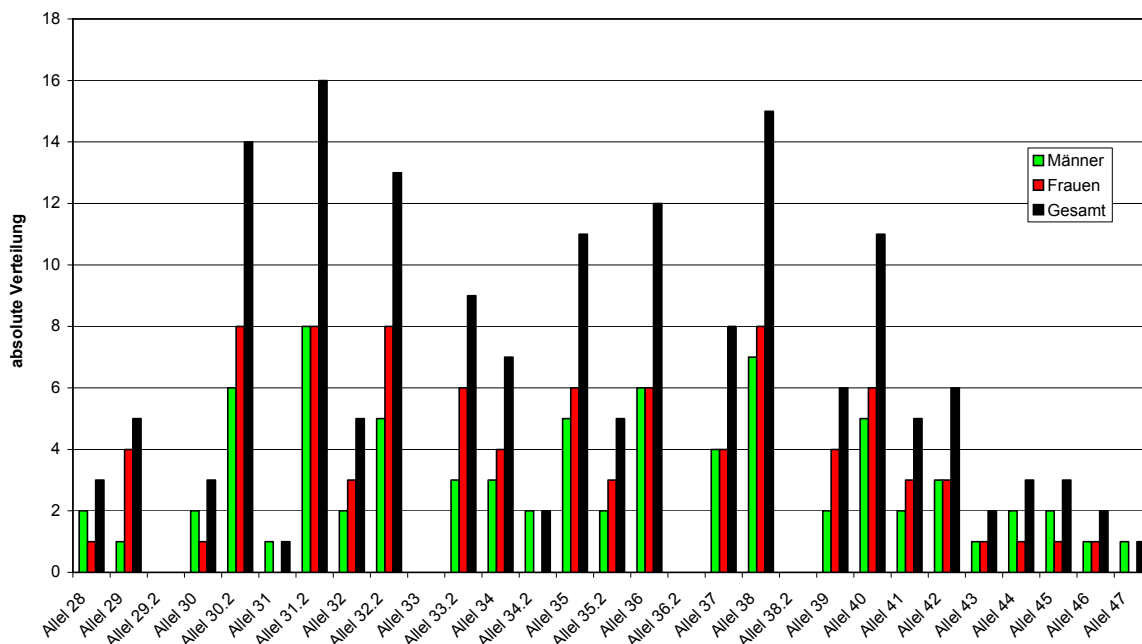


Abbildung 3.24: Allelfrequenzen für DXS10011 in Lettland.

3.2.3 Vergleichende Darstellung der beschreibenden Statistikwerte

Die gefundenen Statistikwerte für PIC, MEC (I bis IV), Het und PD (f und m) wichen in den Populationen Vorpommern und Lettland nicht wesentlich voneinander ab.

	DXS9898	DXS6807	HPRTB	DXS7133	DXS8378
PIC	0.644	0.635	0.701	0.626	0,643
MEC I	0.536	0.438	0.516	0.432	0,461
MEC II	0.723	0.638	0.701	0.628	0,668
MEC III	0.721	0.636	0.701	0.627	0,643
MEC IV	0.585	0.491	0.562	0.483	0,499
HET	0.763	0.691	0.744	0.684	0,703
PDf	0.903	0.851	0.892	0.844	0,853
PDm	0.761	0.689	0.742	0.682	0,701

Tabelle 3-21: Beschreibende Statistikwerte für DXS9898, DXS6807, HPRTB, DXS7133 und DXS8378 der vorpommerschen Population.

	DXS9898	DXS6807	HPRTB	DXS7133	DXS8378
PIC	0.737	0.700	0.716	0.659	0.720
MEC I	0.530	0.499	0.507	0.421	0.509
MEC II	0.717	0.682	0.695	0.628	0.698
MEC III	0.716	0.681	0.690	0.626	0.699
MEC IV	0.580	0.540	0.556	0.482	0.559
HET	0.762	0.724	0.743	0.693	0.746
PDf	0.900	0.884	0.889	0.843	0.890
PDm	0.757	0.719	0.737	0.689	0.741

Tabelle 3-22: Beschreibende Statistikwerte für DXS9898, DXS6807, HPRTB, DXS7133 und DXS8378 der lettischen Population.

	DXS7424	DXS101	ARA	DXS10011	DXS8377
PIC	0.747	0.864	0.878	0.944	0.907
MEC I	0.572	0.751	0.779	0.895	0.827
MEC II	0.747	0.862	0.882	0.946	0.908
MEC III	0.747	0.863	0.879	0.945	0.908
MEC IV	0.616	0.771	0.793	0.899	0.838
HET	0.783	0.878	0.892	0.950	0.920
PDf	0.918	0.972	0.977	0.995	0.986
PDm	0.781	0.875	0.889	0.948	0.915

Tabelle 3-23: Beschreibende Statistikwerte für DXS7424, DXS101, ARA, DXS10011 und DXS8377 der vorpommerschen Population.

	DXS7424	DXS101	ARA	DXS10011	DXS8377
PIC	0.791	0.846	0.904	0.941	0.901
MEC I	0.622	0.719	0.812	0.883	0.809
MEC II	0.778	0.840	0.900	0.939	0.897
MEC III	0.779	0.840	0.899	0.939	0.898
MEC IV	0.656	0.738	0.914	0.889	0.821
HET	0.809	0.859	0.914	0.949	0.911
PDf	0.936	0.965	0.984	0.994	0.983
PDm	0.804	0.853	0.908	0.942	0.905

Tabelle 3-24: Beschreibende Statistikwerte für DXS7424, DXS101, ARA, DXS10011 und DXS8377 der lettischen Population.

3.3 Kopplungsgruppenuntersuchung am Beispiel von 11 Familien

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zusätzlich elf Familien mit mindestens zwei Söhnen einer Mutter bezüglich der in der Literatur beschriebenen Kopplungsgruppeneigenschaften untersucht. Die hier gefundenen Kopplungsgruppen entsprechen denen in der Literatur bereits beschriebenen (Szibor et al., 2003b).

Familie	Kopplungsgruppe 2					Kopplungsgruppe 4		Kopplungsgruppe 1	
	DX9898	DXS101	DXS7424	DXS7133	Ara	DXS10011	DXS8377	DXS6807	DXS8378
1.1	8.3 ; 12	24;25	14;16	9	19;22	29;37	40;44	11;13	11
1.2	8.3	25	14	9	22	37	44	11	11
1.3	8.3	25	14	9	22	29	40	11	11
1.4	8.3	25	14	9	22	29	40	11	11
3.1	8.3;12	18;26	14;15	11;12	18;20	35;36	44;46	11	11;12
3.2	12	18	15	11	20	35	46	11	11
3.3	8.3	26	14	11	18	35	46	11	11
4.1	8.3;13	24	14;16	11	14;22	33;37	44;49	11;14	10;12
4.2	8.3	24	16	11	14	37	44	11	12
4.3	13	24	14	11	22	33	49	11	12
5.1	11	18;24	15;16	8;12	30;31	29;34	41;47	11	12
5.2	11	18	15	12	31	34	47	11	12
5.3	11	24	16	8	30	29	41	11	12
6.1	12;13	24	13;17	9;12	21;29	33.2;37	51	11;14	10
6.2	13	24	13	12	21	33.2	51	14	10
6.3	13	24	13	12	21	33.2	51	11	10
7.1	12	25;27	12	9	22	30.2;40	43;46	14	10;11
7.2	12	25	12	9	22	30.2	46	14	11
7.3	12	25	12	9	22	30.2	46	14	10
7.4	12	25	12	9	22	30.2	46	14	10
8.1	8.3;11	18;22	14;16	9;11	18;24	40;42	50;51	11;15	11;12
8.2	11	18	14	11	18	42	51	11	12
8.3	8.3	22	16	11	24	40	50	15	11
9.1	8.3;13	22;24	17	11	25;26	31.2;33	47;48	11	11;12
9.2	13	22	17	11	25	33	47	11	12
9.3	8.3	24	17	11	26	31.2	48	11	11
10.1	8.3;14	19;25	16	9;11	22	34.2;40	44;46	11;15	10;11
10.2	14	19	16	11	22	40	44	11	11
10.3	14	19	16	11	22	34.2	44	15	10
11.1	11;13	22;26	14;15	9;11	18;19	34;35	44;48	15	10;11
11.2	13	26	14	11	18	34	44	15	11
11.3	13	26	14	11	18	35	48	15	10
11.4	11	22	15	9	19	35	48	15	11
12.1	8.3;12	18;23	14;16	9	22	38;41	44	11;14	10;12
12.2	8.3	23	16	9	22	38	44	11	10
12.3	12	18	14	9	22	41	44	11	10
12.4	8.3	23	16	9	22	38	44	11	10

Tabelle 3-21: Genotypen für neun X-STRs aus drei Kopplungsgruppen von elf Familien mit mindestens je zwei Söhnen. Die eins hinter der Familiennummer bezeichnet immer die Mutter, die folgenden Ziffern die untersuchten Söhne. Gekoppelt auftretende Allele sind in blau bzw. rot gehalten.

Die Kopplungsgruppe 2 fand sich in allen getesteten Familien bestätigt. Dies soll am Beispiel von Familie 12 mit drei Söhnen erläutert werden. Die Mutter (12.1) zeigte in drei der fünf STRs (DXS9898, DXS101, DXS7424) ein heterozygotes Allelmuster. Zwei der Söhne (12.2 und 12.4) zeigen das Allelmuster DXS9898 (8.3), DXS101 (23) und DXS7424 (16), während beim dritten Sohn (12.3) in allen drei STRs das andere mütterliche Allel gefunden wurde.

Betrachtet man Kopplungsgruppe 4, so ließ sich für zehn der elf Familien eine Kopplung von DXS 10011 und DXS 8377 zeigen. Lediglich in Familie 10 war dies nicht möglich. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war die Kopplungsgruppenzugehörigkeit von DXS10011 noch nicht gesichert. Diese Daten unterstützen die Zugehörigkeit zur Kopplungsgruppe 4, wie sie auch von Hering et al. (2004) vorgeschlagen wurde.

Bei der Untersuchung von Kopplungsgruppe 1 waren lediglich vier der elf Mütter in beiden Markern heterozygot. In diesen vier Familien fand sich eine Bestätigung der Kopplung der STRs DXS6807 und DXS8378.

4 Diskussion

4.1 X-chromosomale STRs in der forensischen Routine

Autosomale und Y-chromosomale DNA Polymorphismen werden seit vielen Jahren für forensische Zwecke benutzt (Brinkmann 1998; Kayser et al., 1997), sowohl in der Abstammungsbegutachtung als auch in der Spurenanalytik. Die ersten X-chromosomalen STRs wie HPRTB und ARA wurden von Hearne und Todd (1991) bzw. von Sleddens et al. (1992) beschrieben. Als weitere STRs folgten DXS9898 (Murray et al. 1995, Genbank-Information), DXS6807 (Murray et al. 1995, Genbank-Information) und DXS101 (Allen und Belmont, 1993). Bereits 1992 beschrieben Edwards et al. Allelverteilungen u.a. in ARA und HPRTB in vier Bevölkerungsgruppen. Auch wurden Multiplexansätze mit einer Kombination von Y- und X-chromosomalen STRs beschrieben (Tun et al., 1999). Populationsgenetische Daten wurden zunächst nur an kleineren europäischen und nicht-europäischen Populationen ermittelt (Kishida und Tamaki, 1997; Hering und Szibor, 2000; Edelmann und Szibor, 1999; Edelmann und Szibor, 2001), in den letzten Jahren aber auch für eine Vielzahl von – insbesondere deutschen – Probanden veröffentlicht (Edelmann et al. 2001). Die besondere Bedeutung X-chromosomaler STRs in der Begutachtung komplexer Abstammungsfälle wurde von mehr und mehr Rechtsmedizinern erkannt und 2003 von Szibor et al. in einem Review zusammengefasst (2003b). Eine standardmäßige Anwendung der X-chromosomalen STRs in der forensischen Routine ist aber bis heute nicht in allen forensischen DNA-Labors etabliert. Ein Grund dafür ist sicherlich auch, dass kommerzielle Kits mit X-STRs erst in jüngster Zeit erhältlich sind. So ist z.B. der Mentype[®] Argus X-UL der Firma Biotype (Dresden) seit 2004 verfügbar. Zudem lässt sich ein Großteil der Vaterschaftsgutachten mit autosomalen STRs lösen, welche bereits 1999 von 80 % der Labors routinemäßig benutzt wurden (Hallenberg und Morling, 2001). In dieser Studie wurden zwei X-chromosomale Pentaplex-PCRs entwickelt und für die forensische Routine etabliert. Für die forensische Anwendung von trimeren, tetrameren oder pentameren Mikrosatellitenmarkern empfiehlt die ISFG (International Society for Forensic Genetics), dass wichtige populationsgenetische Eigenschaften erfüllt sein müssen (Bär et al., 1997). Die Population sollte bezüglich der Marker

gleichmäßig und zufällig durchmischt sein (Panmixie), sich also im Hardy-Weinberg-Equilibrium befinden. Die Marker sollten einen hohen Polymorphismusgrad aufweisen und unterschiedlichen Kooplungsgruppen angehören. Ein hoher Grad an Heterozygotie wird ebenfalls gefordert. Für gonosomale Marker ist dies jedoch nur bedingt erfüllbar: lediglich für Frauen lässt sich eine Heterozygotierate bestimmen. Für die Quantifizierung der Eignung und Aussagekraft eines Markers wurden verschiedene Formeln beschrieben. PIC (polymorphism information content; Botstein et al., 1980) und Het (expected heterozygosity; Nei and Roychoudhury, 1974) gelten für autosomale und gonosomale Marker gleichermaßen. MEC (mean exclusion chance) wurde von Krüger et al. (1968) ursprünglich eingeführt für Vaterschaftstest in Trios aus Mutter, Kind und Putativvater. Für X-chromosomale Marker stehen je nach Konstellation, Duos oder Trios, verschiedene MEC zur Verfügung (Kishida et al., 1997; Desmarais et al., 1998). PD (power of discrimination; Desmarais et al., 1998) kann für X-chromosomale Marker bei Frauen ohne Abwandlung der autosomalen Formel berechnet werden, für Männer gilt eine andere (Desamarais 1998).

Von den bisher bekannten 26 Trinukleotid- und 90 Tetranukleotidrepeat Polymorphismen des X-Chromosoms (Genome Database; <http://www.gdb.org>) werden zurzeit etwa 18 Tetranukleotid- und 3 Trinukleotid-STRs regelmäßig in der Forensik benutzt (Szibor et al. 2003), zu denen auch die zehn hier ausgewählten: DXS9898, DXS6807, DXS101, HPRTB, ARA, DXS10010, DXS7424, DXS8378, DXS8377 und DXS7133 zählen.

Für die berechneten Werte von PIC, MECs, HET und PD gibt es keine festgelegten Grenzwerte, sondern nur Richtwerte. So lässt sich vergleichend feststellen, dass DXS101, ARA, DXS10011 und DXS8377 sowie annähernd auch noch DXS7424 in allen aufgeführten beschreibenden statistischen Werten am besten abschneiden, während die übrigen STR-Marker ebenfalls gute Werte aufweisen (3.2.3). Insgesamt entsprechen die Werte denen von anderen Autoren gefundenen (Edelmann et al., 2001; Szibor et al., 2003b; Hering et al., 2004).

In dieser Studie wurden die Allelfrequenzen für die ausgewählten X-chromosomalen STRs in Vorpommern und zum Vergleich in Lettland ermittelt und mit weiteren europäischen und nicht-europäischen Populationen verglichen. Die so ermittelten Allelfrequenzen stehen zur statistischen Absicherung der Ergebnisse in komplexen Abstammungsgutachten zur Verfügung.

4.2 Vergleich der Allelverteilung der X-chromosomalen STRs

Zur Einordnung der hier erhobenen Daten finden sich nachfolgend für jeden STR Vergleiche mit anderen Populationen. Dabei sind immer neben den Daten aus Vorpommern und denen aus Lettland eine gepoolte Population aus Deutschland sowie, je nach Verfügbarkeit, eine oder mehrere weitere Populationen anderer Regionen angegeben. Als signifikant wurden Unterschiede gewertet deren p-Wert zwischen 0,01 und 0,001 lag. Hochsignifikant waren p-Werte kleiner 0,001. Als Tendenz zur Signifikanz wurden p-Werte zwischen 0,1 und 0,01 bezeichnet.

Um neben dem Fehler 1. Art (α), die fälschliche Ablehnung der Nullhypothese, hier berücksichtigt in p , zusätzlich den Fehler 2. Art (β), die fälschliche Beibehaltung der Nullhypothese, zu berücksichtigen, wurde zusätzlich die Power (Teststärke) berechnet. Um der geringen Stichprobenanzahl gerecht zu werden, wurden nur solche Ergebnisse als signifikant gewertet, bei denen die Teststärke ($1-\beta$) größer oder gleich 80% war.

4.2.1 STR DXS6807

Die Populationsdaten von Vorpommern und Lettland sind im Rahmen dieser Arbeit erhoben worden, die Daten der gepoolte Deutschlandpopulation stammen von Edelmann et al. (2001). Die Daten der gepoolten Koreapopulation stammen von Shin et al. (2005).

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea
Geschlecht				
Männer	105	216	78	
Frauen	100	350	45	
Summe	205	566	123	401
Allele				
10				0.004
11	0.439	0.492	0.4459	0.387
12	0.007	0.021	0.0676	0.018
13	0.023	0.011	0.0676	0.025
14	0.256	0.235	0.1824	0.370
15	0.226	0.202	0.1959	0.172
16	0.030	0.029	0.0405	0.019
17	0.010	0.010		0.006
18	0.007			
20	0.003			
PIC	0.635	0.608	0.700	0.622
MEC I	0.438		0.499	
MEC II	0.638		0.682	
MEC III	0.636		0.681	
MEC IV	0.491		0.540	
HET	0.691	0.709	0.724	
PD _f	0.851	0.838	0.884	0.827
PD _m	0.689	0.671	0.719	0.697

Tabelle 4-1: Allelfrequenzen von DXS6807 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al., 2001), Lettland und Korea (Shin et al., 2005).

Für diesen STR ergab sich in der untersuchten Population Vorpommern nur in Allel 12 ein signifikanter Unterschied zu einer anderen Population, nämlich Lettland. Weitere signifikante Unterschiede ergaben sich in Allel 11 zwischen Korea und Deutschland, in Allel 12 zwischen Korea und Lettland, in Allel 13 zwischen Lettland und Deutschland, sowie in Allel 14 zwischen Lettland und Korea. Da die Frequenzen aus Lettland auf einer deutlich geringeren Probandenzahl basieren als die gepoolten Daten aus Deutschland oder Korea, sind auch die signifikanten Unterschiede entsprechend zu bewerten. Die Signifikanz in Allel 11 zwischen Deutschland und Korea fällt sicherlich stärker ins Gewicht, als die Unterschiede zwischen Vorpommern und Lettland. Erst größere Probandenzahlen werden zeigen, ob sich die beiden Populationen in diesem Marker tatsächlich stärker unterscheiden.

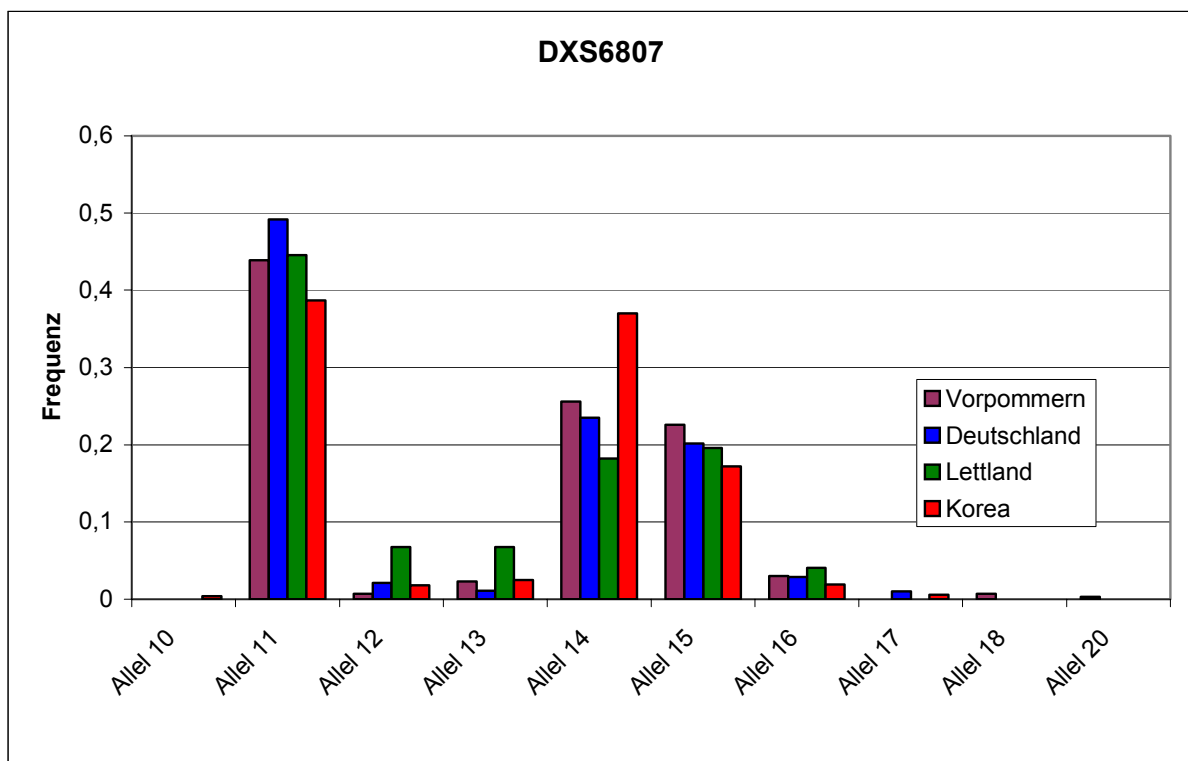


Abbildung 4.1: Allelfrequenzen von DXS6807 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al., 2001), Lettland und Korea (Shin et al., 2005).

4.2.2 STR DXS8378

Zum Vergleich wurde den Populationsdaten dieser Studie (Vorpommern und Lettland) Populationsdaten einer gepoolten Deutschlandpopulation Edelman et al. (2001) sowie einer Population aus Korea, Shin et al. (2005) gegenübergestellt.

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea
Geschlecht				
Männer	105	245	78	
Frauen	100	182	45	
Gesamt	205	427	123	401
Allele				
8	0,0033	0.002	0.0270	0.006
9	0,0262	0.046	0.0541	0.573
10	0,3115	0.312	0.3514	0.281
11	0,3738	0.332	0.2432	0.123
12	0,2459	0.277	0.2635	0.017
13	0,0328	0.029	0.0541	
14	0,0066	0.002	0.0068	
PIC	0,643	0.658	0.720	0.793
MEC I	0,461		0.509	
MEC II	0,668		0.698	
MEC III	0,643		0.699	
MEC IV	0,499		0.559	
HET	0,703	0.714	0.746	
PD _f	0,853	0.868	0.890	0.940
PC _m	0,701	0.719	0.741	0.818

Tabelle 4-2: Allelfrequenzen von DXS8378 in Vorpommern, Deutschland , Edelman et al. (2001), Lettland und Korea, Shin et al. (2005).

In diesem STR konnten lediglich hochsignifikanten Abweichungen der koreanischen Population gegenüber allen übrigen untersuchten Populationen in den Allelen 9, 12 und 13 festgestellt werden, in Allel 11 wich die Frequenz Koreas nur signifikant von der Lettlands und Deutschlands ab.

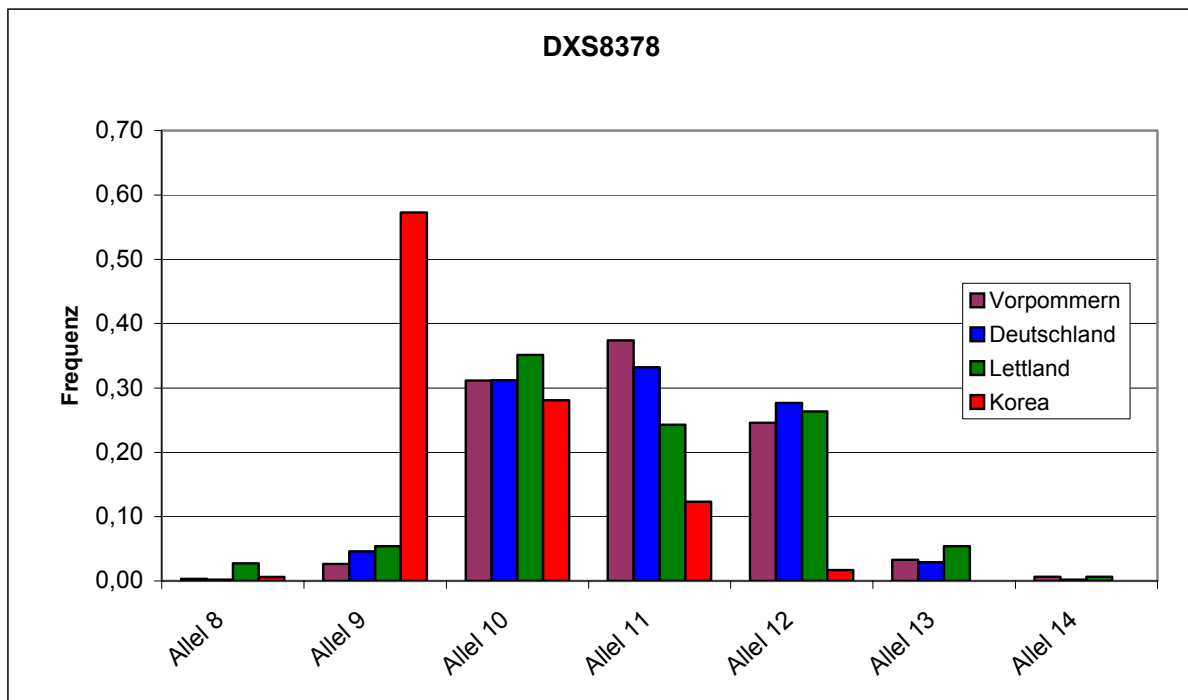


Abbildung 4.2: Allelfrequenzen von DXS8378 in Vorpommern, Deutschland, Edelman et al. (2001), Lettland und Korea, Shin et al. (2005).

4.2.3 STR ARA

Die hier erhobenen Daten für die Populationen Vorpommern und Lettland wurden mit Populationsdaten aus Deutschland (gepoolt, Edelman et al., 2001) und Korea (Shin et al., 2004), Kantabrien (Zarrabeitia et al., 2004), dem Baskenland (Zarrabeitia et al., 2004) und Finnland (Vauhkonen et al., 2004) verglichen.

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea	Kantabrien	Baskenland	Finnland
Geschlecht							
Männer	105		78	150			
Frauen	100		45	150			
Gesamt	205	260	123	300	244	147	103
Allele							
7		0.002					
8		0.002					
9		0.002					
10		0.002					
11		0.002					
12		0.004		0.009			
13	0.003	0.002		0.002		0.009	0.007
14		0.010			0.006	0.017	
15	0.007	0.017		0.009		0.017	0.007
16	0.003	0.015	0.0203	0.013	0.006	0.030	0.007
17	0.007	0.062	0.0068	0.020	0.011	0.009	0.014
18	0.060	0.102	0.0878	0.029	0.053	0.055	0.041
19	0.106	0.125	0.1284	0.044	0.130	0.140	0.082
20	0.142	0.156	0.0946	0.076	0.102	0.111	0.122
21	0.156	0.100	0.1149	0.138	0.213	0.170	0.143
22	0.149	0.104	0.1081	0.158	0.108	0.055	0.122
23	0.093	0.104	0.1081	0.140	0.130	0.149	0.109
24	0.113	0.102	0.0541	0.136	0.078	0.115	0.088
25	0.073	0.027	0.0811	0.084	0.083	0.060	0.136
26	0.030	0.023	0.027	0.040	0.036	0.043	0.068
27	0.030	0.012	0.1014	0.044	0.006		0.020
28	0.017	0.017	0.0203	0.036	0.008	0.004	0.020
29	0.007	0.006	0.0135	0.011	0.008	0.009	0.007
30	0.007	0.002	0.0338	0.011		0.004	
31					0.014	0.004	
32					0.003		0.007
33					0.003		
34					0.003		
PIC	0.878	0.893	0.904	0.880			
MEC I	0.779		0.812				
MEC III	0.879		0.899				
MEC IV	0.793		0.825				
HET	0.892	0.857	0.914	0.893			0.818
PD _f	0.977	0.982	0.984		0.975	0.978	0.948
PD _m	0.889	0.901	0.908		0.881	0.890	0.904

Tabelle 4-3: Allelfrequenzen von ARA in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al., 2001), Lettland, Korea (Shin et al., 2004), Kantabrien (Zarrabeitia et al., 2004), Baskenland (Zarrabeitia et al., 2004) und Finnland (Vauhkonen et al., 2004).

Gefunden wurden in diesem X-STR signifikante Unterschiede in den Frequenzen zweier Allele und hochsignifikante Unterschiede in zwei weiteren Allelen. Dazu gehörte Vorpommern, welches sich in Allel 19, ebenso wie Deutschland und Lettland, hochsignifikant von Korea unterschied. Weiterhin war Lettland in Allel 27

hochsignifikant verschieden von Deutschland, Baskenland und Kantabrien. In Allel 21 unterschied sich Deutschland signifikant von Kantabrien und in Allel 25 unterschied sich Deutschland signifikant von Finnland.

Da es sich bei DXSARA um einen STR mit relativ vielen Allelen handelt, sind hohe Probandenzahlen notwendig, um aussagekräftige Resultate bei Vergleichen zu erhalten. Die Fallzahlen insbesondere von Finnland, Lettland und dem Baskenland aber auch der übrigen Populationen sollten besonders für allelreiche Marker wie ARA weiter untersucht werden.

Szibor et al. (2005b) geben zu bedenken, dass ARA nicht die Kriterien, denen viele Länder bezüglich der genetischen Typisierung folgen, erfüllt. ARA ist in einem kodierendem DNA-Abschnitt, einem Androgenrezeptor, lokalisiert. Außerdem ist es möglich, anhand von ARA festzustellen ob die, wenn auch seltene, X-chromosomale spinale und bulbäre Muskelatrophie vorliegt (La Spada et al., 1991) oder ob ein erhöhtes Risiko für hohe LDL-Spiegel (low density lipoproteins) und somit für eine koronare Herzkrankheit vorhanden ist (Zitzmann et al., 2003). Weiterhin zeigte eine Analyse der „androgen receptor gene mutations database (ARGD)“ (Gottlieb et al., 2004) dass einige Repeatlängenvariationen mit Risiken für Brustkrebs, Endometrium-, Kolorektal- und Prostatakrebs assoziiert sind. Szibor et al. (2005b) schlagen daher vor, diesen Marker zu ersetzen, da eine Fülle von unbelasteten STRs zur Verfügung stehen.

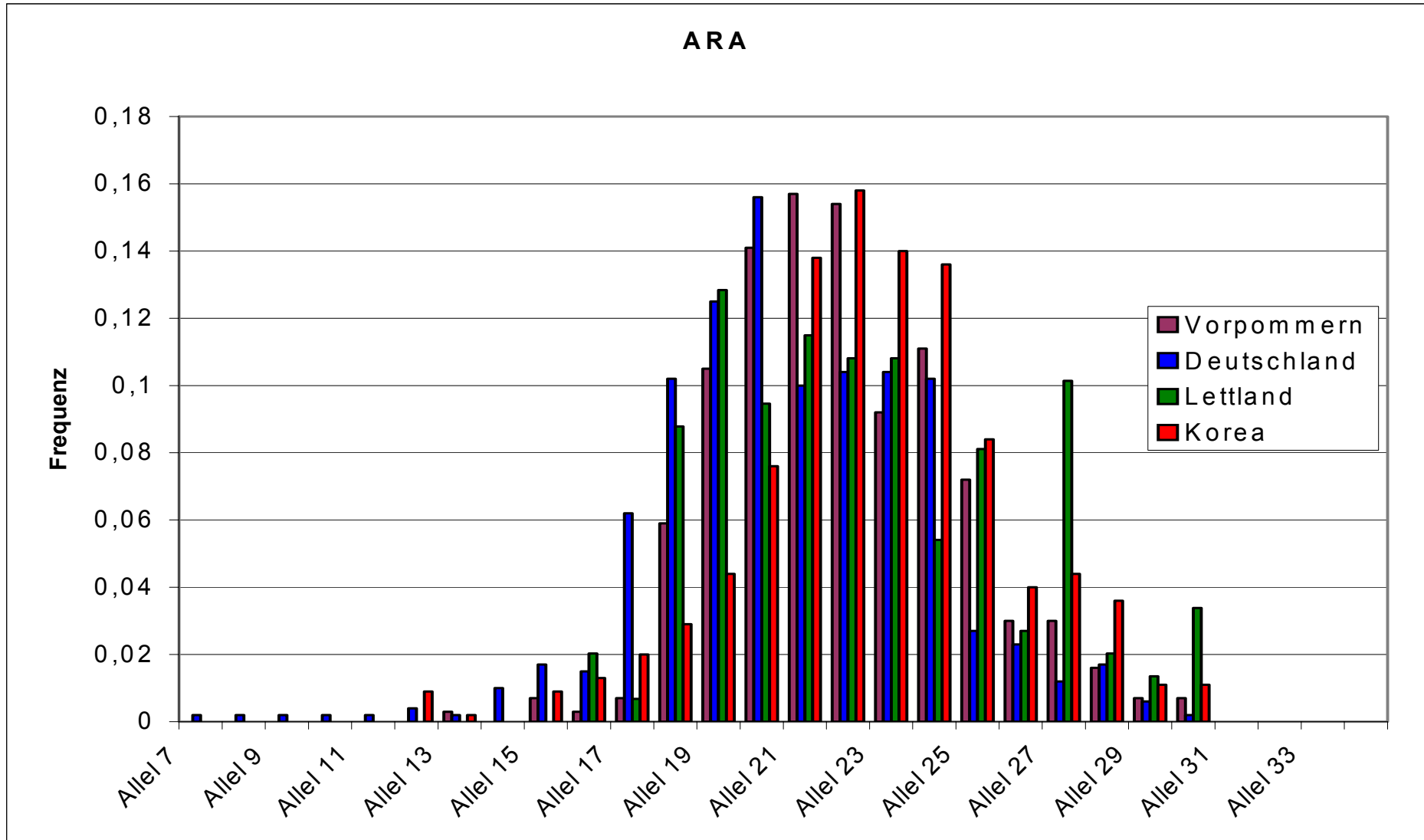


Abbildung 4.3: Allelfrequenzen von ARA in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland und Korea (Shin et al. 2004).

4.2.4 STR DXS9898

Die hier erhobenen Daten aus Vorpommern und Lettland wurden verglichen mit einer Population aus Deutschland, Edelmann et al. (2001), und Korea, Son et al. (2002).

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea
Geschlecht				
Männer	105	256	78	
Frauen	100	310	45	
Summe	205	566	123	357
Allele				
6.3				0.03
8.0				0.01
8.3	0.213	0.259	0.2838	
9	0.003			0.065
10	0.007	0.007	0.0135	0.535
11	0.210	0.219	0.2162	0.295
12	0.331	0.293	0.3108	0.07
13	0.197	0.164	0.1284	0.01
14	0.033	0.053	0.0473	
15	0.007	0.005		
PIC	0.644	0.731	0.737	
MEC I	0.536		0.53	
MEC II	0.723		0.717	
MEC III	0.721		0.716	
MEC IV	0.585		0.58	
HET	0.763	0.745	0.762	
PD _f	0.903	0.908	0.9	
PD _m	0.761	0.769	0.757	

Tabelle 4-4: Allelfrequenzen für DXS9898 in Vorpommern, Lettland, Korea (Son et al. 2002) und Deutschland (Edelmann et al. 2001).

Der Vergleich zwischen Vorpommern, der gepoolten Deutschlandpopulation und Lettland zeigte keine signifikanten Unterschiede, aber im Vergleich Vorpommern zu Korea ließen sich in jedem Allel hochsignifikante Unterschiede darstellen. Auch der Vergleich aller übrigen Populationen mit Korea zeigte in nahezu allen Allelen einen signifikanten Unterschied der Frequenz. Lediglich in Allel 6.3 ließ sich ausschließlich eine signifikante Abweichung zwischen Korea und Deutschland belegen, da es sich um ein vergleichsweise selten vorkommendes Allel handelte und die übrigen Populationsdaten auf einer zu geringen Zahl an Personen fußen. So wiesen z.B. über 50 % der Koreanischen Population Allel 10 auf, während dieses in den übrigen

Populationen in maximal 1,35 % auftrat. Die charakteristische Allelverteilung dieses STRs könnte dazu benutzt werden, Hinweise auf die Zugehörigkeit zu einer Volksgruppe zu erhalten. Insbesondere Allele, die in anderen europäischen Populationen nicht gefunden wurden, wie Allel 6.3, 8 und eventuell Allel 9, wären dazu geeignet. Breiter angelegte Populationsdaten müssten dafür jedoch erhoben, bzw. diesbezüglich ausgewertet werden.

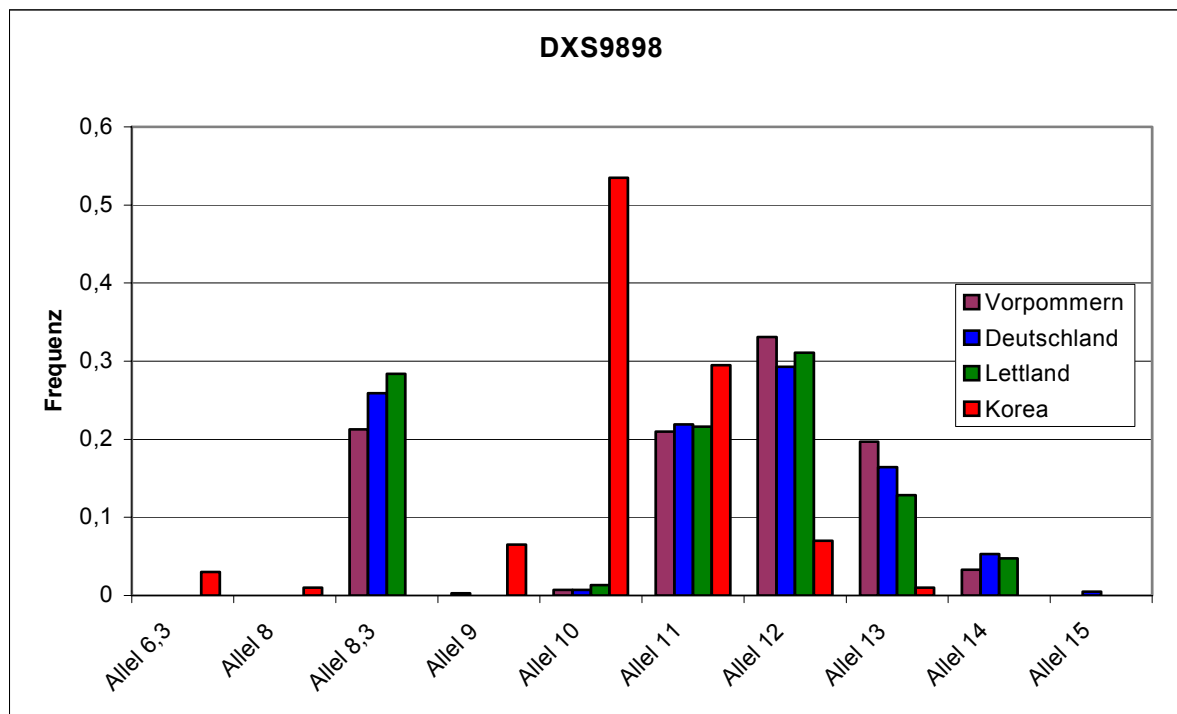


Abbildung 4.4: Allelfrequenzen für DXS9898 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. (2001)), Lettland und Korea (Son et al. (2002)).

4.2.5 STR DXS101

Den hier untersuchten Populationen aus Vorpommern und Lettland wurden Populationen aus Deutschland (gepoolt, Edelmann et al. 2001), Korea (Shin et al. 2005), Kantabrien (Zarrabeitia et al. 2004), dem Baskenland (Zarrabeitia et al. 2004) und Finnland gegenübergestellt (Vauhkonen et al. 2004).

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea	Kantabrien	Baskenland	Finnland
Geschlecht							
Männer	105	216	78	220			
Frauen	100	348	45	181			
Gesamt	205	564	123	401			
Allele							
14	0.003	0.002					
15	0.016	0.044	0.0068		0.058	0.023	0.041
16	0.000	0.005			0.003		0.007
17	0.010	0.002	0.0135		0.006	0.009	
18	0.062	0.084	0.0676		0.074	0.069	0.096
19	0.046	0.047	0.0541	0.002	0.077	0.023	0.027
20	0.036	0.012	0.0203		0.028	0.032	0.027
21	0.010	0.032	0.0541	0.005	0.017	0.028	0.034
22	0.013	0.022	0.0338	0.036	0.025	0.028	0.014
23	0.085	0.066	0.0473	0.146	0.050	0.101	0.041
24	0.200	0.213	0.1824	0.256	0.163	0.183	0.308
25	0.177	0.156	0.2905	0.231	0.215	0.142	0.192
26	0.167	0.144	0.0946	0.171	0.154	0.202	0.089
27	0.069	0.079	0.0541	0.097	0.050	0.087	0.055
28	0.069	0.070	0.0541	0.039	0.041	0.060	0.041
29	0.016	0.027		0.016	0.028	0.023	0.021
30	0.020	0.024	0.0135	0.004	0.014	0.023	0.007
31			0.0068	0.001			
32		0.001	0.0068				
PIC	0.864	0.878	0.846	0.793			
MEC I	0.751		0.719				
MEC III	0.863		0.840				
MEC IV	0.771		0.738				
HET	0.878	0.885	0.859	0.834			0.864
PD _f	0.972	0.978	0.965	0.940	0.974	0.972	0.932
PD _m	0.875	0.889	0.853	0.818	0.879	0.875	0.856

Tabelle 4-5: Allelfrequenzen von DXS101 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland, Korea (Shin et al. 2005), Kantabrien (Zarrabeitia et al. 2004), Baskenland (Zarrabeitia et al. 2004) und Finnland (Vauhkonen et al. 2004).

In dem STR DXS101 unterschied sich die koreanische Population in den Allelen 18 und 19 hochsignifikant von allen hier aufgeführten Vergleichspopulationen, also auch von Vorpommern. In den fünf Allelen 15, 21, 23, 24 und 25 war die Frequenz in Korea z.T. hochsignifikant verschieden von einzelnen oder mehreren Vergleichspopulationen. Vorpommern gehörte jedoch nicht dazu, wohl aber Lettland in Allel 21 und 23. Die Allele 15, 17, 18 und 20 fanden sich in der koreanischen Population nicht und konnten auch von weiteren Autoren (Kwon et al. 2003, Shin et al. 2004) nicht in Korea nachgewiesen werden. Der Nachweis von Allel 15, Allel 17,

Allel 18 oder Allel 20 scheint daher als geeignet, die Zugehörigkeit zu einer koreanischen Population auszuschließen.

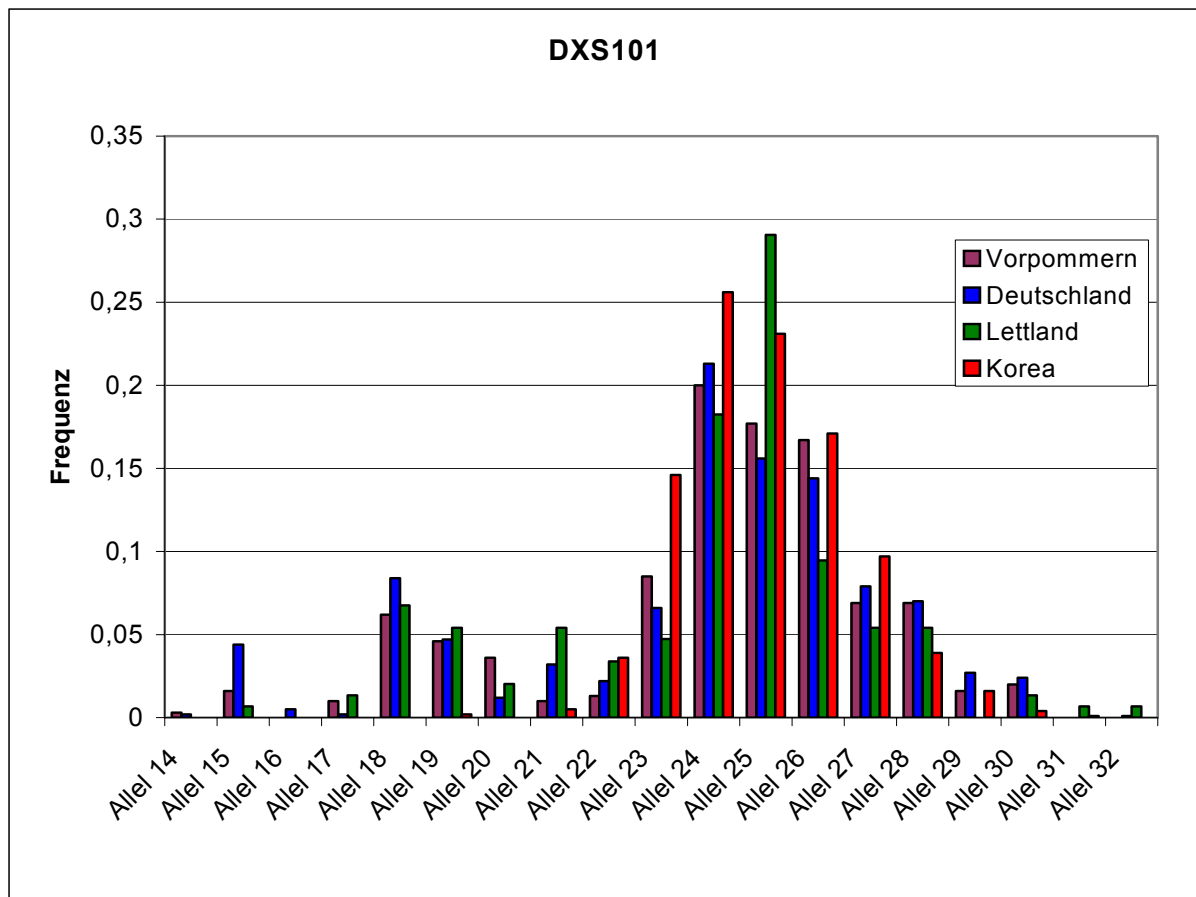


Abbildung 4.5: Allelfrequenzen von DXS101 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland, und Korea (Shin et al. 2005).

4.2.6 STR DXS7424

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Populationsdaten aus Vorpommern und Lettland wurden mit einer gepoolten Deutschlandpopulation, Edelmann et al. (2001), verglichen.

	Vorpommern	Deutschland	Lettland
Geschlecht			
Männer	105		78
Frauen	100		45
Gesamt	205	401	123
Allele			
9		0.001	
10	0.007	0.004	0.0068
11	0.003	0.006	0.0068
12	0.033	0.039	0.0405
13	0.039	0.072	0.1081
14	0.210	0.219	0.3176
15	0.256	0.303	0.1824
16	0.292	0.224	0.2027
17	0.148	0.098	0.0811
18	0.007	0.02	0.027
19	0.003	0.013	0.0203
20	0.003	0.001	0.0068
PIC	0.747		0.791
MEC I	0.572		0.622
MEC III	0.747		0.779
MEC IV	0.616		0.656
HET	0.783		0.809
PD _f	0.918		0.936
PD _m	0.781		0.804

Tabelle 4-6: Allelfrequenzen von DXS7424 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001)) und Lettland.

Für DXS7424 wurde in keinem der Allele in keiner der hier möglichen Populationsvergleiche ein signifikanter Unterschied der Frequenzen gefunden.

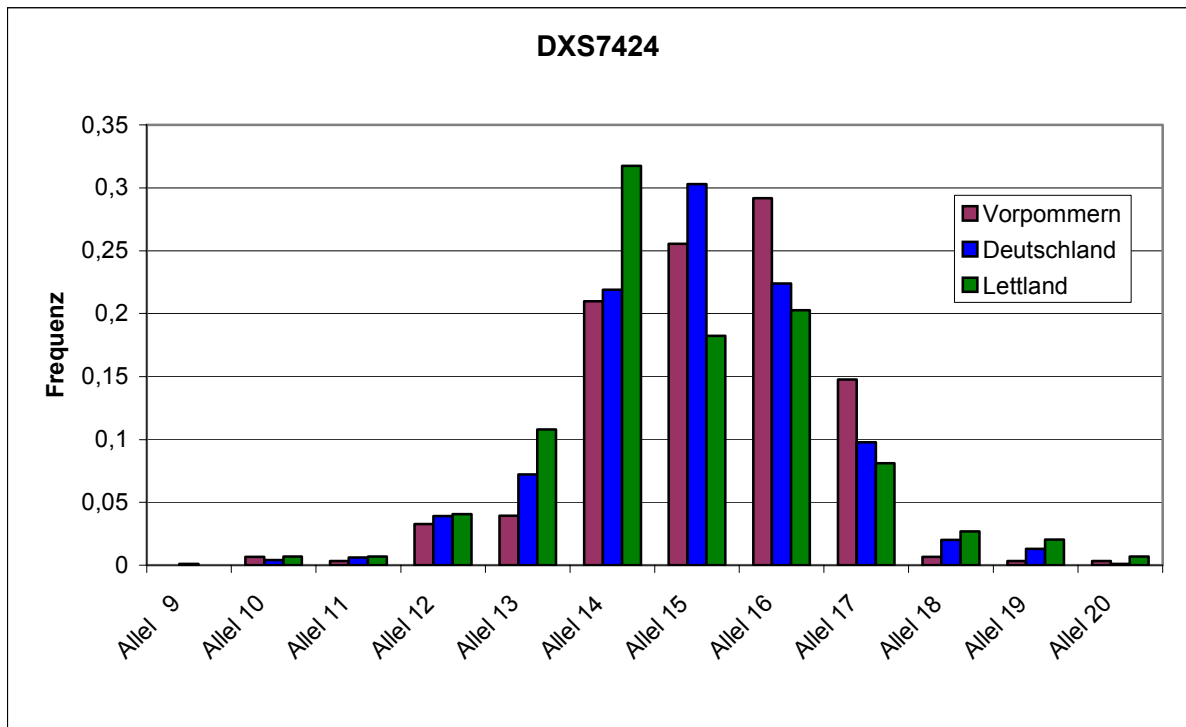


Abbildung 4.6: Allelfrequenzen von DXS7424 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001) und Lettland.

4.2.7 STR DXS7133

Die Daten dieser Arbeit der Populationen aus Vorpommern und Lettland wurden verglichen mit Populationsdaten aus Deutschland, Edelmann et al. (2001), Korea, Son et al. (2002) und Italien, Turrina und De Leo (2003).

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea	Italien
Geschlecht					
Männer	105		78		
Frauen	100		45		
Gesamt	205	285	123	357	175
Allele					
7	0.007	0.003			
8	0.023		0.0068		
9	0.348	0.473	0.2162	0.715	0.4825
10	0.112	0.142	0.3514	0.260	0.1254
11	0.423	0.337	0.3716	0.030	0.3222
12	0.072	0.04	0.0541		0.0471
13	0.016	0.005			0.0171
PIC	0.626		0.659		0.646
MEC I	0.432		0.421		
MEC II	0.628		0.628		
MEC III	0.627		0.626		
MEC IV	0.483		0.482		
HET	0.684		0.693	0.580	0.596
PD _f	0.844		0.843		0.721
PC _m	0.682		0.689		0.622

Tabelle 4-7: Allelfrequenzen für DXS7133 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland, Korea (Son et al. 2002) und Italien (Turrina und De Leo 2003).

DXS7133 zeigte in wenigstens zwei der Allele eine abweichende Verteilung der Frequenzen der koreanischen Population im Vergleich zu den übrigen europäischen Populationen. So wies die koreanische Population in Allel 11 eine deutlich geringere Frequenz auf als Vorpommern, Lettland, Italien und Deutschland. In Allel 9 dagegen zeigte sich in Korea eine deutlich höhere Frequenz. In Allel 10 unterschieden sich jedoch nur Vorpommern und Deutschland signifikant von Korea, nicht aber Lettland, welches sogar eine noch höhere Frequenz aufwies als Korea und sich somit auch signifikant von Deutschland und Vorpommern unterschied.

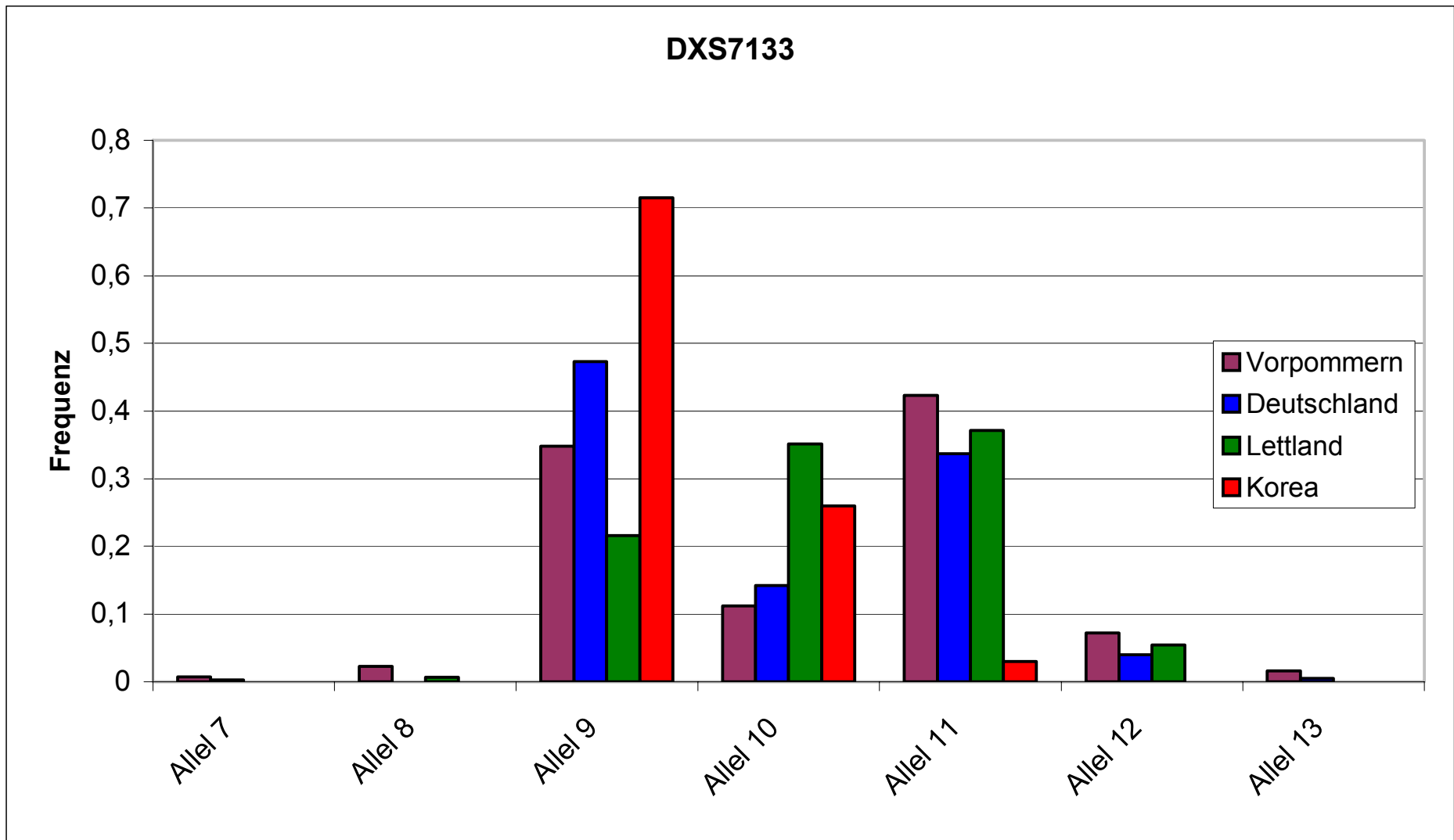


Abbildung 4.7: Allelfrequenzen für DXS7133 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland und Korea (Son et al. 2003).

4.2.8 STR HPRTB

Daten zweier Stichproben aus Vorpommern und Lettland waren Gegenstand dieser Arbeit. Zum Vergleich wurden Daten einer gepoolten Deutschlandpopulation, (Edelmann et al., 2001), einer Population aus Korea (Shin et al., 2005), einer aus Kantabrien (Zarrabeitia et al., 2004), und einer aus dem Baskenland (Zarrabeitia et al., 2004), aufgeführt.

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea	Kantabrien	Baskenland
Geschlecht						
Männer	105		78			
Frauen	100		45			
Gesamt	205	332	123	401	242	146
Allele						
9	0,003	0.01	0.0068		0.008	0.005
10	0,007	0.019	0.0135	0.004		
11	0,118	0.116	0.1486	0.051	0.008	0.014
12	0,341	0.276	0.3649	0.249	0.146	0.145
13	0,328	0.322	0.2973	0.478	0.336	0.318
14	0,111	0.169	0.1351	0.149	0.311	0.350
15	0,089	0.076	0.0135	0.063	0.143	0.140
16	0,003	0.012	0.0068	0.006	0.036	0.028
17			0.0135		0.006	
18					0.002	
19					0.002	
PIC	0.701	0.737	0.716	0.635		
MEC I	0.516		0.507			
MEC II	0.701		0.695			
MEC III	0.701		0.690			
MEC IV	0.562		0.556			
HET	0.744	0.779	0.743	0.696		
PD _f	0.892	0.919	0.889	0.834	0.895	0.885
PD _m	0.742	0.781	0.737	0.686	0.747	0.735

Tabelle 4-8: Allelfrequenzen für HPRTB in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland, Korea (Shin et al. 2005), Kantabrien (Zarrabeitia et al. 2004) und Baskenland (Zarrabeitia et al. 2004).

In HPRTB unterschied sich Vorpommern in Allel 13 hochsignifikant von Korea, so wie alle übrigen Populationen sich in diesem Allel ebenfalls hochsignifikant von Korea unterschieden. Weitere hochsignifikante Unterschiede der Allelfrequenzen fanden sich in den Allelen 11, 12, 14 und 15 beim Vergleich von Lettland oder dem

Baskenland mit anderen Populationen, bzw. miteinander. Für Lettland standen Daten von 123 und für das Baskenland von 146 Probanden zur Verfügung, also deutlich weniger als bei den anderen Populationen. Weitere Populationsdaten werden helfen, diese Unterschiede zu verifizieren.

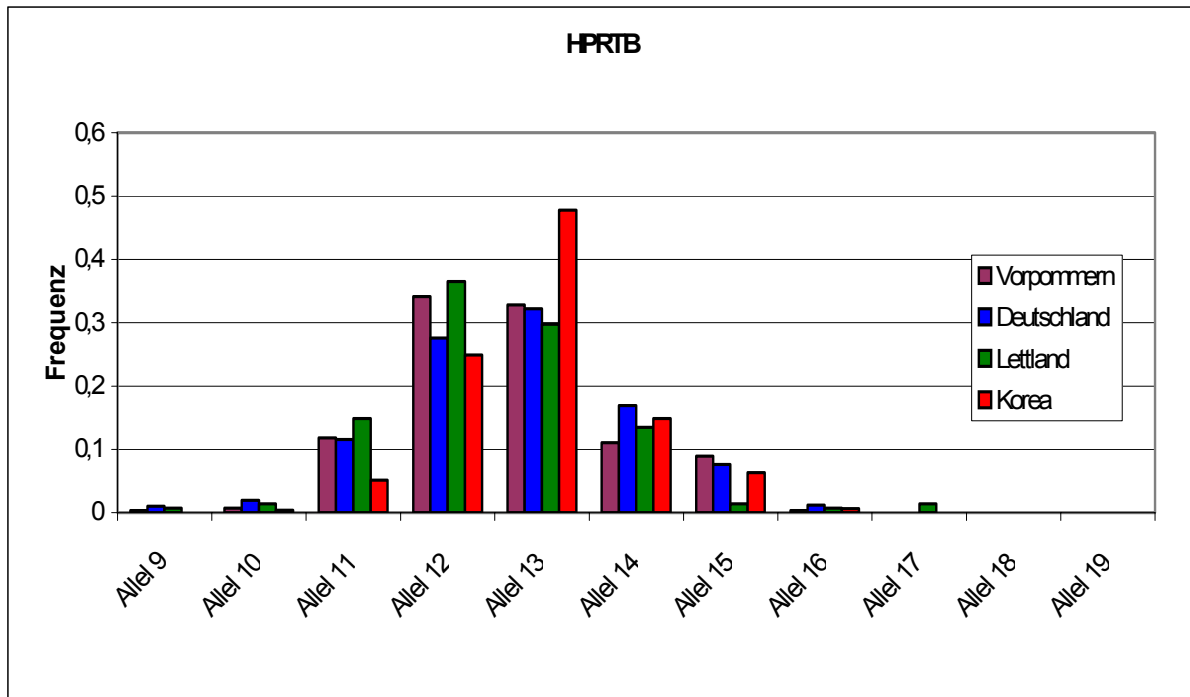


Abbildung 4.8: Allelfrequenzen für HPRTB von Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland und Korea (Shin et al. 2005).

4.2.9 STR DXS8377

Die Populationsdaten aus Vorpommern und Lettland wurden hier betrachtet zusammen mit Populationsdaten aus Deutschland , gepoolt, Edelmann et al. (2001), Korea, Shin et al. (2005), Kantabrien, Zarrabeitia et al. (2004), dem Baskenland, Zarrabeitia et al. (2004), und Finnland, Vauhkonen et al. (2004).

	Vorpommern	Deutschland	Lettland	Korea	Kantabrien	Baskenland	Finnland
Geschlecht							
Männer	105	212	78				
Frauen	100	345	45				
Gesamt	205	557	123	401			
Allele							
37		0.007			0.012	0.008	
38		0.010			0.014	0.004	
39	0.007	0.024		0.002	0.020	0.008	0.007
40	0.000	0.031	0.0068	0.002	0.026	0.033	
41	0.016	0.044	0.0068	0.005	0.063	0.033	0.007
42	0.020	0.043	0.027	0.034	0.049	0.033	0.027
43	0.043	0.050	0.0473	0.040	0.063	0.042	0.027
44	0.075	0.069	0.0203	0.069	0.095	0.071	0.068
45	0.049	0.092	0.0676	0.082	0.069	0.113	0.068
46	0.089	0.110	0.0743	0.105	0.104	0.104	0.054
47	0.095	0.113	0.0676	0.128	0.110	0.104	0.116
48	0.098	0.127	0.1689	0.126	0.081	0.083	0.116
49	0.105	0.082	0.1284	0.108	0.112	0.154	0.109
50	0.108	0.063	0.1149	0.095	0.052	0.092	0.109
51	0.138	0.060	0.1014	0.079	0.058	0.033	0.095
52	0.062	0.040	0.0608	0.059	0.032	0.021	0.068
53	0.043	0.014	0.0608	0.022	0.020	0.038	0.061
54	0.016	0.014	0.0135	0.028	0.017	0.013	0.034
55	0.020	0.005	0.0270	0.012		0.008	0.013
56	0.016	0.001	0.0068	0.001	0.003	0.004	0.007
57		0.001		0.001			
58							0.007
59							
60							0.007
PIC	0.907	0.916	0.901	0.902			
MEC I	0.827		0.809				
MEC III	0.908		0.898				
MEC IV	0.838		0.821				
HET	0.920	0.922	0.911	0.901			0.955
PD _f	0.986	0.989	0.983	0.980	0.989	0.986	0.964
PD _m	0.915	0.924	0.905	0.909	0.925	0.913	0.918

Tabelle 4-9: Allelfrequenzen für DXS8377 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland, Korea (Shin et al. 2005), Kantabrien (Zarrabeitia et al. 2004), Baskenland (Zarrabeitia et al. 2004) und Finnland (Vauhkonen et al. 2004).

Hier fanden sich zwei Allele in denen sich Vorpommern von der Deutschlandpopulation signifikant unterschied. In Allel 51 war Vorpommern signifikant von Deutschland, Baskenland und Kantabrien verschieden, in Allel 53 erwies sich Deutschland als signifikant verschieden von Vorpommern und Lettland. Darüber hinaus konnte eine gering signifikante Abweichung der Frequenz in Allel 48 beim Vergleich von Lettland und Kantabrien nachgewiesen werden.

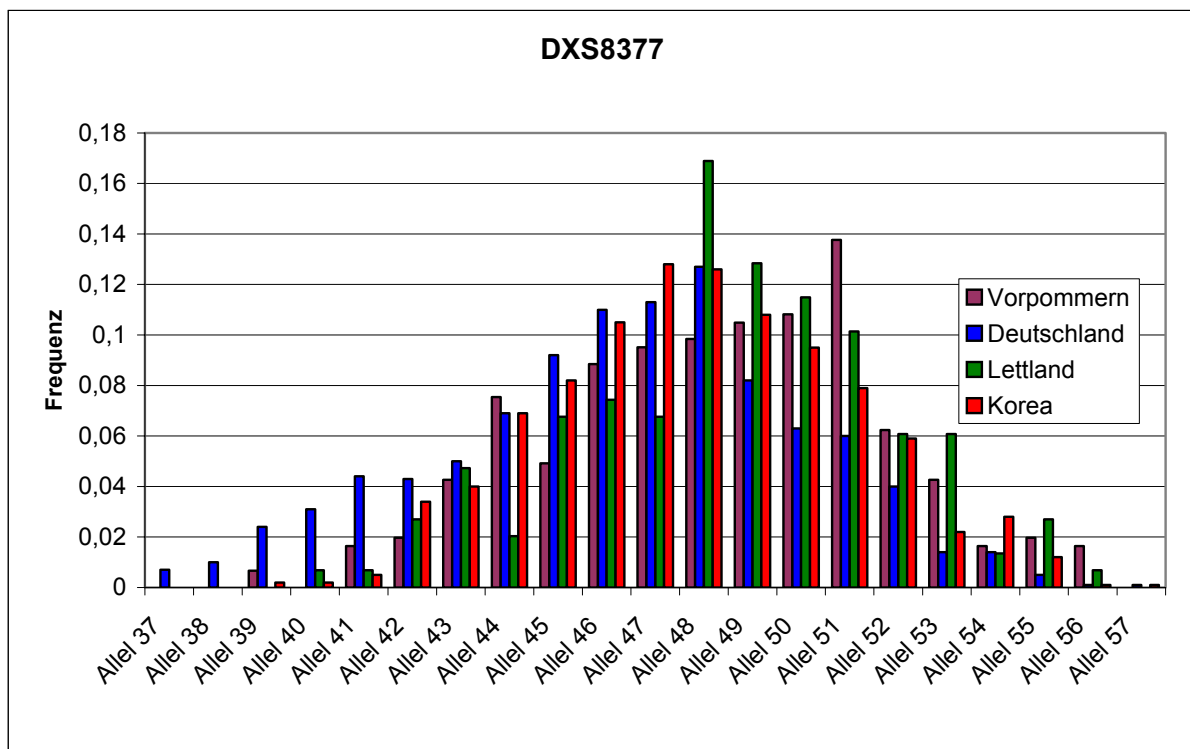


Abbildung 4.9: Allelfrequenzen für DXS8377 in Vorpommern, Deutschland (Edelmann et al. 2001), Lettland, und Korea (Shin et al. 2005).

4.2.10 STR DXS10011

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Populationsdaten aus Vorpommern und Lettland wurden mit Daten einer gepoolten Population aus Deutschland, Hering et al. (2004), verglichen.

	Vorpommern	Deutschland	Lettland
Geschlecht			
Männer	105	745	78
Frauen	100	583	45
Gesamt	205	1328	123
Allele			
26		0.0005	
27		0.0052	
28	0.013	0.0147	
29	0.039	0.0215	
29.2	0.007	0.0042	
30	0.010	0.0115	
30.2	0.030	0.0262	
31	0.010	0.0136	
31.2	0.070	0.0649	
32	0.050	0.0262	
32.2	0.075	0.0842	
33	0.023	0.0215	
33.2	0.059	0.0382	0.0541
34	0.043	0.0429	0.0405
34.2	0.023	0.0204	0.0135
35	0.033	0.0581	0.0676
35.2	0.013	0.0047	0.027
36	0.075	0.0706	0.0743
36.2	0.003	0.0026	
37	0.059	0.0738	0.0473
38	0.089	0.0816	0.0878
38.2	0.010	0.0586	
39	0.053	0.0701	0.0338
40	0.056	0.0502	0.0676
41	0.046	0.0481	0.027
42	0.053	0.0319	0.0338
43	0.023	0.0005	0.0135
44	0.016	0.0220	0.0203
45	0.001	0.0173	0.0203
46	0.007	0.0063	0.0135
47	0.007	0.0052	0.0068
48		0.001	
49		0.001	
50		0.0005	
PIC	0.944	0.945	0.941
MEC I	0.895		0.883
MEC III	0.945		0.939
MEC IV	0.899		0.889
HET	0.950	0.964	0.949
PD _f	0.995	0.995	0.994
PD _m	0.948	0.947	0.942

Tabelle 4-10: Allelfrequenzen von DXS10011 in Vorpommern, Deutschland (Hering et al. 2004) und Lettland.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede der Allelfrequenzen in DXS10011 beim Vergleich der Populationen Vorpommern, Lettland und Deutschland nachgewiesen werden.

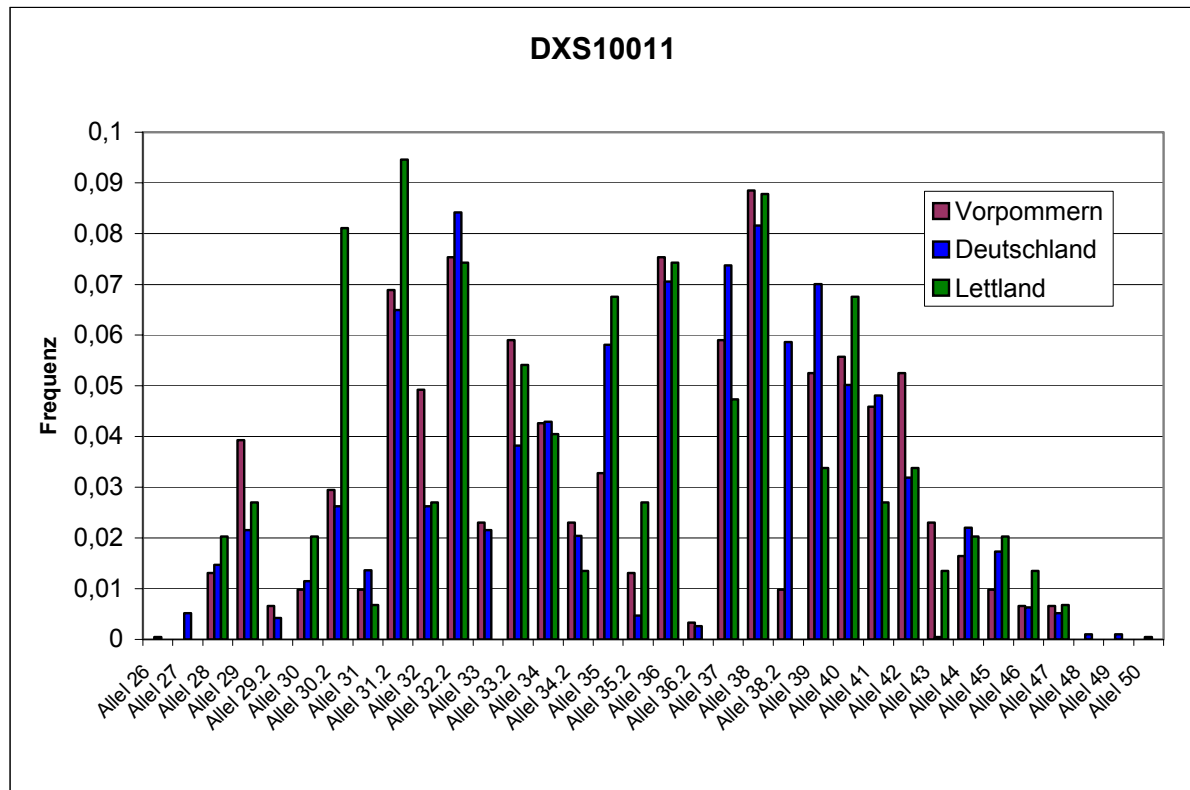


Abbildung 4.10: Allelfrequenzen von DXS10011 in Vorpommern, Deutschland (Hering et al. 2004) und Lettland.

Die statistische Überprüfung ergab für neun der zehn ausgewählten STR-Systeme keine signifikanten Abweichungen zwischen der hier analysierten vorpommerschen Population und einer deutschen Vergleichspopulation (Edelmann et al., 2001; Hering et al., 2004). Lediglich in DXS8377 zeigte sich in Allel 53 ein signifikanter ($0,01 > p > 0,001$) Unterschied zur deutschen Vergleichspopulation und in Allel 51 konnte eine Tendenz ($0,1 > p > 0,05$) zum signifikanten Unterschied gefunden werden. So können die Daten dieser Arbeit für die STR-Systeme DXS9898, DXS6807, DXS101, HPRTB, ARA, DXS10010, DXS7424, DXS8378 und DXS7133 mit den bereits bestehenden Daten aus Deutschland zusammengeführt werden. Für den STR-Marker DXS8377 sollten zunächst weitere Daten gesammelt werden, da es sich um einen allelreichen Marker handelt und die hier vorhandenen Probandenzahlen dafür in einigen Fragestellungen nicht ausreichen. Allelreiche Marker wie DXS8377, DXS10011, DXS101 und ARA benötigen eine höhere Probandenzahl für

Untersuchungen wie die hier durchgeführte. Insbesondere bei geringen Allelfrequenzen ist es u.U. schwierig sichere Aussagen zu treffen. Es ist dann nötig weitere Daten zu erheben.

In sieben der acht STRs, für die eine nicht-europäische (koreanische) Vergleichspopulation zur Verfügung stand, namentlich DXS9898, DXS6907, HPRTB, DXS7133, DXS8378, DXS101, und ARA, wurden signifikante Unterschiede zwischen Vorpommern respektive Lettland und Korea gefunden. Lediglich in DXS8377 konnten keine signifikanten Unterschiede von Vorpommern und Lettland im Vergleich mit einer nicht-europäischen (koreanischen) Vergleichspopulation festgestellt werden.

4.3 Familienuntersuchung zur Bestätigung der Kopplungsgruppen

Kenntnis über die Kopplungsgruppenverhältnisse der untersuchten STRs ist von großer Bedeutung für die STR-Analyse. Liegt eine Kopplung unterschiedlicher STRs vor, muss dies bei der Auswertung der Haplotypen berücksichtigt werden. Diese können dann nicht anhand von Allelfrequenzen berechnet werden, sondern müssen direkt anhand der Populationsdaten abgeschätzt werden.

Klassischer Weise wird der Abstand in genetischen Karten in centi-Morgan (cM) gemessen, d.h. dass in Stammbaumanalysen zwei Genorte soweit auseinander liegen, dass ein Rekombinationsereignis (Cross-over) in 100 Meiosen, also in 1 %, vorkommt. Bei Rekombinationsfrequenzen bis ca. 15 % ist eine Kopplung wahrscheinlich. Größere Abstände sind weniger verlässlich zu messen, da Doppelt- oder Mehrfach-Cross-over auftreten und die Beziehung zwischen Rekombinationsfrequenz und Genabständen verzerren.

Die Entscheidung über Kopplung oder Nicht-Kopplung wird mit Hilfe eines statistischen Verfahrens ermittelt. Dabei wird der Quotient aus der Wahrscheinlichkeit, dass die beobachteten Daten durch Kopplung entstanden sind und der Wahrscheinlichkeit, dass sie auf freier Rekombination beruhen, gebildet. Diesen Wert gibt man gewöhnlich als Logarithmus, ausgedrückt als LOD (logarithmic odds ratio), an. Szibor et al. (2003b), deren Kopplungsgruppenergebnisse sich in dieser Arbeit für alle Marker, auch für DXS10011, bestätigt fanden, gehen ab einem LOD von 2,0 von einer Kopplung aus.

Liegt eine enge Kopplung verschiedener STRs vor, so kann dies, durch die spezifische Verteilung der Haplotypen einer gegebenen Population, sehr hilfreich in

Abstammungsgutachten sein und könnte durch die Analyse weiterer eng gekoppelter STRs noch an Bedeutung gewinnen. Beispiele gekoppelter X-STRs sind DXS7424 und DXS101 (Edelmann et al., 2002) sowie eine erst kürzlich veröffentlichte Kopplung der X-STRs DXS6801, DXS6809 und DXS6789 (Szibor et al.; 2005c).

4.4 Fallbeispiele aus der rechtsmedizinischen Praxis

Das Leistungsspektrum der bisher etablierten autosomalen STRs reicht in der Vielzahl der Fälle aus, um hinreichend sichere Aussagen bezüglich der jeweiligen Fragestellung treffen zu können. Nichts desto trotz bieten X-chromosomale STRs zuweilen Lösungsmöglichkeiten, wo autosomale STRs an ihre Grenzen stoßen. Dies sollen drei Fallbeispiele aus der rechtsmedizinischen Praxis verdeutlichen.

Klassischerweise werden, wenn die Vaterschaft eines Kindes untersucht werden soll, mutmaßlicher Vater, Kind und Kindesmutter untersucht. Dadurch kann im Ausschlussverfahren über die Allele der Mutter ermittelt werden, welche Allele des Kindes vom Vater ererbt sein müssen, da sowohl Vater als auch Mutter jeweils ein Allel an das Kind weitergegeben haben.

4.4.1 Fallbeispiel 1

In einem Triplett aus Kindesmutter (Carola), Kind (Pia) und beklagtem Putativvater (Jochen) ergaben sich in den autosomalen STRs lediglich drei Ausschlüsse (D3S1358, D2S1338 und FGA) in 15 untersuchten STRs (Tabelle 4-11). In einer Ausschlusskonstellation für den Putativvater im Triofall werden jedoch durchschnittlich neun ausschließende STRs gefunden, deutlich mehr als in diesem Fall. Daher lag die Vermutung nahe, dass der untersuchte Putativvater ein naher Verwandter des biologischen Vaters ist.

Im Greifswalder Institut für Rechtsmedizin werden in solchen Fällen routinemäßig gonosomale STRs zur weiteren Klärung eingesetzt. Da es sich in diesem Fall bei dem Kind um ein Mädchen handelte, wurden X-chromosomale STRs analysiert. Die Untersuchung von zehn X-STRs ergab sechs gonosomale Ausschlüsse. Dies ist eine relativ außergewöhnliche Konstellation, da viele übereinstimmende Allele in den autosomalen STRs meist auch mit hoher Ähnlichkeit in den gonosomalen Allelen einhergehen. Der Verdacht, dass ein Verwandter des biologischen Vaters als Putativvater untersucht worden war, konnte mit der Analyse der X-chromosomalen STRs jedoch weder bestätigt noch widerlegt werden.

Nach Rücksprache mit dem Richter und der Kindesmutter wurde eine erneute Begutachtung durchgeführt, jedoch mit einer Gegenüberstellung von Kindesmutter und beklagtem Putativvater bei dessen Probenabgabe. Diese zweite Begutachtung zeigte keine Ausschlüsse zwischen Putativvater und Kind wie in Tabelle 4-11 zu sehen ist. Eine Befragung des Beklagten Jochen ergab, dass sein Vater Heinz die erste Probe abgegeben hatte.

Die autosomalen Marker folgen in ihren Erbgängen den Mendel'schen Regeln, der Putativvater Jochen hat also in jedem autosomalen STR ein Allel von seinem Vater Heinz geerbt. Dagegen stammt das X-Chromosom von Jochen von seiner Mutter (Großmutter väterlicherseits des Kindes), und das seines Vaters Heinz von dessen Mutter (Urgroßmutter väterlicherseits des Kindes). So erklärt sich die große Ähnlichkeit in den autosomalen STRs bei gleichzeitiger starker Unterschiedlichkeit in den X-STRs.

Erst durch die Befundkonstellation in autosomalen und X-STRs konnte auf eine erneute Probenahme gedrängt und anschließend der Verdacht der falschen Probenabgabe bestätigt werden. Der somit eigentlich beklagte Putativvater Jochen ist zweifelsfrei der genetische Vater von Pia. Alle untersuchten autosomalen und gonosomalen Allele stimmten überein, es wurde kein einziger Ausschluss nachgewiesen (Tabelle 4-11).

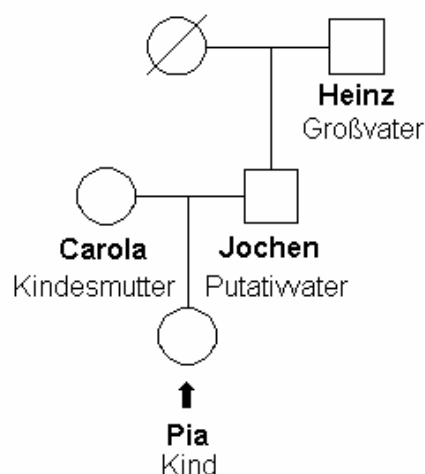


Abbildung 4.11: Fallbeispiel 1, Familienstammbaum. Das Kind Pia mit der Kindesmutter Carola und dem Putativvater Jochen, der seinen Vater Heinz, also den Großvater von Pia, zur Probenabgabe schickte.

	Carola Mutter	Pia Kind	Jochen Putativvater	Heinz Großvater väterl.
D8S1179	13/14	14	12/14	12/14
D21S11	30.2/32.2	30.2/31	31/33.2	30/31
D7S820	10/11	11/12	12	11/12
CSF1PO	10/11	11	10/11	11/13
D3S1358	14/18	14/16	15/16	15/17
TH01	9/9.3	9.3	8/9.3	6/9.3
D13S317	11/12	11/12	11/12	12
D16S539	11/13	12/13	11/12	11/12
D2S1338	19/25	20/25	17/20	17/23
D19S433	14/15	15/16	14/16	15/16
VWA	16/17	14/17	14/16	14/18
TPOX	8/11	8	8/11	8/11
D18S51	13/16	13/18	15/18	16/18
Amelogenin	X	X	XY	XY
D5S818	9/11	11	11/12	11
FGA	20/24	23/24	22/23	22/26
DXS9898	11/12	8.3/12	8.3	13
DXS6807	11	11/14	14	11
HPRTB	12/15	13/15	13	13
DXS101	18/25	22/25	22	19
ARA	19/23	19/24	24	25
DXS7133	11	9/11	9	9
DXS10011	31.2/36	31.2/33.2	33.2	28
DXS7424	13/15	14/15	14	14
DXS8377	44/51	44/48	48	50
DXS8378	10/11	10/11	11	11

Tabelle 4-11: Genotypen der beteiligten in Fallbeispiel 1 sowohl für autosomale als auch für X-chromosomale Marker. Die rot hinterlegten Kästchen zeigen die Ausschlüsse, blau gedruckte Zahlen kennzeichnen die gemeinsamen Allele des Putativvaters Jochen respektive des Vaters des Putativvaters, Heinz, mit dem Kind Pia, deren Abstammung es hier zu klären galt. Die Mutter Carola wurde standardmäßig mit untersucht, um die von ihr stammenden Allele benennen zu können.

4.4.2 Fallbeispiel 2

Hier handelte es sich um ein so genanntes Defizienzgutachten, da der Putativvater des Kindes Lena verstorben war. Ebenfalls verstorben waren die Eltern des Putativvaters. Es lebte – neben der Kindesmutter Iris - lediglich noch der Bruder der Mutter des Putativvaters, also der Großonkel, Erich.

In einem solchen Fall sollten neben möglichst vielen autosomalen STRs immer auch gonosomale STRs untersucht werden, um überhaupt ein aussagekräftiges Ergebnis erzielen zu können. Hätte es sich bei dem Kind um einen Jungen gehandelt, wäre im vorliegenden Fall allerdings keine Aussage von den Gonosomen zu erwarten gewesen. Alle Träger des Y-Chromosoms, das der Putativvater an seinen Sohn weitergegeben hätte, waren verstorben. Da es sich bei dem Kind um ein Mädchen handelte, war die Ausgangslage etwas besser.

Der biologische Vater hat das X-Chromosom, das er von seiner Mutter geerbt hat, unverändert an seine Tochter weitergegeben. Eine Untersuchung der väterlichen Großmutter hätte also den Fall mit hoher Sicherheit klären können. Da nur der Bruder der väterlichen Großmutter für die Analyse zur Verfügung stand, waren mehrere Ergebnisvarianten denkbar. Wenn dieser Bruder ein anderes X-Chromosom als seine Schwester von der Mutter geerbt hätte oder wenn die väterliche Großmutter das X-Chromosom, das sie von ihrem Vater bekommen hat, an ihren Sohn vererbt hätte, wäre keinerlei Aussage möglich gewesen.

Nur in dem Fall, in dem die väterliche Großmutter und ihr Bruder dasselbe X-Chromosom von der Mutter geerbt haben und dieses an den biologischen Vater des fraglichen Kindes weitervererbt wurde, bestand überhaupt eine Aussagemöglichkeit. Genau diese Konstellation war hier jedoch eingetreten, wie die nachfolgend aufgeführten Analysen zeigen.

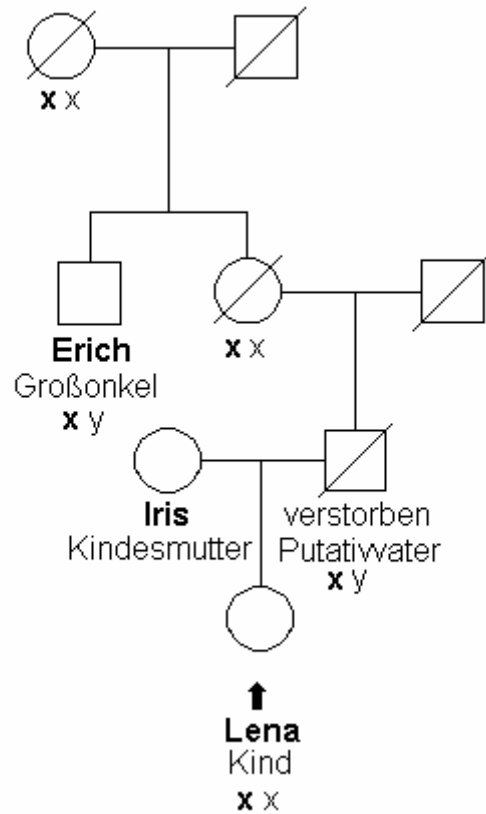


Abbildung 4.12: Fallbeispiel 2, Familienstammbaum. Das Kind Lena mit der Kindesmutter Iris stammt von dem verstorbenen Putativvater ab, von dem nur noch ein Großonkel, Erich, lebt. Diese Aussage ließ sich mit Hilfe der X-chromosomalen STRs treffen, da glücklicher Weise der Großonkel das X-Chromosom (fett gedruckt) von seiner Mutter geerbt hatte, welches seine Schwester, also die Mutter des verstorbenen Putativvaters an diesen vererbt hatte. Wäre dies nicht der Fall gewesen, wäre keine Aussage möglich gewesen.

	Iris Mutter	Lena Kind	Erich Großonkel
D8S1179	10/12	12/13	13/15
D21S11	29/32.2	30/32.2	28/29
D7S820	9/11	11/12	12
CSF1PO	10/11	10/11	9/10
D3S1358	15/17	17/18	15/16
TH01	6/9	6/9.3	7/9.3
D13S317	9/11	11/12	11/12
D16S539	11/12	11/12	11
D2S1338	17/23	17/25	19/20
D19S433	14/14.2	13/14.2	13/16.2
VWA	16/18	14/16	15/19
TPOX	8	8/11	8
D18S51	14/16	16/19	12/15
Amelogenin	X	X	XY
D5S818	11/12	11/12	11/12
FGA	22/23	21/23	21/26
DXS9898	11/12	8.3/11	8.3
DXS6807	11	11	11
HPRTB	12/13	12/13	12
DXS101	24/27	24/26	26
ARA	18/21	18/19	19
DXS7133	9/11	9/11	11
DXS10011	36/43	36/40	40
DXS7424	14	14/15	15
DXS8377	48/49	48/50	50
DXS8378	10	10/11	11

Tabelle 4-12: Genotypen der beteiligten in Fallbeispiel 2 sowohl für autosomale als auch für X-chromosomale Marker. Die rot hinterlegten Kästchen zeigen die Ausschlüsse, blau gedruckte Zahlen kennzeichnen die gemeinsamen Allele des Großonkels mit Lena, deren Abstammung es zu klären galt.

Die autosomalen STRs von Lena und ihrem Großonkel Erich zeigten eine hohe Ähnlichkeit mit insgesamt sechs Ausschlüssen in D21S11, CSF1PO, D2S1338, VWA, TPOX und D18S51. In CSF1PO, D16S539 und D5S818 wiesen die Mutter Iris und Tochter Lena den gleichen Genotyp auf, so dass eine Zuordnung eines der

Allele zum Vater nicht möglich war. Sie sind also nicht sicher als Einschlüsse zu werten. Vor dem Hintergrund der ebenfalls vorliegenden Ausschlüsse ließ sich nur anhand der autosomalen STRs keine Aussage treffen. In den untersuchten neun X-STRs wurden keine Ausschlüsse gefunden (Tabelle 4-12). Für DXS6807, HPRTB und DXS7133 waren zwar die Genotypen von Mutter und Tochter identisch, aber der Großonkel hatte immer eines der beiden Allele des Kindes. Anders als bei den autosomalen STRs gab es hier also keine Ausschlüsse, so dass der verstorbene Putativvater als biologischer Vater bestätigt werden konnte.

4.4.3 Fallbeispiel 3

In diesem Beispiel handelte es sich um ein Halbgeschwister-Gutachten, bei dem fast alle Personen aus der Elterngeneration tot waren. Zwei Frauen (Liese und Lotte) wollten klären lassen, ob sie die Halbgeschwister von zwei anerkannten Erben (Anna und Justus) wären. Außerdem lebte noch eine Schwester der Mutter von Liese und Lotte, Tante Mathilda.

Wenn die drei Frauen Anna, Liese und Lotte tatsächlich Halbgeschwister mit demselben Vater wären, müssten sie alle ein identisches X-Chromosom besitzen. Das väterliche X-chromosomale Allele eines Mädchens, bei dem die mütterlichen X-chromosomalen Allele nicht bekannt sind, lässt sich definitiv nur in solchen STRs bestimmen, die für ein bestimmtes Allel reinerbig sind. Im gewählten Fallbeispiel war das bei Anna nur im STR DXS9898 der Fall. Bei den beiden Schwestern Liese und Lotte war die Identifikation der väterlichen X-chromosomalen Allele einfacher, da noch eine Schwester der Mutter für die Analyse zur Verfügung stand. Bei Lotte konnte eine Übereinstimmung in allen zehn X-STRs mit Tante Mathilda (grün gedruckt in Tabelle 4-13) nachgewiesen werden: DXS9898 (Allel 8.3), DXS6807 (Allel 11), HPRTB (Allel 14), DXS101 (Allel 24), ARA (Allel 25), DXS7133 (Allel 11), DXS10011 (Allel 43), DXS7424 (Allel 17), DXS8377 (Allel 47) und DXS8378 (Allel 10). Das bedeutet, dass sowohl Tante Mathilda als auch ihre Schwester, die Mutter von Liese und Lotte, das gleiche X-Chromosom von wiederum ihrer Mutter oder ihrem Vater vererbt bekommen haben. Lotte hat dieses dann von ihrer Mutter bekommen, während Liese das X-Chromosom des anderen Großelternteils durch die Mutter vererbt bekam.

Ein Vergleich der X-chromosomalen Allele von Anna auf der einen Seite und Liese und Lotte auf der anderen Seite ergab zahlreiche Ausschlüsse (in der Tabelle orange hinterlegt). Eine Übereinstimmung mit den möglichen väterlichen X-chromosomalen Allele von Anna ließ sich für Liese und Lotte nur in den STRs HPRTB, DXS7133 und DXS8378 zeigen. Ebenfalls kein Ausschluss fand sich für Liese in DXS7424 und DXS8377, sowie für Lotte in DXS6807. Anhand der zahlreichen Ausschlüsse der X-STRs vor dem Hintergrund der oben aufgeführten Überlegungen war es möglich, Hans als Vater von Liese und Lotte auszuschließen.

Aus den Ergebnissen der autosomalen STRs ließ sich mit Hilfe des W-VAT Programmes (Version 1.22 m+; Baur, Fimmers, Spitz; Bonn) eine Wahrscheinlichkeit von 0,683 % berechnen, dass die vier hier untersuchten Kinder Halbgeschwister sind. In diesem Fall konnte also das Ergebnis der autosomalen STRs „keine Halbgeschwister“ durch eine Analyse der X-chromosomalen STRs bestätigt werden. Halbgeschwistergutachten nur durch die Analyse von autosomalen STRs zu erstellen sollte dennoch unbedingt vermieden werden, denn auch bei nachgewiesenermaßen gänzlich unverwandten Personen lassen sich mittels autosomaler STRs bisweilen sehr hohe Halbgeschwisterwahrscheinlichkeiten berechnen (Malyusz et al.; 2005).

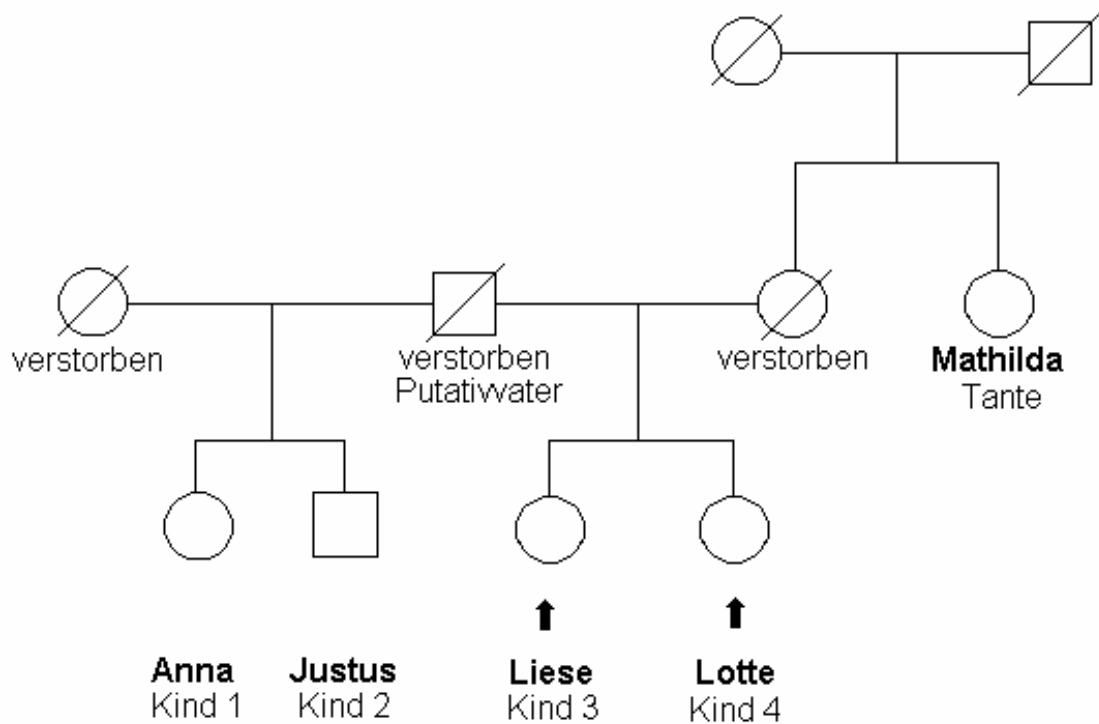


Abbildung 4.13: Fallbeispiel 3, Familienstammbaum. Anna (Kind 1) und Justus (Kind 2) sind anerkannte Erben ihrer bereits verstorbenen Eltern. Liese (Kind 3) und Lotte (Kind 4) wollen beweisen, dass sie denselben Vater haben wie Anna und Justus. Es lebt, außer den vier Kindern, lediglich noch Tante Mathilda, die Schwester von Liese und Lottes Mutter.

	Anna Kind 1	Justus Kind 2	Liese Kind 3	Lotte Kind 4	Mathilda Tante
D8S1179	12/15	12/13	13/14	13	12/14
D21S11	28/30	28/30	31.2/32.2	30/32.2	32.2/34
D7S820	10/11	11	11	11/12	11/12
CSF1PO	9/11	10/11	10/11	10	10/12
D3S1358	14/16	14/17	14/15	15/18	14/17
TH01	6/7	6/9	9/9.3	6/9.3	9.3
D13S317	11	11/12	11/12	9/11	11/12
D16S539	12	12	10/12	11/12	10/12
D2S1338	17/20	20/24	20/23	20/23	23/25
D19S433	13/14	13/15.2	14/15	15/15.2	14/15
VWA	14/15	17/19	15/17	14/16	14/18
TPOX	9/11	8/9	11	8/11	8/11
D18S51	17/20	15/17	13/17	12/13	12/15
Amelogenin	X	XY	X	X	X
D5S818	11/12	11/12	11/12	12	11/13
FGA	20/22.2	22.2/23	20/24	23/24	24/25
DXS9898	12	12	8.3/13	8.3	8.3/13
DXS6807	11/13	11	12/14	11/14	11
HPRTB	13/15	15	13/14	13/14	11/14
DXS101	20/21	20	23/25	23/24	19/24
ARA	18/23	18	19/21	19/25	20/25
DXS7133	9/11	11	10/11	11	11
DXS10011	29/30.2	30.2	31.2/36	36/43	38/43
DXS7424	14/16	16	14/15	15/17	14/17
DXS8377	44/48	48	44/49	47/49	44/47
DXS8378	10/11	10	10	10	10/12

Tabelle 4-13: Genotypen der Kinder Anna und Justus sowie Liese und Lotte als auch der Schwester von Liese und Lottes Mutter, Tante Mathilda von autosomalen und X-chromosomalen Markern in Fallbeispiel 3. **Grün** gedruckt sind die X-STR Allele, die Lotte von ihrer Mutter bekam und mit ihrer Tante Mathilda gemeinsam hat, da diese das gleiche X-Chromosom von wiederum ihrer Mutter vererbt bekam wie auch Lottes Mutter. Orange hinterlegt sind die Ausschlüsse in den X-STRs.

Diese drei Fallbeispiele veranschaulichen, wie wichtig in einigen komplexen Abstammungsbegutachtungen X-STRs sein können. Ein Ausbau der vorhandenen Datengrundlage und eine Erweiterung des Markerspektrums werden helfen, verlässliche Ergebnisse zu erzielen, wo autosomale STRs an ihre naturgemäßen Grenzen stoßen.

5 Zusammenfassung

Die zehn polymorphen STR-Systeme DXS6807, DXS8378, ARA, DXS9898, DXS101, DXS7424, DXS7133, HPRTB, DXS8377, und DXS10011 wurden in dieser Arbeit zu zwei Pentaplexansätzen zusammengefasst und als Routinemethode etabliert. Zur Schaffung einer Datengrundlage wurden anschließend die Blutproben von 100 weiblichen und 105 männlichen, in Vorpommern geborenen und lebenden, Probanden untersucht. Zusätzlich wurden 78 männliche und 45 weibliche Proben aus einer lettischen Population untersucht. Die Populationsdaten in Vorpommern unterschieden sich in den Markern DXS6807, DXS8378, ARA, DXS9898, DXS101, DXS7424, DXS7133, HPRTB und DXS10011 nicht signifikant von einer gepoolten deutschen Vergleichspopulation. Ausschließlich in DXS8377, einem allelreichem Marker, zeigte sich in Allel 53 ein signifikanter Unterschied zur deutschen Vergleichspopulation.

Die erhobenen Populationsdaten wurden in die Webseite <http://www.chrx-str.org/> (Szibor et al., 2005a) integriert und dienen als statistische Datengrundlage in der Rechtsmedizin sowie in Abstammungsbegutachtungen. In der rechtsmedizinischen Praxis werden X-chromosomale STRs im Wesentlichen bei komplexen Abstammungsgutachten mit weiblichen Kindern, z.B. mit verstorbenem Putativvater eingesetzt. Aber auch bei fraglichen Triofällen mit Mädchen, bei denen nicht die gewünschte Vaterschaftswahrscheinlichkeit erreicht wird oder bei denen nur sehr wenige Ausschlüsse zwischen Putativvater und Kind vorliegen, können X-STRs wertvolle Hinweise geben. Letztendlich können sie auch zur Klärung der Abstammung von Söhnen in der weiblichen Linie beitragen.

Um die Qualität der X-STRs weiter zu verbessern, sollten allelreiche Marker wie DXS8377, DXS10011, oder DXS101 an noch umfangreicheren Probandengruppen untersucht werden. Hier muss, auch im Hinblick auf die für X-chromosomale Marker hemizygoten Männer eine Erweiterung des Markerspektrums angestrebt werden. Der in dieser Arbeit noch eingesetzte Marker ARA sollte bei folgenden Studien jedoch durch einen anderen Marker ersetzt werden, da er in einem kodierenden Bereich liegt und Mutationen im Marker für die X-chromosomale spinale und bulbäre Muskelatrophie verantwortlich gemacht werden. Einen wesentlichen weiteren

Fortschritt in der Typisierung mit X-chromosomalen STRs wird sicherlich die Haplotypisierungsstrategie mit der Untersuchung eng gekoppelter Marker bringen. Durch Vergleiche mit Daten aus anderen europäischen und nicht europäischen Populationen ließen sich Charakteristika einzelner Populationen zur Nutzung in Populationsgenetik und Abstammungsbegutachtung herausarbeiten.

6 Literatur

- Allen RC, Belmont JW. Trinucleotide repeat polymorphism at DXS101. *Hum Mol Genet.* 2 (1993) 1508.
- Allen RC, Graves G, Budowle B. Polymerase chain reaction amplification products separated on rehydratable polyacrylamide gels and stained with silver. *Biotechniques.* 7 (1989) 736-744.
- Ansorge W. Fast and sensitive detection of protein and DNA bands by treatment with potassium permanganate. *J Biochem. Biophys. Meth.* 11 (1985) 13-20.
- Bär W, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Lincoln P, Mayr W, Olaisen B. DNA recommendations: further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Int. J. Legal Med.* 110 (1997) 175-176.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 32 (1980) 314-331.
- Brinkmann B. Overview of PCR-based systems in identity testing. *Methods Mol Biol.* 98 (1998) 105-119.
- Budowle B, Chakraborty R, Giusti AM, Eisenberg AJ, Allen RC. Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *Am J Hum Genet.* 48 (1991) 137-144.
- Caggana M, Ashley GA, Desnick RJ, Eng CM. Fabry disease: molecular carrier detection and prenatal diagnosis by analysis of closely linked polymorphisms at Xq22.1. *Am J Med Genet.* 71 (1997) 329-335.
- Chakraborty R, Kidd KK. The utility of DNA typing in forensic work. *Science.* 254 (1991) 1735-1739.
- Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res.* 16 (1988) 11141-11156.
- Chou Q, Russell M, Birch DE, Raymond J, Bloch W. Prevention of pre-PCR mispriming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications. *Nucleic Acids Res.* 20 (1992) 1717-1723.
- Cohen JW: *Statistical Power Analysis for the Behavioural Science.* Academic Press (1969) London.

- Cooper TG: Biochemische Arbeitsmethoden. Walter de Gruyter (1981) Berlin.
- Craig J, Fowler S, Skinner JD, Burgoyne LA, McInnes JL. Improved separation of multi-locus hypervariable DNA restriction fragments by field inversion gel electrophoresis and fragment detection using a biotinylated probe. *Appl Theor Electrophor.* 1 (1988) 23-28.
- Desmarais D, Zhong Y, Chakraborty R, Perreault C, Busque L. Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA). *J Forensic Sci* 43 (1998) 1046–1049.
- Edelmann J, Szibor R. Validation of the HumDXS6807 short tandem repeat polymorphism for forensic application. *Electrophoresis.* 20 (1999) 2844-2846.
- Edelmann J, Szibor R. DXS101: a highly polymorphic X-linked STR. *Int J Legal Med.* 114 (2001) 301-304.
- Edelmann J, Szibor R. Validation of the X-linked STR DXS6801. *Forensic Sci Int.* 148 (2005) 219-220.
- Edelmann J, Hering S, Michael M, Lessig R, Deichsel D, Meier-Sundhausen G, Roewer L, Plate I, Szibor R. 16 X-chromosome STR foci frequency data from a German population. *Forensic Sci Int* 124 (2001) 215-218.
- Edelmann J, Deichsel D, Hering S, Plate I, Szibor R. Sequence variation and allele nomenclature for the X-linked STRs DXS9895, DXS8378, DXS7132, DXS6800, DXS7133, GATA172D05, DXS7423 and DXS8377. *Forensic Sci Int.* 129 (2002) 99-103.
- Edelmann J, Hering S, Kuhlisch E, Szibor R. Validation of the STR DXS7424 and the linkage situation on the X-chromosome. *Forensic Sci Int.* 125 (2002) 217-222.
- Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet.* 49 (1991) 746-756.
- Edwards A, Hammond HA, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics.* 12 (1992) 241-253.
- Gottlieb B, Beitel LK, Wu JH, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database (ARDB): 2004 update. *Hum Mutat.* 24 (2004) 102.
- Guo SW, Thompson EA. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics.* 48 (1992) 361-372.
- Haldane J. An exact test for randomness of mating. *Genetics.* 52 (1954) 631.

- Hallenberg C, Morling N. A report of the 1997, 1998 and 1999 Paternity Testing Workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic Sci Int.* 116 (2001) 23-33.
- Hearne CM, Todd JA. Tetranucleotide repeat polymorphism at the HPRT locus. *Nucleic Acids Res.* 19 (1991) 5450.
- Hering S, Szibor R. Development of the X-linked tetrameric microsatellite marker DXS9898 for forensic purposes. *J Forensic Sci.* 45 (2000) 929-931.
- Hering S, Brundirs N, Kuhlisch E, Edelmann J, Plate I, Benecke M, Van PH, Michael M, Szibor R. DXS10011: studies on structure, allele distribution in three populations and genetic linkage to further q-telomeric chromosome X markers. *Int J Legal Med.* 118 (2004) 313-319.
- Hu LJ, Laporte J, Kioschis P, Heyberger S, Kretz C, Poustka A, Mandel JL, Dahi N. X-linked myotubular myopathy: refinement of the gene to a 280-kb region with new and highly informative microsatellite markers. *Hum Genet.* 98 (1996) 178-181.
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature.* 314 (1985) 67-73.
- Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrmann S, Herzog B, Hidding M, Honda K, Jobling M, Krawczak M, Leim K, Meuser S, Meyer E, Oesterreich W, Pandya A, Parson W, Penacino G, Perez-Lezaun A, Piccinini A, Prinz M, Schmitt C, Roewer L, et al. Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med.* 110 (1997) 125-133, 141-149.
- Kishida T, Tamaki Y. Japanese population data on X-chromosomal STR locus AR. *Nippon Hoigaku Zasshi.* 51 (1997) 376-9.
- Kishida T, Wang W, Fukuda M, Tamaki Y. Duplex PCR of the Y-27H39 and HPRT loci with reference to Japanese population data on the HPRT locus. *Nippon Hoigaku Zasshi.* 51 (1997) 67-69
- Krüger J, Fuhrmann W, Lichte KH, Steffens C. Zur Verwendung der sauren Erythrocytenphosphatase bei der Vaterschaftsbegutachtung. *Dtsch Z Gerichtl Med.* 64 (1968) 127-146
- Kwon BK, Shin KJ, Lee SS, Han GR, Choi JH, Kim CY. Polymorphism and forensic efficiency of 5X-STR loci in Korean. *Korean J Legal Med.* 27 (2003) 51-64

- La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*. 352 (1991) 77-79.
- Lee HY, Park MJ, Jeong CK, Lee SY, Yoo JE, Chung U, Choi JH, Kim CY, Shin KJ. Genetic characteristics and population study of 4 X-chromosomal STRs in Koreans: evidence for a null allele at DXS9898. *Int J Legal Med*. 118 (2004) 355-360.
- Litt M, Luty JA. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet*. 44 (1989) 397-401.
- Malyusz V, Poetsch M, Schwark T, Simeoni E, Legnitz E, Oehmichen M, von Wurmb-Schwark N. Statistischer Nachweis von Halb- bzw. Vollgeschisterschaft in der forensichen Abstammungsanalyse. 13. Frühjahrstagung der Region Nord der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Bremen (2005) 47.
- Merril CR, Dunau ML, Goldman D. A rapid sensitive silver stain for polypeptides in polyacrylamide gels. *Anal Biochem*. 110 (1981) 201-207.
- Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*. 155 (1987) 335-350.
- 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*. 235 (1987) 1616-1622.
- Nei M, Roychoudhury AK. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*. 76 (1974) 379-390.
- Nei M. The theory of genetic distance and evolution of human races. *Jinrui Idengaku Zasshi*. 23 (1978) 341-369.
- Rousset F, Raymond M. Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics*. 140 (1995) 1413-1419.
- Sambrook J, Fritsche F, Maniatis T. *Molecular Cloning – A Laboratory Manual*. 2.ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring New York (1989)
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 239 (1988) 487-491.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 74 (1977) 5463-5467.

- Shin HS, Yu JS, Park SW, Min GS, Chung KW. Genetic analysis of 18 X-linked short tandem repeat markers in Korean population. *Forensic Sci Int* .147 (2005) 35-41.
- Shin KJ, Kwon BK, Lee SS, Yoo JE, Park MJ, Chung U, Lee HY, Han GR, Choi JH, Kim CY. Five highly informative X-chromosomal STRs in Korea. *Int J Legal Med*. 118 (2004) 37-40.
- Sleddens HF, Oostra BA, Brinkmann AO, Trapman J. Trinucleotide repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR). *Nucleic Acids Res*. 20 (1992) 1427.
- Son SY, Lee SL, Choung CM, Lee SD. Polymorphism of nine X chromosomal STR loci in Koreans. *Int J Legal Med*. 116 (2002) 317-321.
- Szibor R, Edelmann J, Hering S, Plate I, Wittig H, Roewer L, Wiegand P, Cali F, Romano V, Michael M. Cell line DNA typing in forensic genetics--the necessity of reliable standards. *Forensic Sci Int*. 138 (2003a) 37-43.
- Szibor R, Krawczak M, Hering S, Edelmann J, Kuhlisch E, Krause D. Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med*. 117 (2003b) 67-74.
- Szibor R, Hering S, Edelmann J. A new Web site compiling forensic chromosome X research is now online. *Int J Legal Med*. (2005a) [Epub ahead of print]
- Szibor R, Hering S, Edelmann J. The HumARA genotype is linked to spinal and bulbar muscular dystrophy and some further disease risks and should no longer be used as a marker for forensic purposes. *Int J Legal Med*. 119 (2005b) 179-180.
- Szibor R, Hering S, Kuhlisch E, Plate I, Demberger S, Krawczak M, Edelmann J. Haplotyping of STR cluster DXS6801-DXS6809-DXS6789 on Xq21 provides a powerful tool for kinship testing. *Int J Legal Med*. (2005c) [Epub ahead of print]
- Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res*. 17 (1989) 6463-6471
- Tun Z, Honda K, Nakatome M, Nakamura M, Shimada S, Ogura Y, Kuroki H, Yamazaki M, Terada M, Matoba R. Simultaneous detection of multiple STR loci on sex chromosomes for forensic testing of sex and identity. *J Forensic Sci*. 44 (1999) 772-777
- Turrina S, De Leo Domenico. Population data of three X-chromosomal STRs: DXS7132, DXS7133 and GATA172D05 in northern Italy. *J Forensic Sci*. 48 (2003) 1-2.

- Vauhkonen H, Vauhkonen M, Sipponen P, Sajantila A. Correlation between the allelic distribution of STRs in a Finnish population and phenotypically different gastrointestinal tumours: A study using four X-chromosomal markers (DXS7423, DXS8377, ARA, DXS101). *Ann Hum Genet.* 68 (2004) 555-562.
- Watanabe G, Umetsu K, Yuasa I, Suzuki T. DXS10011: a hypervariable tetranucleotide STR polymorphism on the X chromosome. *Int J Legal Med.* 113 (2000) 249-250.
- Weir BS. The second National Research Council report on forensic DNA evidence. *Am J Hum Genet.* 59 (1996) 497-500.
- Westermeier R: *Elektrophorese-Praktikum*, VCH Verlagsgesellschaft mbH (1990)
- Zarrabeitia MT, Alonso A, Zarrabeitia A, Castro A, Fernández I, Martínez de Pancorbo M. X-linked microsatellites in two Northern Spain populations. *Forensic Sci Int.* 145 (2004) 57-59.
- Zitzmann M, Depenbusch M, Gromoll J, Nieschlag E. Prostate volume and growth in testosterone-substituted hypogonadal men are dependent on the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene: a longitudinal pharmacogenetic study. *J Clin Endocrinol Metab.* 88 (2003) 2049-2054.

7 Anhang

7.1 Charakteristika der Fluorophoren

Fluorophor	Anregungs- maximum	Emissions- maximum	Markierungs- methode
5-Carboxyfluorescein (FAM)	490-495 nm	515-525 nm	ETP-A; ETP-D
Rhodamin 110 (R110)	520-525 nm	540-545 nm	ETP-A
2',7'-Dimethoxy-4',5'-dichlor-6'-carboxyfluorescein (JOE)	525-530 nm	550-555 nm	P;ETP-A; DT
6-Carboxyrhodamin (R6G)	525-530 nm	555-560 nm	P;ETP-A; DT
N,N,N',N'-Tetramethyl-6-carboxyrhodamin (TAMRA)	550-555 nm	580-585 nm	P;ETP-A; DT
6-Carboxy-X-Rhodamin (ROX)	580-585 nm	605-610 nm	P;ETP-A; DT

Tabelle 7-1: Beispiele für Fluorophore des *ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems) und ihre Eigenschaften. Es entsprechen P: 5'-Markierung des Primers; ETP-A: Akzeptor-Fluorophor in Energie-Transfer-Primern; ETP-D: Donor-Fluorophor in Energie-Transfer-Primern; DT: Verwendung als Fluorophor markierter Terminator.

7.2 Verteilung der X-chromosomale Genotypen in Vorpommern

DXS9898

	8.3	9	10	11	12	13	14	15
8.3	5							
9	0	0						
10	0	0	0					
11	10	0	2	3				
12	13	1	0	15	10			
13	5	0	0	10	16	4		
14	0	0	0	0	3	2	0	
15	0	0	0	0	0	0	1	0

DXS6807

	11	13	14	15	16
11	23				
13	2	0			
14	21	1	9		
15	24	2	9	3	
16	1	0	4	1	0

HPRTB

	9	10	11	12	13	14	15
9	0						
10	0	0					
11	0	0	3				
12	1	0	10	11			
13	0	1	9	22	7		
14	0	0	1	8	7	1	
15	0	1	1	5	8	4	0

DXS101

	15	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
15	0														
17	0	0													
18	0	0	1												
19	1	0	1	0											
20	0	0	0	1	0										
21	0	0	1	0	0	0									
22	0	0	0	0	0	0	0								
23	0	0	1	2	0	0	0	2							
24	1	1	0	1	1	0	2	1	7						
25	0	0	3	1	1	0	0	1	8	3					
26	2	0	2	2	1	0	1	2	6	8	6				
27	0	0	1	0	2	0	0	3	2	2	0	0			
28	1	0	0	0	2	1	0	1	2	2	3	1	0		
29	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
30	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0

ARA

	15	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
15	0														
17	0	0													
18	1	0	0												
19	0	0	1	3											
20	0	2	2	3	3										
21	0	0	0	3	4	3									
22	0	0	1	4	4	5	4								
23	0	0	1	3	1	7	1	1							
24	0	0	2	0	3	3	2	1	2						
25	0	0	1	0	4	2	4	1	2	0					
26	0	0	0	0	2	1	1	0	2	1	0				
27	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0			
28	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
29	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

DXS10011

	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	49	29.2	30.2	31.2	32.2	33.2	34.2	35.2	36.2	38.2
28	0																												
29	1	1																											
30	0	0	0																										
31	0	0	0	0																									
32	0	2	0	0	1																								
33	1	0	0	0	0	0																							
34	0	1	0	0	0	0	0																						
35	0	0	0	0	0	0	0	0																					
36	0	1	0	0	0	1	0	1	1																				
37	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0																			
38	0	0	0	0	1	1	0	0	1	2	0																		
39	0	1	0	0	0	3	0	1	1	2	1	0																	
40	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	0	0																
41	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0															
42	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	2	1	0	1	0														
43	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0													
44	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0											
46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0										
49	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
29.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0								
30.2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
31.2	0	0	0	2	0	0	2	1	3	1	1	0	0	3	0	0	0	1	0	0	1	0	0						
32.2	1	0	1	0	0	0	1	0	2	1	1	0	2	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0					
33.2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2		
34.2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
35.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
36.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

DXS7424

	10	12	13	14	15	16	17	18
10	0							
12	0	0						
13	0	0	0					
14	0	2	2	4				
15	1	3	4	12	9			
16	1	1	2	11	13	9		
17	0	0	0	5	4	10	5	
18	0	0	0	0	0	1	1	0

DXS8378

	9	10	11	12	13	14
9	0					
10	1	9				
11	4	29	9			
12	0	8	20	10		
13	0	3	2	3	0	
14	0	0	1	1	0	0

DXS8377

	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	64
39	0																		
40	0	0																	
41	0	0	0																
42	0	0	0	0															
43	0	0	0	0	0														
44	0	0	0	0	0	0													
45	0	0	1	0	1	1	0												
46	0	0	0	0	0	0	0	3											
47	1	1	0	2	0	2	1	2	0										
48	0	0	0	0	1	0	3	2	2	0									
49	1	0	1	0	2	3	1	0	1	2	1								
50	0	0	1	0	1	2	1	1	2	4	3	0							
51	0	0	0	0	1	3	0	1	1	3	2	4	3						
52	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	3	2	1	1					
53	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	1	1	0	0				
54	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0			
55	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0	0	1		
56	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

DXS7133

	7	8	9	10	11	12	13
7	0						
8	0	2					
9	0	1	14				
10	0	0	7	0			
11	1	1	29	15	10		
12	1	0	7	1	6	1	
13	0	0	3	1	0	0	0

7.3 X-chromosomale Genotypen in Vorpommern

lfd. Nr.		DXS6807	DXS8378	ARA	DXS9898	DXS101	DXS7424	DXS7133	HPRTB	DXS8377	DXS10011
1	w	11;13	12;13	20;24	12;13	24;25	15;16	9;10	11;13	47;52	33.2;34.2
2	w	11	12	18;20	8.3;12	25;27	16	9;11	11;14	48;56	31.2;37
3	w	11;16	10;13	19;21	11;13	26	15	11	10;13	43;50	31.2;34
4	w	11;15	9;11	20;24	8.3;12	19;23	16	9	12;13	52	34;37
5	w	11	10;11	20;22	12;13	25	15;17	9;10	12;13	48;51	37;39
6	w	14	10;11	21;23	11;12	24;27	14;15	9	12;14	42;47	31;31.2
7	w	11;14	11	20;21	13	26	14;16	10;11	11;13	46	33;39
8	w	14;15	10;11	20;21	12;13	23;26	17	9;12	11	45;48	31.2;38
9	w	13;14	10	20	12;13	19;24	16;17	9	12	48;52	37;39
10	w	11	11;12	20;24	12;14	24;25	15;16	9	11	43;45	36;41
11	w	11	11	21;28	9;12	18;25	16;18	10;11	11	48;50	34;43
12	w	11	10;11	24	8.3;11	26	16;17	10;11	11;12	46;53	30.2;39
13	w	11	11	19;29	11	24;26	14	9;11	12;13	55	34;49
14	w	11;14	10;12	20;21	12;13	24;25	15;16	9	13;15	48;50	34;42
15	w	11;15	10;12	18;23	8.3;11	25;26	15	9	13;14	45;52	28;43
16	w	14;15	11;12	18;25	11;12	24;25	13;15	9;12	12;13	42;47	29;36
17	w	15	11;12	21;22	10;11	26;28	15	11;12	14;15	47;48	29
18	w	11;14	11	19;27	11;13	24;25	15;16	9;13	12	47;48	29.2;41
19	w	14;15	10	20;21	11;13	29;30	15;16	9;11	13;15	46;52	30;32.2
20	w	14;15	10;12	24	8.3;12	28;30	14;17	11;12	12	43;48	38;40
21	w	14;15	10	21;24	13	22;24	16;17	9;11	14;15	45;49	32.2;37
22	w	11	10;12	20;26	12;13	20;27	14;17	9	13;15	43;49	39;42
23	w	15	10;11	21;22	12;14	25	15	10;11	13;15	46	32.2;40
24	w	11;15	10;12	19;22	8.3;12	27;28	14;15	9	11;13	51	32.2;36
25	w	11;15	10;11	20;25	12	25;28	15	9;11	11;15	43;51	32.2;46
26	w	14;16	10;11	20;25	11	24;26	10;16	11	13;15	44;49	37;38
27	w	11;15	9;11	18;22	8.3;12	24;28	14;15	9;11	10;15	46;47	32;33.2
28	w	11;14	10;11	24;27	13;14	24;25	16;17	9;11	12;15	41;49	35;40
29	w	11	11;12	22;27	12;13	24;30	14;15	9	12	41;50	31.2;41
30	w	11;14	12;14	21;22	8.3;13	25;26	14	9	13;14	47;50	33;38
31	w	11	11;12	18;24	14;15	18	14;16	9;11	12;13	44;52	36;38
32	w	11;13	11;13	21;23	8.3;11	26	14;16	9;11	9;12	50;51	37;38
33	w	14	10;12	21;22	11;13	26;28	13;15	9;11	12;13	48;55	32.2;34
34	w	11	10;11	18;24	11;13	23;26	14;16	8	12	48;50	31.2;41
35	w	11	10;11	19;22	8.3;12	20;25	14;16	11	13;15	46;50	32.2;40
36	w	11;15	11	21;23	12	18;26	14;15	10;11	13;15	39;47	34;44
37	w	11;15	11;12	21;25	13	24;27	14;15	9;11	12	46;51	32.2;41
38	w	11;15	10;11	20;22	11;12	24	14;17	9;11	12;13	49;50	28;29
39	w	15;16	11	21;27	11;12	26	10;15	9	12;14	49;52	29;32
40	w	11;15	10;11	21;23	8.3;12	18;19	16;17	9;11	12;14	44;49	41;42
41	w	11	10;11	21;23	8.3;12	24;26	16;17	8;9	12	50;51	28;32.2
42	w	11;15	10;13	21	11;12	19;26	14;15	7;11	14	44;45	38.2;39
43	w	14	10	19;23	11;13	19;20	16	8	13	51;54	31.2;41
44	w	13;15	11;12	22;25	8.3;	24	15;17	9;10	11;12	43;49	31.2;36
45	w	11;15	11;12	22	12;13	25;26	15	11	11;13	45;48	30;30.2
46	w	11	11;12	20	11;13	25	16	9;11	13	51;55	33.2;42
47	w	11	11	20;22	8.3;12	24;26	12;14	9	11;12	49;50	32.2;43
48	w	11;15	11;12	24;26	11;13	15;26	12;16	10;11	13	47;50	31.2;34
49	w	11	10;11	23	8.3;	22;24	15;16	11	12	41;45	37;40
50	w	11	11	21	12;13	26	14;17	12	11;12	49;51	33.2;38
51	w	14	10;11	21	8.3;13	18;27	14	10;11	11;12	46;47	28;33
52	w	11;14	12;13	17;20	12	20;26	17	10;11	13;14	46;51	33;36
53	w	11	10;13	18;20	11;13	23;27	13;15	9;11	11;12	49;51	36

54	w	11;15	11;12	22	12;13	23	14;15	11;12	11;13	44;56	29;34
55	w	11;14	10	23;27	12;13	24;28	14;15	9;12	11;13	44;49	30.2;32.2
56	w	14;15	10	21;24	11;12	25;26	14;17	11	12;13	46;48	33.2;34.2
57	w	14	12	22	11;12	21;28	16	8;11	12;13	51;53	32;38
58	w	11;15	12	20;25	12;13	18;23	15	9;12	14;15	47;53	38;42
59	w	11;15	10;11	19	11;13	19;23	15	9;10	12;13	44;50	40;41
60	w	14;16	12	19;20	8.3;12	23;27	14	7;12	11;12	47;50	38;40
61	w	11;14	12	22;24	10;11	25;26	14;15	9;11	12;14	50;51	35.2;40
62	w	11;15	10	19;20	8.3;12	18;21	14;16	10;11	13;14	49;52	34.2;35.2
63	w	11;15	10	20;25	12;13	17;24	16;17	9;13	12;13	47;49	36.2;37
64	w	14	11;12	21;24	11;12	25;26	14;16	9;11	11;12	46	33.2
65	w	11;14	10;11	20;26	11;12	25;27	13;14	9;11	11;13	45;47	33;39
66	w	14;15	9;11	19;20	11;12	18;25	14;15	9;10	13	50;52	36;40
67	w	11	9;11	25;26	8.3;	20;28	14;16	9;11	12	48;53	29;42
68	w	14;16	12	21;22	8.3;12	24	16	10;11	13	50;53	32.2;36
69	w	11;14	12;13	19;23	13	25;29	17;18	11	11;13	48;50	35.2;42
70	w	11;15	10;11	20;22	8.3;13	25;28	12;15	11	12;14	51;52	31.2;45
71	w	11;15	9;10	21;26	12;13	25;26	16	9;10	11;12	51	32.2;38
72	w	11	11;12	24;25	12;13	15;19	14;16	9;13	12	50;51	31;33.2
73	w	14;15	11;12	19;22	12	18;26	17	9;11	12;13	48;51	33;39
74	w	14;15	10;12	23;24	11	23;27	16	9;10	13;14	45;50	29;34.2
75	w	11;14	10	22;24	8.3;13	18;25	16;17	11;12	12;14	48;51	31.2;36
76	w	14	12	19;28	11;12	22;26	15;16	9	12;13	52;54	38;42
77	w	11;14	11;12	22	11;12	20;28	16;17	9	12;13	44;51	33.2;42
78	w	11	10;11	20;23	8.3;11	19;25	15;16	10;11	14;15	46;48	38;39
79	w	13;15	10;11	24;26	8.3;12	15;28	16	9;11	12;13	44;55	31.2;33.2
80	w	14;16	11;12	19;22	8.3;	24	15;16	9;11	12;15	44;56	40;41
81	w	15	11;12	15;18	8.3;11	15;26	15;16	11	13;14	49;50	32
82	w	11;14	11;12	17;20	8.3;	19;26	12;15	10;13	12;13	44;51	29.2;31.2
83	w	11;14	10;11	22;25	8.3;11	23;24	15;17	10;11	12;15	51	29;39
84	w	11;14	10;12	30	12	23	15;17	10;12	13;14	48;49	31.2;36
85	w	11;14	10;11	19;21	12	20;27	14;16	9;11	11;13	47;53	37;38.2
86	w	11;14	12	21;23	11;12	23;28	13;14	11;12	12;15	45;49	29;32
87	w	11;15	11;14	22;25	12	26;28	13;15	9;11	11;12	49;54	34.2;40
88	w	11	11;13	22;23	13;14	24	15;16	11;12	12;14	44;47	31.2;35
89	w	11;14	10;11	18;19	12	15;24	17	9;11	12;14	44;47	30;30.2
90	w	11;14	10;11	22;26	12;13	19;29	13;16	9;11	12;13	49	35;36
91	w	11;14	10;11	21;23	8.3;11	25;26	15;16	9;12	12;13	45;48	33.2;39
92	w	11;15	11;12	19	12	24;25	15	10;11	13	48;49	35;39
93	w	14	10;11	24;25	8.3;11	24;26	13;16	9;12	12;13	54;56	33.2;42
94	w	11;14	12	21;25	13	24;25	14;15	10;11	12;13	50;52	39;41
95	w	11	11;12	20	12;14	24	17	9;12	13;15	49;52	36;39
96	w	11	10;11	19;23	11;12	23;25	15;16	9;11	12;15	47;51	31;31.2
97	w	11;15	10;11	19;21	11;12	23;24	16;17	11	12;13	44;51	36;37
98	w	14	12	22;25	8.3;11	24;26	12;15	9;11	13	51;55	36;37
99	w	11;15	11	19	8.3;11	20;24	14;16	9;11	12;13	44;50	36;42
100	w	11;15	10;11	23;25	8.3;13	18;30	12;14	10;11	12	39;49	33.2

7.4 X-chromosomale Haplotypen in Vorpommern

lfd. Nr.	Geschlecht	DXS6807	DXS8378	ARA	DXS9898	DXS101	DXS7424	DXS7133	HPRTB	DXS8377	DXS10011
1	m	14	10	23	12	25	20	12	12	48	35
2	m	15	11	19	11	23	15	11	15	53	44
3	m	11	10	20	13	24	16	11	12	50	43
4	m	11	9	19	11	24	15	11	11	51	38
5	m	11	11	21	12	28	16	11	13	48	32
6	m	15	11	20	12	17	16	11	14	45	37
7	m	11	12	22	11	27	15	11	13	53	34.2
8	m	14	11	24	11	30	14	11	13	50	44
9	m	15	11	22	13	26	14	11	11	50	44
10	m	11	10	22	11	24	14	10	15	52	36
11	m	14	10	23	12	26	15	11	15	49	32
12	m	15	10	24	12	27	15	11	14	46	32
13	m	14	10	22	11	14	19	11	13	42	41
14	m	15	12	22	11	24	14	11	12	50	38
15	m	11	12	20	8.3	18	16	10	13	47	35.2
16	m	16	11	22	8.3	24	14	9	12	42	32
17	m	14	12	23	13	26	15	10	12	51	32
18	m	14	10	24	13	27	14	10	12	56	36
19	m	15	11	22	11	28	16	11	12	44	41
20	m	14	11	16	12	17	15	11	14	44	38
21	m	11	12	24	8.3	30	17	9	13	51	42
22	m	11	10	27	13	23	15	9	11	54	35
23	m	15	11	22	15	24	17	11	12	52	40
24	m	15	10	22	11	26	17	9	14	47	33.2
25	m	15	11	21	12	25	14	11	12	49	45
26	m	14	9	24	12	25	12	9	13	52	32
27	m	15	10	22	12	24	14	9	15	43	42
28	m	12	12	24	12	23	15	11	15	49	34
29	m	11	10	22	12	25	17	11	15	46	32
30	m	14	11	23	12	25	14	9	16	43	40
31	m	11	11	26	12	28	16	12	11	49	41
32	m	15	12	20	14	25	16	11	13	53	38
33	m	11	10	18	13	25	17	9	12	50	40
34	m	11	10	22	11	20	16	11	13	50	37
35	m	15	11	23	13	28	15	11	12	44	42
36	m	17	10	21	8.3	23	16	11	13	53	34.2
37	m	11	11	19	8.3	26	16	11	13	50	42
38	m	11	11	19	11	26	16	10	11	43	44
39	m	14	12	24	12	27	16	11	13	48	35
40	m	11	11	18	14	29	16	9	13	51	37
41	m	11	12	20	12	20	16	11	12	52	39
42	m	15	11	20	12	25	17	11	13	51	40
43	m	11	11	29	11	23	14	9	11	46	39
44	m	14	13	24	14	27	16	11	13	51	38
45	m	11	10	20	12	27	13	11	15	42	29
46	m	11	12	19	11	23	15	12	12	51	45
47	m	11	11	13	11	28	16	9	13	53	36
48	m	15	10	28	8.3	24	14	11	13	48	38
49	m	15	11	27	13	25	17	12	13	45	43
50	m	14	10	21	8.3	27	14	9	12	49	42
51	m	11	11	24	8.3	18	17	9	13	43	30.2
52	m	15	10	23	11	25	16	9	13	46	31.2

53 m	15	11	21	8.3	25	16	9	12	43	30.2
54 m	11	10	23	8.3	25	14	11	14	53	33
55 m	15	11	20	8.3	26	13	11	13	44	36
56 m	11	11	24	12	23	15	9	12	41	32
57 m	16	11	22	12	25	17	11	12	47	41
58 m	13	11	15	12	18	16	9	12	50	37
59 m	11	12	25	8.3	18	16	9	13	51	32.2
60 m	20	11	25	8.3	20	16	9	12	49	38.2
61 m	17	11	21	8.3	26	15	9	11	47	32.2
62 m	18	12	24	13	26	15	10	13	46	38
63 m	11	10	21	8.3	24	12	9	12	51	31.2
64 m	15	10	18	8.3	24	15	11	13	43	43
65 m	11	12	19	12	27	15	11	12	51	37
66 m	18	10	22	8.3	21	16	9	12	46	36
67 m	14	12	19	13	26	17	9	14	43	32.2
68 m	15	11	23	12	25	13	9	11	49	32.2
69 m	16	9	19	13	22	17	12	13	41	31.2
70 m	14	11	25	12	27	12	11	14	51	38
71 m	14	11	20	8.3	25	14	11	14	46	32
72 m	15	12	18	8.3	19	16	10	13	51	32.2
73 m	17	12	21	11	23	14	9	12	48	35
74 m	14	11	28	12	23	14	9	13	48	37
75 m	15	8	21	12	24	15	9	12	44	30.2
76 m	11	11	23	12	24	16	9	12	44	35
77 m	11	11	24	13	28	17	10	12	52	33.2
78 m	11	10	18	8.3	25	14	11	14	50	46
79 m	14	13	28	8.3	25	16	11	14	47	31.2
80 m	15	10	21	8.3	25	16	9	13	49	32.2
81 m	11	11	25	13	19	16	11	15	46	36
82 m	11	10	20	12	29	16	11	12	51	30.2
83 m	14	10	23	8.3	24	16	11	13	44	40
84 m	14	10	18	12	24	14	11	12	50	38
85 m	15	12	27	12	24	17	11	12	51	32.2
86 m	11	12	18	8.3	23	11	11	12	47	34
87 m	11	12	20	13	18	15	11	13	45	47
88 m	11	11	21	13	28	14	11	12	46	34
89 m	15	10	21	11	18	17	11	14	47	32.2
90 m	11	11	18	8.3	19	16	11	13	45	32.2
91 m	11	10	24	12	24	14	11	13	44	38
92 m	14	10	25	12	25	13	11	13	47	33.2
93 m	11	12	27	13	26	14	8	13	53	31.2
94 m	14	10	21	8.3	24	15	9	14	46	43
95 m	15	12	18	13	25	16	11	13	46	38
96 m	11	10	22	11	25	15	11	13	48	34
97 m	11	10	19	12	24	15	11	13	46	38
98 m	14	11	21	12	26	12	9	12	47	29
99 m	11	11	25	14	19	16	13	12	51	31.2
100 m	12	11	20	11	24	15	10	13	42	35
101 m	14	10	25	11	18	14	11	12	48	33.2
102 m	14	12	21	8.3	24	15	10	12	48	38
103 m	14	10	24	12	27	14	11	13	49	40
104 m	13	10	26	11	24	17	11	11	47	38
105 m	15	12	22	12	24	14	11	12	47	32.2

7.5 Verteilung der X-chromosomale Genotypen in Lettland

DXS6807

	11	12	13	14	15	16
11	10					
12	5	0				
13	1	1	0			
14	7	0	1	2		
15	3	2	2	4	2	
16	3	0	2	0	0	0

DXS8378

	8	9	10	11	12	13
8	0					
9	0	1				
10	1	0	6			
11	1	3	8	1		
12	1	0	8	5	4	
13	0	0	1	0	5	0

ARA

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	29	30
17	0												
18	0	1											
19	0	3	1										
20	0	2	1	1									
21	0	1	2	0	1								
22	0	1	1	0	1	0							
23	0	0	1	1	1	0	1						
24	0	1	0	0	1	0	1	0					
25	0	1	0	1	1	2	0	1	0				
26	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0			
27	1	0	1	1	0	2	2	0	1	0	0		
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
30	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0

DXS9898

	9	10	11	12	13	14
9	5					
10	0	0				
11	2	0	4			
12	9	0	6	4		
13	3	1	1	5	0	
14	1	0	0	1	2	1

DXS101

	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	30
17	0												
18	0	0											
19	0	1	0										
20	0	0	0	0									
21	0	0	1	0	0								
22	0	0	0	0	1	1							
23	0	0	1	0	0	0	0						
24	0	1	1	0	0	0	2	1					
25	1	2	1	0	1	1	2	6	1				
26	0	0	0	0	1	2	0	3	2	0			
27	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0		
28	0	0	0	2	0	0	0	2	1	2	0	0	
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

DXS7424

	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	0									
12	0	0								
13	0	1	1							
14	1	1	4	5						
15	0	0	3	6	1					
16	0	2	0	4	5	1				
17	0	0	0	1	1	2	0			
18	0	1	0	0	0	2	1	0		
19	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

DXS7424

	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	0									
12	0	0								
13	0	1	1							
14	1	1	4	5						
15	0	0	3	6	1					
16	0	2	0	4	5	1				
17	0	0	0	1	1	2	0			
18	0	1	0	0	0	2	1	0		
19	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

HPRTB

	9	10	11	12	13	14	15	16	17
9	0								
10	0	0							
11	0	1	1						
12	1	0	4	4					
13	0	1	4	13	2				
14	0	0	1	1	6	2			
15	0	0	1	0	0	0	0		
16	0	0	0	1	0	0	0	0	
17	0	0	0	1	1	0	0	0	0

DXS8377

	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
41	0														
42	0	0													
43	0	0	0												
44	0	1	0	0											
45	0	1	0	0	0										
46	0	0	1	0	0	0									
47	1	1	2	0	0	0	0								
48	0	0	0	0	1	1	1	2							
49	0	0	0	0	0	2	2	2	0						
50	0	0	0	0	1	0	0	2	3	1					
51	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	0				
52	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	2	0			
53	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	2	1	0		
54	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
55	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0

DXS10011

	28	29	30	30.2	31.2	32	32.2	33.2	34	35	35.2	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	
28	0																						
29	0	0																					
30	0	0	0																				
30.2	1	0	0	0																			
31.2	0	0	0	3	0																		
32	0	0	0	0	0	0																	
32.2	0	1	0	0	1	2	0																
33.2	0	0	0	0	0	0	0	0															
34	0	0	0	0	1	0	1	0	0														
35	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0													
35.2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0												
36	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1											
37	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0										
38	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0									
39	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	0								
40	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0							
41	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1						
42	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0					
43	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
44	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
45	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

7.6 X-chromosomale Genotypen in Lettland

lfd. Nr.	Geschlecht	DXS6807	DXS8378	ARA	DXS9898	DXS101	DXS7424	DXS7133	HPRTB	DXS8377	DXS10011
1	w	11;12	10;11	20;23	8.3	24;26	13;15	9;10	12	47;49	30.2;37
2	w	11;14	9;11	27;30	8.3; 12	24; 26	12;18	10;11	13	50;55	38;39
3	w	11	11;12	18;19	11;12	25;28	14	10	11;13	45;48	32.2;41
4	w	13;15	10	29;30	11	25;26	12;14	11	11; 15	51;52	33.2;36
5	w	14;15	10	21;25	12	18;24	12;16	9;11	13;14	48;51	31.2;34
6	w	11;14	12	19;22	8.3;11	25	14;15	9;12	12;13	42;44	29;32.2
7	w	11;16	10;13	20;30	13;14	21;27	14;15	10;11	13;14	46;49	31.2;42
8	w	11;12	8;10	23;27	11	24;25	16;17	11	13;14	45;50	33.2;39
9	w	11;16	10	20;26	8.3;13	20;28	14;17	10;11	11;12	48;49	32.2;38
10	w	15	8;11	23;27	12;13	22;26	15;16	10;11	13;14	46;53	33.2;35
11	w	11	12;13	18;22	13;14	24;25	13;14	10;11	12;13	49;52	30.2;31.2
12	w	11	10;12	18;20	8.3;14	26;28	15;16	10;11	12;13	42;45	35;37
13	w	11;12	9	19	14	23;24	14;15	9;10	14	42;47	29;43
14	w	11	11;12	21	8.3;12	22;26	14;15	10;11	12;13	51;53	30.2;35
15	w	14	10;11	22;27	10;13	18;19	14	9;11	12;13	49;50	35;36
16	w	12;13	10;12	22;25	8.3	23;24	14;16	9;12	12;13	46;53	29;38
17	w	11;13	9;11	21;24	8.3;12	19;21	15;17	10;11	12;13	43;46	35.2;38
18	w	14;15	10;12	25;27	11	25;27	16;18	9;10	11;12	50;51	32;42
19	w	13;15	9;11	19;27	11;12	21;26	15;16	11;12	11;14	49;51	38;40
20	w	11	10;12	18;20	11;12	17;25	13;15	11	11;13	48;50	30.2;40
21	w	12;15	12;13	22;26	8.3;12	24;27	13;14	9;12	11;12	43;47	36;42
22	w	11	11;12	18;21	12;13	20;28	12;13	11	9;12	48;52	33.2;39
23	w	11;15	10;11	19;30	8.3;12	23;25	14;16	11	12;14	50;55	32.2;40
24	w	11;12	10;11	18;25	11;12	18;25	13;14	10;12	10;13	48;55	34;35.2
25	w	15	10;12	19;21	8.3	24;28	14;20	10;11	12;13	51;53	32.2;34
26	w	14;15	10	24;25	11	25;26	14;16	9;10	12;13	47;49	30.2;31.2
27	w	11	11	23	12	21;22	14;15	9;10	10;11	48	30.2;31.2
28	w	13;16	12	22;27	8.3;12	24;25	14	10	13	50	32;32.2
29	w	14;15	8;12	23;24	8.3;13	25;27	13	10;11	12;13	50;51	32;32.2
30	w	11;14	11;12	19;23	8.3;13	24;25	10;14	9;10	12;13	47;48	28;30.2
31	w	11	10	26;30	12;13	26;30	16	10;11	12	52;53	33.2;40
32	w	13;14	10;11	20;27	12;14	22	14	10	13;17	48;49	35;40
33	w	12;15	12;13	17;27	8.3;12	24;26	14;15	9;10	12;17	46;49	34;38
34	w	11;12	10;11	19;21	11;13	24;25	15;16	9;10	13;14	46;48	41
35	w	11	10;11	18;24	8.3;12	24	14;16	9;11	12;16	48	30;45
36	w	11	11;12	22;25	8.3	19;24	13;15	9;10	11;13	41;47	29;40
37	w	11;14	12;13	18;19	8.3;12	26;28	16;19	10	14	45;51	36;39
38	w	11;14	10;12	20	8.3;11	21;25	12;16	9;10	11;13	48;50	31.2;32.2
39	w	11;16	10	20;25	12	22;25	14	11	11	50;53	31.2;44
40	w	11;15	12;13	18	12;13	18;25	15;16	10	12	49;50	33.2;38
41	w	11;15	12	19;20	11;12	24;28	16;17	10;11	12;13	48;54	30.2;35.2
42	w	11;14	12	23;26	8.3	23;25	15	10	11;12	49;50	37;38
43	w	11;14	10;11	18;19	12	19;23	13;14	9;10	13;14	43;47	37;46
44	w	14	10;12	21;22	11;12	19;25	16;18	10;11	12	45;52	36
45	w	13;16	10;12	21;23	12;13	24;25	17;18	10;11	12;13	51;52	31.2;35

7.7 X-chromosomale Haplotypen in Lettland

lfd. Nr.	Geschlecht	DXS6807	DXS8378	ARA	DXS9898	DXS101	DXS7424	DXS7133	HPRTB	DXS8377	DXS10011
1	m	11	13	19	8.3	25	13	11	11	45	29
2	m	11	12	23	8.3	19	16	10	12	51	32.2
3	m	11	8	23	8.3	19	14	11	12	51	38
4	m	11	12	23	8.3	24	14	10	12	49	38
5	m	11	12	28	8.3	24	15	11	12	49	35
6	m	11	12	21	8.3	25	15	10	12	47	38
7	m	11	10	22	8.3	27	15	11	12	43	36
8	m	11	9	30	8.3	28	15	11	12	53	44
9	m	11	10	22	8.3	25	14	9	13	46	34.2
10	m	11	12	16	8.3	27	14	11	13	46	37
11	m	11	12	25	8.3	18	17	10	15	46	39
12	m	12	9	16	8.3	25	15	12	11	50	32
13	m	12	11	28	8.3	25	15	11	11	48	31.2
14	m	13	13	27	8.3	25	13	9	12	43	35.2
15	m	14	12	25	8.3	32	16	11	11	51	32.2
16	m	14	10	24	8.3	17	14	11	12	48	31.2
17	m	14	11	24	8.3	25	16	11	13	55	38
18	m	15	10	21	8.3	18	15	10	12	43	36
19	m	15	10	25	8.3	24	16	11	12	51	36
20	m	15	12	22	8.3	25	13	11	12	52	35.2
21	m	15	10	21	8.3	30	14	11	12	49	43
22	m	15	10	19	8.3	24	14	11	13	53	34.2
23	m	15	11	21	8.3	24	14	11	14	44	32.2
24	m	15	10	23	10	25	15	9	12	51	37
25	m	11	10	20	11	24	17	10	11	52	31.2
26	m	11	10	16	11	27	17	10	14	49	31.2
27	m	11	11	22	11	18	17	10	12	45	39
28	m	11	11	26	11	19	15	11	12	43	35
29	m	11	10	18	11	21	15	10	12	53	34
30	m	11	10	19	11	25	14	9	12	46	32
31	m	11	11	24	11	25	16	10	12	52	33.2
32	m	11	10	21	11	18	17	9	13	43	30
33	m	11	10	22	11	21	14	10	13	48	30.2
34	m	11	11	19	11	25	14	9	14	54	44
35	m	11	10	27	11	25	14	12	14	48	45
36	m	14	13	23	11	23	14	11	12	46	45
37	m	14	11	23	11	18	16	9	13	49	31.2
38	m	14	14	23	11	25	14	11	13	48	42
39	m	15	10	24	11	25	13	11	11	49	31
40	m	15	10	28	11	15	19	9	13	45	34
41	m	15	11	20	11	26	15	10	13	50	41
42	m	15	11	27	11	26	14	11	13	44	36
43	m	16	12	18	11	23	11	11	11	49	46
44	m	11	10	23	12	28	14	9	11	46	38
45	m	11	11	27	12	24	14	9	14	47	35
46	m	11	12	27	12	20	16	10	12	49	37
47	m	11	11	21	12	24	14	10	12	50	36
48	m	11	11	25	12	24	14	11	12	52	40
49	m	11	12	27	12	28	12	11	13	51	33.2
50	m	11	11	21	12	21	16	8	13	45	35
51	m	11	10	25	12	18	19	11	13	42	42

52 m	12	8	22	12	21	16	10	14	49	31.2
53 m	13	10	19	12	20	16	9	12	47	40
54 m	14	11	22	12	25	12	11	12	48	31.2
55 m	14	10	22	12	25	17	11	12	48	40
56 m	14	10	20	12	26	15	9	12	56	30
57 m	14	12	22	12	27	14	11	13	48	30.2
58 m	14	12	19	12	25	18	11	14	48	30.2
59 m	14	10	19	12	25	13	9	14	48	30.2
60 m	14	11	20	12	25	13	9	14	48	42
61 m	15	9	19	12	25	16	12	11	53	38
62 m	15	11	24	12	25	14	9	11	46	40
63 m	15	10	21	12	27	16	11	12	49	35
64 m	15	10	18	12	25	14	10	13	51	38
65 m	15	10	27	12	26	13	10	13	45	28
66 m	16	9	19	12	24	14	10	12	49	32.2
67 m	11	11	29	13	18	17	11	12	47	33.2
68 m	11	11	20	13	25	14	11	12	45	28
69 m	11	12	19	13	25	16	10	13	50	41
70 m	11	10	25	13	25	17	9	13	55	36
71 m	11	12	27	13	25	16	9	14	42	37
72 m	13	12	21	13	31	15	9	12	50	40
73 m	14	11	25	13	25	16	10	13	48	30.2
74 m	15	11	20	13	24	17	9	11	50	32.2
75 m	15	11	23	13	26	14	10	12	48	30.2
76 m	15	10	22	13	25	13	11	14	40	31.2
77 m	11	10	18	14	19	16	12	13	51	47
78 m	13	12	21	14	23	15	10	11	44	34

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald,

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Heiko Petersmann
Geburtsdatum und -ort	22.05.1973 in Dortmund
Anschrift	Waldstr.11; 17498 Steffenshagen
Eltern	Angelika Petersmann, Hauswirtschaftsmeisterin Walter Petersmann, Diplom-Betriebswirt
Nationalität	deutsch
Konfession	evangelisch
Familienstand	verheiratet mit Astrid Petersmann, Diplom-Biologin drei Kinder Phil geb. 20.08.2000 Anna geb. 16.04.2002 Ron geb. 05.02.2004

Studium der Chemie

1993-1997	Chemiestudium an der Universität Dortmund
-----------	---

Studium der Humanmedizin

1998-2000	Studium der Humanmedizin an der Ruhr-Universität-Bochum
2000- 2004	Studium der Humanmedizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
26.10.2004	Approbation als Arzt
November 2004 – April 2005	BwKrhs Berlin, Innere Medizin
Seit Mai 2005	Institut für Tropenmedizin, Berlin

Bundeswehr

Juli 1992 – September 1993	Soldat auf Monate bei 7. Panzerdivison, Unna
Januar 1998 – September 1998	Militärische Grundausbildung, Bayreuth Offizierausbildung, Fürstenfeldbruck/München
Oktober 1998 – Oktober 2004	Studium der Humanmedizin
Jetziger Dienstgrad	Stabsarzt

Publikationsliste

Poetsch M, Petersmann H, Repenning A, Lignitz E. Development of two pentaplex systems with X-chromosomal STR loci and their allele frequencies in northeast German population. *Forensic Sci Int.* 155 (2005) 71-76.

Poetsch M, Sabule A, Petersmann H, Volkson V, Lignitz E. Population data of 10 X-chromosomal loci in Latvia. *Forensic Sci Int.* 2005 [Epub ahead of print]

Danksagung

Für die Hilfe, die mir im Rahmen dieser Arbeit von vielen Seiten zuteil wurde, möchte ich mich sehr herzlich bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. Eberhard Lignitz danke ich, dass er die Durchführung dieser Arbeit im Institut für Rechtsmedizin der Universität Greifswald ermöglichte.

Ganz besonders danke ich Frau PD Dr. rer. nat. Micaela Poetsch für die freundliche Überlassung des Themas, weiterhin für Ihre nahezu grenzenlose, unermüdliche und umfassende Betreuung, welche weit über die wissenschaftlichen Belange hinausreichte.

Frau Dr. Areta Sabule und Frau Prof. Dr. Velta Volksonė danke ich für die Proben aus Lettland.

Herrn Prof. Dr. Szibor danke ich für die Möglichkeit zur Einsichtnahme im Manuskript DXS10011 vor der Veröffentlichung und für weitere Ratschläge und Hilfestellung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Frau Sabine Seefeld und Frau Marina Maschke danke ich für die Unterstützung bei der praktischen Arbeit.