

Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
(Direktorin: Prof. Dr. med. J. Preuß-Wössner)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

# Die Beurteilung von Geschwisterwahrscheinlichkeiten in der rechtsmedizinischen Praxis

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
**Elena Pinchuk**  
aus Birobidschan  
Kiel 2018

1. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. N. von Wurmb-Schwark

2. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. A. Caliebe

Tag der mündlichen Prüfung: 10.12.2018

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 28.10.2018

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>.....</b>
<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1 Abstammungsuntersuchungen.....	1
1.1.1 Trio- und Defizienzfälle.....	1
1.1.2 Geschwisteruntersuchung.....	2
1.2 Abstammungsbegutachtung und rechtliche Aspekte.....	3
1.2.1 Gendiagnostikgesetz.....	3
1.2.2 Richtlinien zur Begutachtung von Abstammungsverhältnissen.....	4
1.2.3 Qualitätsmanagement und Akkreditierung.....	5
1.3 Geschichte der Abstammungsanalytik.....	5
1.3.1 morphologische Vergleiche.....	6
1.3.2 serologische Analytik.....	7
1.3.3 molekulargenetische Verfahren.....	8
1.3.3.1 die RFLP-Analyse.....	8
1.3.3.2 die SNP-Analyse.....	9
1.3.3.3 die mtDNA-Analyse.....	9
1.3.3.4 die STR-Analyse.....	10
1.4 Problematik bei Geschwisteranalysen.....	11
1.5 Zielsetzung.....	13
<b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>14</b>
2.1 Probandenkollektiv.....	14
2.1.1 Vollgeschwister.....	14
2.1.2 Halbgeschwister.....	15
2.1.3 Unverwandte Personen.....	15
2.2 Molekulargenetische Analytik.....	15
2.2.1 DNA-Extraktion.....	15
2.2.2 PCR.....	16
2.2.3 STR-Analyse mittels Kapillarelektrophorese.....	17
2.3 Biostatistische Berechnung und Hypothesenerstellung.....	18
2.3.1 Vollgeschwister.....	18
2.3.2 Halbgeschwister.....	25

2.3.3. Unverwandte Personen.....	25
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>26</b>
3.1 Auswertung: Vollgeschwister.....	26
3.1.1 Hypothese 1.....	29
3.1.2 Hypothese 2.....	30
3.1.3 Hypothese 3.....	31
3.1.4 Allelhäufigkeit bei den Vollgeschwistern.....	32
3.2 Auswertung: Halbgeschwister.....	34
3.2.1 Hypothese 1.....	34
3.2.2 Hypothese 2.....	35
3.2.3 Hypothese 3.....	37
3.2.4 Allelhäufigkeit bei Halbgeschwistern.....	38
3.3 Auswertung: Unverwandte Personen.....	40
3.3.1 Hypothese 1.....	41
3.3.2 Hypothese 2.....	41
3.3.3 Hypothese 3.....	42
3.3.4 Allelhäufigkeit bei Unverwandten.....	43
3.4 Zusammenfassung Allelhäufigkeiten.....	44
<b>4. DISKUSSION.....</b>	<b>46</b>
4.1 Diskussion der Ergebnisse.....	46
4.1.1 Vollgeschwister.....	46
4.1.2 Halbgeschwister.....	53
4.1.3 Unverwandte Personen.....	55
4.2 Fehleranalyse.....	57
4.2.1 Probanden und Probenverarbeitung.....	57
4.2.2 Allgemeine Problematik diagnostischer Verfahren.....	59
4.2.3 Allgemeine Problematik defizienter Abstammungsgutachten.....	60
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>62</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>65</b>
<b>7. ANHANG.....</b>	<b>73</b>
<b>8. DANKSAGUNG.....</b>	<b>78</b>
<b>9. LEBENS LAUF.....</b>	<b>79</b>
<b>10. EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG.....</b>	<b>81</b>

**Abkürzungsverzeichnis:**

A	Adenin
Abs.	Absatz
BGB	Bürgerliches Gesetzbuch
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
ca.	circa (lat.)
DGAB	Deutsche Gesellschaft für Abstammungsbegutachtung
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonucleidacid (engl.)
engl.	Englisch
et al.	et alii (lat. für „und andere“)
G	Guanin
GEKO	Gendiagnostik-Kommission
GenDG	Gendiagnostikgesetz
ggf.	gegebenenfalls
GNN	German Neonatal Network (engl.)
GW	Geschwister
HGW	Halbgeschwister
HLA	Human Lecocyte Antigen (engl.)
lat.	Lateinisch
NV	nicht verwandt
o.g.	oben genannt
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen
RFU	relative fluorescence unit (engl.)
Rh	Rhesus
s.g.	so genannt
s.o.	siehe oben
SNP	Single nucleotide polymorphisms (engl.)
SOP	Standard Operating Procedure (engl.)
STR	Short Tandem Repeats (engl.)
T	Thymin

UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
u.a.	unter anderem
usw.	und so weiter
W-Wert	Wahrscheinlichkeitswert
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

## 1. Einleitung

### 1.1 Abstammungsuntersuchungen

In dieser Arbeit geht es um Abstammungsuntersuchungen, speziell um Geschwisteranalysen. Die Nachfrage auf diesem Gebiet ist groß. So gehören die Fragen der Erbschaft und der Familienzusammenfügungen bereits zum Alltag der Rechtsmedizin. Zusätzlich bieten auch viele Privatlabore Abstammungsanalysen an. Sie werben mit s.g. „Geschwister-Tests“ oder auch „Verwandtschafts-Tests“. Für wenige hundert Euro wird anonym ein Set aus Wattestäbchen und Röhrchen erworben, das nach eigenständiger Entnahme eines Mundschleimhautabstriches durch die potentiellen Geschwister an das Labor zur Anfertigung der entsprechenden Analyse zurückgesendet werden kann. Die Ergebnisse liegen in der Regel nach wenigen Tagen vor. Sie werden allerdings nicht bei Gericht anerkannt, wenn z.B. die Probandenidentität nicht gesichert ist oder die gesetzlichen Anforderungen für die Analyse von Abstammungsgutachten nicht erfüllt sind [von Wurmb-Schwark 2008].

Die Frage nach eineiigen bzw. monozygoten Zwillingen zu beantworten, ist genetisch nicht kompliziert. Denn bei ihnen ist der s.g. „genetische Fingerabdruck“ völlig identisch [von Wurmb-Schwark 2004 b]. Schwieriger wird es bei genetisch nicht identischen bzw. heterozygoten Geschwistern, noch schwieriger bei den Halbgeschwistern. Dabei sind manchmal mehrere Methoden oder ein höherer Untersuchungsaufwand notwendig, um solche Verwandtschaftsverhältnisse nachzuweisen [Wenk et al. 2003, Poetsch et al. 2006]. In jedem Fall gilt: je mehr ausgewählte Blutsverwandte zu der genetischen Untersuchung hinzugezogen werden, umso zuverlässiger werden die Ergebnisse [Wenk und Shao 2012]. Dieser Idealfall ist jedoch selten gegeben.

In dieser Arbeit wurde überprüft, welche Methoden und Rahmenbedingungen sich für die Geschwister- und Halbgeschwisteranalyse ohne die Beteiligung von Eltern am besten eignen und ob diese eine sichere Aussage über die Verwandtschaft zweier Personen liefern können.

#### 1.1.1 Trio- und Defizienzfälle

Ein Triofall bedeutet, dass sowohl Kind als auch Mutter und Vater für die genetische Untersuchung hinzugezogen werden können. Dieser Idealfall liegt aber nicht immer vor. Meistens wird aus finanziellen Gründen das Erbgut von nur zwei der drei Personen untersucht. So z.B., wenn eine Vaterschaft nachgewiesen werden muss, um Unterhaltszahlungen für das Kind zu sichern. Hierfür wird nur das genetische Material vom potentiellen Vater (auch als

Putativvater bezeichnet) und vom Kind eingesetzt. Solche Fälle werden als Defizienzfälle bezeichnet. Die Untersuchung kann mittlerweile kostengünstig durch beliebige Personen an ein privates Labor in Auftrag gegeben werden. Bis zum Jahr 2010 bedurfte es nicht einmal der Zustimmung der Kindsmutter, wenn ein Putativvater solche Vaterschaftsanalyse durchführen ließ [von Wurmb-Schwark 2008]. Seit Februar 2010 gibt es jedoch das Gendiagnostikgesetz, welches solche Fälle regelt. Laut §25, Abs. 1 ist es nun strafbar, die genetische Analyse eines Kindes ohne der Zustimmung beider Elternteile durchführen zu lassen [Bundesjustizministerium 2010].

Bei einem Defizienzfall können verschiedene Analysemethoden eingesetzt werden, so z.B. genetische Verfahren mittels Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) und Short-Tandem-Repeats (STR), aber auch serologische Analysen [Poetsch et al. 2006] wie Human-Leucocyte-Antigen-System oder Blutgruppenanalysen. Diese Verfahren werden an einer anderen Stelle noch näher erläutert. Heute findet nahezu nur noch die STR-Analyse eine breite Anwendung [von Wurmb-Schwark 2004 b]. Auf diese wird im Folgenden detaillierter eingegangen.

### **1.1.2 Geschwisteruntersuchung**

Auch die Untersuchung von zwei potentiellen Geschwistern gehört zu den Defizienzfällen, wenn z.B. eine DNA-Untersuchung der Eltern nicht möglich ist. In solchen Fällen wird nur das genetische Material der potentiellen Geschwister miteinander verglichen und danach eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Voll- oder Halbgeschwisterschaft getroffen. Theoretisch sollte bei den Vollgeschwistern das genetische Material in jedem der untersuchten Genloci (lat. für Genort) mindestens zur Hälfte übereinstimmen. Dies ist jedoch praktisch selten der Fall, da zum einen die beiden Geschwisterkinder jeweils zwei unterschiedliche Allele von Vater und Mutter geerbt haben können [Tzeng et al. 2000] und zum anderen häufig genetische Variationen und Mutationen auftreten können [Wenk et al. 2003]. Halbgeschwister wiederum weisen nur ein gemeinsames Elternteil auf und können deshalb maximal nur in einem der von beiden Eltern vererbten Allelen auf einem Genort übereinstimmen [Wenk und Chiafari 2000]. Für die Untersuchung der potentiellen Geschwister, wie auch für die Vaterschaftsanalysen, stehen zahlreiche serologische und genetische Untersuchungen zur Verfügung, z.B. die HLA-, die RFLP- oder die STR-Analyse [Wenk et al 2003, Poetsch et al. 2006]. Zusätzlich können noch die so genannten gonosomalen bzw. geschlechtsspezifischen STR-Merkmale hinzugezogen werden [Wenk und Chiafari 2000]. Diese befinden sich bei den Söhnen desselben Vaters auf dem Y-Chromosom und bei



den Töchtern desselben Vaters auf dem X-Chromosom. Die genetische Information dieser Genorte sollte demnach komplett identisch sein, wenn die Geschwister vom selben Vater abstammen [Gusmão et al. 2012]. Sind jedoch die beiden untersuchten Personen vom unterschiedlichen Geschlecht, so ist eine gonosomale STR-Untersuchung nicht mehr möglich [Schmidt 2011]. Zusätzlich steht noch der Nachweis einer Abstammung von derselben Mutter durch die Bestimmung der mitochondrialen DNA (mtDNA) zur Verfügung. Diese wird nämlich rein maternal und nicht nach den mendelschen Regeln vererbt [Helms et al. 2010].

## **1.2 Abstammungsbegutachtung und rechtliche Aspekte**

Die Grundlage für das Abstammungsrecht bilden Artikel 1 Abs. 1 und Artikel 2 Abs. 1 des Grundgesetzes, nach denen für jede Person ein Recht auf informationelle Selbstbestimmung besteht. Und laut Bürgerliches Gesetzbuch, § 1598a, hat jedes Familienmitglied einen „Anspruch auf Einwilligung in eine genetische Untersuchung zur Klärung der leiblichen Abstammung“ [Bürgerliches Gesetzbuch (BGB) 2008]. Laut Abs. 1 desselben Paragraphs kann jeder Klärungsberechtigte nach einer Einwilligung der übrigen Familienmitglieder verlangen. Diese haben ggf. die notwendige Probeentnahme zu dulden. Bei Widerstand kann die Einwilligung auch von dem Familiengericht ersetzt werden (Abs. 2). Die Abstammungsuntersuchung kann von Gerichten, Behörden oder Privatpersonen in Auftrag gegeben werden. Bis vor wenigen Jahren war ebenso die anonyme Durchführung eines Vaterschaftsgutachtens mit Einwilligung nur eines Erziehungsberechtigten möglich. Sie waren zwar verfassungsrechtlich bedenklich und widersprachen den ethischen Normen, waren jedoch durch Gesetzestexte nicht untersagt [von Wurmb-Schwark 2008]. Erst am 13.02.2007 wurde durch ein Urteil des Bundesverfassungsgerichts festgelegt, dass solche anonymen Privatgutachten nicht vor Gericht als Beweisführung gelten dürfen. Außerdem wurde eine klare Regelung für die Durchführung genetischer Untersuchungen und für die Erstellung von Abstammungsgutachten gefordert [Bundesverfassungsgericht 2007].

### **1.2.1 Gendiagnostikgesetz**

Das Gendiagnostikgesetz (GenDG) oder das Gesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen wurde für die Bundesrepublik Deutschland am 31. Juli 2009 verabschiedet und ist am 01. Februar 2010 bundesweit in Kraft getreten. Anhand dieses Gesetzes sollen genetische Untersuchungen, Proben und Daten von Menschen in Deutschland überwacht und geregelt werden, um so eine Benachteiligung für die untersuchte Person auf Grund genetischer

Eigenschaften zu verhindern [Bundesjustizministerium 2010]. Dabei gelten zwei Grundprinzipien. Die Würde des Menschen muss geachtet und geschützt werden. Und die informationelle Selbstbestimmung des Betroffenen muss gewahrt werden. Das heißt, der Mensch hat sowohl das Recht auf Wissen als auch auf Nichtwissen der eigenen Befunde. Voraussetzung für die Zulassung einer solchen genetischen Untersuchung ist die rechtswirksame Einwilligung des Untersuchten. Erfolgt ein genetischer Test zu medizinischen Zwecken, so darf dieser nur von einem approbierten Arzt durchgeführt werden [Bundesjustizministerium 2010].

Mit der Erlassung des Gendiagnostikgesetzes wurde die Aufklärungs- und die Einwilligungspflicht der zu untersuchenden Person in § 17 Abs.1 GenDG gesetzlich verankert. Damit sind nun die bisher heimlich durchgeführten Abstammungsanalysen, z.B. zur Klärung der Vaterschaft, rechtswidrig geworden. Eine Rechtsverletzung wird mit Freiheitsstrafen von bis zu zwei Jahren oder Geldstrafen geahndet [Bundesjustizministerium 2010].

### **1.2.2 Richtlinien zur Begutachtung von Abstammungsverhältnissen**

In dem Gendiagnostikgesetz war u.a. vorgesehen, dass bestimmte Richtlinien zur Abstammungsbegutachtung festgelegt werden. Diese Aufgabe wurde der Bundesärztekammer und dem Robert Koch-Institut auferlegt. Daraufhin wurde die Gendiagnostik-Kommission (GEKO) ins Leben gerufen. Diese besteht aus den Sachverständigen der Medizin, der Biologie, der Ethik, des Rechts usw. Die Aufgabe der GEKO war es, entsprechende Richtlinien zur Begutachtung von Abstammungsverhältnissen auf Grundlage des „allgemein anerkannten Stands der Wissenschaft und Technik“ zu schaffen [Gendiagnostik-Kommission 2012]. Diese Richtlinien umfassen Anforderungen an die Durchführung genetischer Analysen, Überprüfung der Eignung und Zuverlässigkeit der Analysemethoden und Verlässlichkeit der Analyseergebnisse, sowie Maßnahmen zur Qualitätssicherung. Die Richtlinien sollen in erster Linie Mindestanforderungen für Labore darstellen, die Abstammungsuntersuchungen durchführen. In diesen Richtlinien werden u.a. folgende Anforderungen erfasst:

Der Auftraggeber und die Fragestellung müssen festgelegt werden. Es besteht eine Aufklärungs- und eine Einwilligungspflicht aller an der Untersuchung beteiligten Personen bzw. deren Erziehungsberechtigter. Die Identität der zu untersuchenden Person muss festgestellt und dokumentiert werden. Die Entnahme des genetischen Materials soll, den Richtlinien folgend, von einer für den Fall beauftragten ärztlichen oder anderen sachkundigen Person erfolgen. Die Proben müssen sachgemäß entnommen, vorbereitet und gelagert werden. Bei den analytischen Verfahren dürfen nur zugelassene Systeme verwendet werden, z.B. STR-

Systeme, RFLP-Systeme, SNP-Systeme usw. Bei den STR-Systemen müssen mindesten 15 voneinander unabhängige Polymorphismen untersucht werden. Das Vorliegen von vier und mehr Ausschlusskonstellationen auf verschiedenen Chromosomen führt zum Ausschluss einer möglichen Vaterschaft. Ein W-Wert von  $>99,99\%$  entspricht dabei der Aussage „Verwandtschaftshypothese praktisch erwiesen“.

Weiterhin wird in den Richtlinien festgehalten, dass die an den Abstammungsanalysen beteiligten Labore einer Akkreditierungspflicht unterliegen [Gendiagnostik-Kommission 2012]. Das wird im folgenden Kapitel näher erläutert.

Die Richtlinien der GEKO beziehen sich in erster Linie auf die Bestimmung von Vaterschaften. Für die Analyse von Geschwistern und Halbgeschwistern existieren zurzeit noch keine eigenen gültigen Richt- oder Leitlinien. Dementsprechend herrscht auf diesem Gebiet große Ungenauigkeit und Uneinigkeit. Valide Untersuchungen und Empfehlungen hierzu sind dringend nötig.

### **1.2.3 Qualitätsmanagement und Akkreditierung**

In Deutschland besteht seit 01.02.2011 eine Akkreditierungspflicht für Labore, die genetische Abstammungsuntersuchungen durchführen. Dieser Punkt wird in dem § 5 GenDG festgelegt. Demnach muss ein Labor die genetischen Analysen dem „allgemein anerkannten Stand der Wissenschaft und Technik“ entsprechend durchführen, sowie ein System der internen Qualitätssicherung besitzen. Es muss qualifiziertes Personal vorhanden sein. Die Teilnahme an geeigneten externen Qualitätssicherungsmaßnahmen und Fortbildungen ist Pflicht. Die Sachverständigen müssen außerdem eine praktische und theoretische Ausbildung vorweisen: sie müssen geprüfte Fachabstammungsgutachter sein und einen entsprechenden Ausbildungstitel tragen, der von der Deutschen Gesellschaft für Abstammungsbegutachtung (DGAB) nach Prüfung verliehen wird [DGAB 2012]. Erst dann kann eine Akkreditierung erteilt werden. Die erhaltene Akkreditierung gilt jedoch nur für die in dem Akkreditierungsantrag genannten Analyseverfahren und ist auf fünf Jahre limitiert [Bundesjustizministerium 2010].

## **1.3 Geschichte der Abstammungsanalytik**

Die Geschichte der Abstammungsanalytik nimmt ihren Ursprung im Jahre 1866, als Gregor Mendel seine drei Vererbungsregeln formuliert hat. Damals wurde es möglich, anhand äußerer Merkmale zweier Individuen Aussagen über deren Verwandtschaft zu machen [Mendel 1866]. Diese Methode wurde tatsächlich bis 1960 als das s.g. „Ähnlichkeitsgutachten“ in der

rechtsmedizinischen Praxis angewendet [Helms et al. 2010]. Eine bahnbrechende Entdeckung machte 1900 Karl Landsteiner. Er wies das AB0-Blutgruppensystem und dessen Vererbungsweg nach [Landsteiner 1901]. Seitdem wurde ein serologischer Verwandtschaftsnachweis möglich. Da aber diese Methode bis 1960 nicht ausreichend erforscht war, diente das „Blutgruppengutachten“ zwischen 1930 und 1960 meist lediglich als Ergänzung zu dem „Ähnlichkeitsgutachten“, wurde aber dennoch zum Ausschluss einer Vaterschaft anerkannt [Kröner 1999]. In den 60er-Jahren wurde dieses Verfahren erweitert. Man entdeckte die Blut-, Serum- und Enzym polymorphismen. Später sorgte die Entdeckung des HLA-Systems für die Weiterentwicklung und das Vorantreiben der Abstammungsanalytik [Payne und Hackel 1961]. Spätestens damit konnte in den 70er-Jahren eine Verwandtschaft von zwei Personen mit relativ hoher Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden. Dieses Verfahren wurde bis 1997 in der rechtsmedizinischen Praxis angewendet, bis es von molekulargenetischen Verfahren abgelöst wurde. Heutzutage verwendet man nun verschiedene DNA-Systeme, wie die Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP), Short tandem repeat (STR)-Systeme, Single nucleotide Polymorphismen (SNP) und vieles mehr, um mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit die Verwandtschaft zweier Personen nachzuweisen [Helms et al. 2010].

### **1.3.1 morphologische Vergleiche**

In den Anfängen der Abstammungsanalytik gab es noch wenig Wissen über die Gene und deren Vererbung. Mit den so genannten Plausibilitätskontrollen wurde anhand äußerer Merkmale, wie Haut-, Haar-, Augenfarbe und Körpergröße, eine Aussage über Verwandtschaftsverhältnisse getroffen [Kröner 1999]. Dabei verglich man das Wissen über die Eltern und den Nachkommen mit den bekannten Vererbungsregeln und –statistiken. Mithilfe von speziellen Formeln wurde dieses Verfahren sogar objektivierbar [Essen-Möller und Quensel 1939]. Die Methode behielt bis in die 60er-Jahre ihre Bedeutung in der Rechtsmedizin [Helms et al. 2010]. Natürlich war sie stark fehlerbehaftet. Man kennt heute die Begriffe polygenetische Vererbung [Buselmaier und Tariverdian 1991] und phänotypische Plastizität [Schlichting und Pigliucci 1993] und weiß, dass die äußeren Einflüsse, wie die Umwelt oder Krankheiten, das Aussehen in verschiedenster Weise verändern können. Deshalb wurde das „Ähnlichkeitsgutachten“ weitestgehend verlassen. Selten wird es noch in Form eines „anthropologisch-biometrischen Identitätsgutachtens“ in dem Verkehrsverwaltungsrecht angewendet, wenn es darum geht, einen Tatverdächtigen bei Geschwindigkeitsüberschreitung auf der Radarfotografie zu identifizieren [Oberlandesgericht Hamm 2008]. Hier allerdings spielen keine Vererbungsfaktoren eine Rolle.

### 1.3.2 serologische Analytik

Die serologische Analytik nimmt ihren Ursprung 1900. Damals wies Karl Landsteiner das Blutgruppensystem nach und erhielt dafür 1930 den Medizin-Nobelpreis [Landsteiner 1901]. Später kam die heute allgemein gültige ABO-Nomenklatur dazu. Man erkannte außerdem, dass die Blutgruppen dominant-rezessiv vererbt werden. Abhängig von den jeweiligen Oberflächenantigenen, die auf der Erythrozytenmembran präsentiert werden, unterscheidet man vier Blutgruppen: A, B, AB und 0. Bei der Blutgruppe 0 liegen keine Antigene auf der Oberfläche der Erythrozyten vor. Die Blutgruppen A und B werden kodominant vererbt, die Blutgruppe 0 rezessiv. Daraus ergeben sich folgende möglichen Genotypen: AA, A0, BB, B0, AB, 00 [Thomsen 1930]. Aus diesen einfachen Regeln kann man nun Rückschlüsse auf eine mögliche Verwandtschaft ziehen. Ein Kind mit der Blutgruppe 00 könnte mit einem Putativvater mit der Blutgruppe AB nicht verwandt sein. So kann man in einigen Fällen die Vaterschaft ausschließen. Diese Methode ist jedoch aufgrund der geringen Spezifität nicht ausreichend genau, um mit hoher Sicherheit eine Aussage bezüglich der Verwandtschaft zu treffen.

Ähnlich funktioniert der Nachweis von Agglutininen im Blutserum. Agglutinine sind Antikörper, die gegen fremde Blutgruppenantigene gerichtet sind. So weist die Blutgruppe A die B-Antikörper, die Blutgruppe B die A-Antikörper auf. Bei der Blutgruppe AB findet man keine Antikörper. Bei der Blutgruppe 0 sind dagegen sowohl die A- als auch die B-Antikörper im Blutserum vorhanden [Landsteiner 1901].

Darüber hinaus gibt es das Rhesussystem. Hierbei wird das Vorhandensein oder Fehlen des „Rhesus-Antigens“ auf dem Erythrozyten beschrieben. Die serologisch bestimmbaren Antigene dieses Systems sind D, C, c, E und e. Ist das Antigen D auf der Erythrozytenoberfläche vorhanden, spricht man von „Rh(D)-positiv“. Fehlt das D-Antigen, bezeichnet man die Blutgruppe als rh(D)-negativ. Dabei ist das Vorhandensein von D dominant über das Fehlen von diesem [Landsteiner und Wiener 1941]. Infolge dessen kann man eine Vaterschaft ausschließen, wenn das Kind einer rh-negativen Mutter und eines rh-negativen Putativvaters Rh-positiv ist.

Weiterhin gibt es im menschlichen Serum und auf den Erythrozyten Tausende verschiedene Proteine, so z.B. das Vitamin-D-bindende Protein, die Proteinase-Inhibitoren, die saure Erythrozyten-Phosphatase, die Phosphoglukomutase 1 usw. Da diese Proteine immer genetisch determiniert und sehr individuell sind, kann man mithilfe dieser mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Verwandtschaft ausschließen oder bestätigen. Dafür muss man sie aus dem Blut extrahieren, elektrophoretisch auftrennen und ggf. anfärben. Erst dann können individuelle

Polymorphismen nachgewiesen werden. Diese Methode ist sehr aufwendig und braucht ein hoch qualifiziertes Laborpersonal und Räume. Deshalb ist man auf andere, z.T. auch kostengünstigere Methoden umgestiegen [Helms et al. 2010].

Das HLA-System (Human Leucocyte Antigen) gehört zu den wichtigsten serologischen Systemen. Es spielt eine große Rolle in der Transplantationsmedizin, wurde aber auch in den Abstammungsgutachten verstärkt eingesetzt. HLA ist ein Antigen, welches auf allen kernhaltigen Zellen des Menschen exprimiert wird, u.a. auch auf den Leukozyten. Es wird zwischen zwei Klassen von HL-Antigenen unterschieden. Zur Klasse I zählen HLA-A, HLA-B und HLA-C. Diese Klasse ist von großer Relevanz für die forensische Genetik. Diese Antigene stehen in einem Kopplungsungleichgewicht zueinander. Jedem Genort können zwischen 10 und etwa 60 Antigenen zugewiesen werden. So entstehen bei jedem Menschen individuell unterschiedliche HLA-Merkmale, auch Allele genannt. Und jeder Mensch besitzt jeweils zwei Allele. Eins von der Mutter und eins von dem Vater vererbt. Durch den Vergleich dieser kann auf eine Verwandtschaft geschlossen werden [Payne und Hackel 1961]. Diese Methode war bis in die 90er in der rechtsmedizinischen Praxis stark vertreten, da sie die größte Nachweisstärke von allen bisher bekannten Methoden lieferte [Helms et al. 2010].

Inzwischen wurden die serologischen Analytik-Methoden durch die modernen und deutlich genaueren DNA-Systeme abgelöst. Sie dienen somit nur noch als Zusatzmethode in der Abstammungsanalytik.

### **1.3.3 molekulargenetische Verfahren**

Jede menschliche Zelle, mit Ausnahme der ausgereiften Erythrozyten, besitzt einen Zellkern. In diesem Kern befindet sich die Erbsubstanz – die Desoxyribonukleinsäure (DNA). Die DNA enthält kodierende und nicht kodierende Abschnitte. Den größten Teil der DNA machen die nicht kodierenden Abschnitte aus. Sie enthalten viele individualtypische Sequenzen und Mutationen. Damit eignen sie sich gut für die Abstammungsanalysen [Helms et al. 2010].

#### ***1.3.3.1 die RFLP-Analyse***

Die Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen(RFLP)-Analyse war eins der ersten molekulargenetischen Verfahren, welches 1984 von A.J. Jeffreys für die Abstammungsanalysen weiterentwickelt wurde [Jeffreys et al. 1985 a]. Mittels des Enzyms Restriktionsendonuklease kann die DNA in kleinere Fragmente zerteilt werden. Dieses Enzym wurde ursprünglich aus Bakterien isoliert. Es zerschneidet die DNA-Doppelstränge an den Stellen, wo sich die Basensequenzen wie Palindrome wiederholen (z.B. Basensequenz CAGG-

GGAC). Durch verschiedene Anzahl solcher Wiederholungen entstehen unterschiedlich lange DNA-Sequenzen. Auch Mutationen können dazu beitragen, dass die Fragmente bei verwandten Personen unterschiedlich lang werden [Jeffreys et al. 1988]. Die entstandenen Fragmente werden letztendlich mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und die Bandenmuster von zwei Individuen miteinander verglichen [Jeffreys et al. 1985 b]. Die RFLP-Analyse wurde 1991 durch die STR-Analyse abgelöst. Durch die komplexe Nachweisteknik, die Tage bis Wochen an Zeit und große DNA-Mengen erforderte, erwies sich diese Methode gegenüber der STR-Analyse als weniger effizient [Mályusz et al. 2007].

### ***1.3.3.2 die SNP-Analyse***

Single Nucleotide Polymorphismus (SNPs) stellen Variationen eines Basenpaares in einem DNA-Strang dar. Die SNPs werden an die Nachkommen weitervererbt. Sie kommen sowohl in kodierenden als auch in nicht kodierenden DNA-Abschnitten vor. Mittlerweile wurde nachgewiesen, dass bestimmte SNPs in der Entwicklung von Krankheiten eine wesentliche Rolle spielen [Warshawsky 2009]. Ferner können SNPs für die Abstammungsanalyse genutzt werden. Dies bietet sich v.a. aufgrund sehr niedriger Mutationsraten an [Cho et al. 2017]. Dem gegenüber stehen jedoch einige Nachteile. Der Nachweis von 50 SNPs entspricht qualitativ etwa dem von 12 STRs [Schwark et al. 2012]. Demzufolge sind die Kosten und der Aufwand bei dieser Methode wesentlich höher als für die heute als Standard eingesetzte STR-Analyse. Sie werden lediglich als eine Zusatzmethode in Abstammungsuntersuchungen eingesetzt.

### ***1.3.3.3 die mtDNA-Analyse***

Die mitochondriale DNA kann ebenfalls bei der Abstammungsanalyse eingesetzt werden. Dabei erfolgt die Vererbung nicht nach Mendelschen Regeln, sondern rein maternal [Helms et al. 2010]. Bei dem untersuchten genetischen Material handelt es sich um die mtDNA-Polymorphismen, die in Form von „Haplogruppen“ mit unterschiedlicher Häufigkeit vererbt werden. Unter „Haplogruppen“ versteht man Gruppen von Haplotypen bzw. Varianten von Nukleotidsequenzen auf ein und demselben Chromosom im Genom, die bei einer kleinen Gruppe von Individuen aufgrund der Abstammung von gemeinsamen Vorfahren gleich sind. In Defizienzfällen hat diese Methode als Zusatzuntersuchung einen großen Nutzen [Ge et al. 2011], z.B. wenn es um das Aufenthaltsrecht bei Flüchtlingen und Migranten geht und die Verwandtschaft zwischen in Deutschland lebender Mutter und dem nachziehenden Putativkind nachgewiesen werden soll.

#### **1.3.3.4 die STR-Analyse**

1991 wurde die STR-Analyse von Edwards und Mitarbeitern entwickelt [Edwards et al. 1991]. Diese Methode stellt heutzutage ein Standardverfahren zum Nachweis von Verwandtschaftsverhältnissen dar. Aufgrund vieler Vorteile löste die STR-Analyse beinahe alle bisher bekannten Analysemethoden ab [Mályusz et al. 2007]. Bei dieser Methode werden Short Tandem Repeats (STR) bestimmt. Es handelt sich um Polymorphismen, oft mit tri- bzw. tetrameren Wiederholungseinheiten in der Mikrosatelliten-DNA [Edwards et al. 1991]. Abhängig von der Anzahl der Wiederholungen von Kerneinheiten werden die mittels PCR amplifizierten Fragmente, welche die STRs beinhalten, unterschiedlich lang und damit (ab einer bestimmten Anzahl der untersuchten Merkmale) individuell für jede Person. Entsprechend werden sie an den Nachkommen weitervererbt. Die Bezeichnung eines Allels ist sowohl von der Anzahl der Wiederholungseinheiten als auch von dem STR-Locus abhängig. Wenn also von der Mutter an Locus VWA 18 Wiederholungseinheiten und vom Vater an demselben Genort 19 Wiederholungseinheiten vererbt werden, dann weist das Kind das Allel VWA 18/19 auf. Die spontane Mutationsrate in den STR-Systemen liegt bei ca. 1,3%, sodass bestimmte Abweichungen von dem mütterlichen und väterlichen Erbgut vorkommen können [Helms et al. 2010].

Als Ergänzung zu der autosomalen STR-Analyse gibt es noch die Bestimmung von X- und Y-STR-Merkmalismustern. Dies wird v.a. in schwierigen Fällen, z.B. bei Halbgeschwistern, eingesetzt [Schmidt 2011]. Möglich ist es, weil mit dem Y- bzw. dem X-Chromosom des Vaters spezifische Genorte en bloc als Haplotyp vererbt werden [Helms et al. 2010]. Dementsprechend sind die Y-STRs bei männlichen Geschwistern identisch. Bei weiblichen Geschwistern stimmt das vom Vater stammende Erbgut an einem der beiden X-Chromosomen ebenfalls überein. Bei dem mütterlichen X-Chromosom besteht dagegen nur eine 50% Wahrscheinlichkeit, dass dieses bei beiden Geschwisterkindern übereinstimmt [Szibor et al. 2003, Gusmão et al. 2012]. Die STR-Systeme sind allen bisher existierenden Analytik-Verfahren weit überlegen. Sie lassen sich mit Hilfe gut etablierter und einfacher Methoden nachweisen. Für die Analyse reicht bereits sehr wenig DNA-Material aus. Der Prozess verläuft automatisiert [Thomson et al. 1999], so dass dieses Verfahren unter Einhaltung bestimmter Bedingungen kostengünstig und zugleich mit sehr hoher Nachweiskraft eingesetzt werden kann [von Wurmb-Schwark et al. 2009]. Wichtig ist es, die Marker auszusuchen, die auf verschiedenen Genorten lokalisiert sind, die ausreichend polymorph sind, aber eine geringe Mutationsrate aufweisen [Wenk et al. 2003].



## 1.4 Problematik bei Geschwisteranalysen

Um die Problematik der Geschwisteranalysen zu verdeutlichen, muss zuerst auf die Vaterschaftsanalysen eingegangen werden.

Wie bereits oben erwähnt, werden heutzutage meist die Abstammungsanalysen mittels STR-Verfahren durchgeführt. Dabei gibt es einiges zu beachten. Die Allele eines Genortes werden kodominant vererbt, d.h. zur einen Hälfte von der Mutter und zur anderen von dem Vater. Schließlich liegen die Allele homozygot (reinerbig, identisch) oder heterozygot (mischerbig, unterschiedlich) vor. Bei Vaterschaftsanalysen müsste daher im Idealfall zuerst die genetische Analyse von Mutter und Kind erfolgen, um so festzustellen, welche kindlichen Allele tatsächlich vom Putativvater stammen. Wenn bei insgesamt 15 untersuchten STR-Merkmalen mehr als 3 Allelpaaire nicht übereinstimmen, wird die Vaterschaft ausgeschlossen [Gendiagnostik-Kommission 2012]. Meistens werden aber die s.g. Defizienzgutachten bei den Vaterschaftsanalysen durchgeführt [von Wurmb-Schwark et al. 2008]. Das bedeutet, dass nur das genetische Material von dem Putativvater und dem Kind bei der Untersuchung vorliegen. Sollten also die Eltern auf einem Genort die gleichen Allele aufweisen, kann dies ein Ergebnis verfälschen. Dieses Problem verdeutlicht das Beispiel in der Tabelle 1.

**Tabelle 1:** Beispiel einer STR-Analyse am Genort VWA zwischen Kind, Mutter und Putativvater. Fall a) ist der Triofall. Das Kind hat das mütterliche Allel 18 geerbt. Das verbliebene Allel 19 weist der Vater nicht auf, was seine Vaterschaft gegenüber dem untersuchten Kind weniger wahrscheinlich macht. Im Fall b) wurde das genetische Material der Mutter nicht bestimmt. Es ist ein Defizienzfall. Demnach sieht es so aus, als stamme das Allel 18 des Genortes VWA vom Putativvater. Dies macht die mögliche Vaterschaft wahrscheinlicher. **Fett** sind die übereinstimmenden Allele bei den untersuchten Personen hervorgehoben.

<i>STR-Merkmal</i>	<i>Kindliche Allele</i>	<i>Mütterliche Allele</i>	<i>Allele des Putativvaters</i>	<i>Wertung</i>
a) VWA	<b>18</b> /19	17/ <b>18</b>	14/ <b>18</b>	Ausschluss
b) VWA	<b>18</b> /19	unbekannt	14/ <b>18</b>	Einschluss

Bei der Untersuchung des Triofalls in der Tabelle 1 ist eindeutig zu sehen, dass das Kind das Allel 18 im VWA-Genort von der Mutter geerbt hat. Somit kommt es zum Ausschluss dieses Genlocus in der Vaterschaftsanalyse. Wenn jedoch dieser Fall als ein Defizienzfall betrachtet wird und das mütterliche Genom für die Untersuchung nicht zur Verfügung steht, kommt es

zum Einschluss des VWA-Gens bei der Vaterschaftsanalyse. Auch der Vater besitzt das gleiche Allel 18 auf seinem VWA-Genort, wie die Mutter. Da jedoch das Kind von der Mutter dieses Allel bereits geerbt hat, wäre die o.g. Schlussfolgerung falsch.

Bei der genetischen Analyse von Voll- und Halbgeschwistern handelt es sich meistens ebenfalls um Defizienzfälle, da das genetische Material der Eltern oft nicht zur Verfügung steht [von Wurmb-Schwark et al. 2015]. Dabei liegt die Wahrscheinlichkeit bei 25 %, dass zwei Vollgeschwister gar kein Allel miteinander teilen. Bei den Halbgeschwistern ist diese Wahrscheinlichkeit sogar noch höher und liegt bei 50% [Wenk und Chiafari 2000]. In Tabelle 2 wird diese Problematik anhand eines Beispiels verdeutlicht.

**Tabelle 2:** Beispiel einer STR-Analyse am Genort VWA zwischen zwei Halbgeschwistern mit der gleichen Mutter und unterschiedlichen Vätern. Im Fall a) ist das genetische Material der Mutter vorhanden und stimmt mit den kindlichen Allelen überein. Somit ist die Abstammung von der gleichen Mutter wahrscheinlich. Im Fall b), also dem Defizienzfall, wäre die Verwandtschaft der beiden untersuchten Kinder weniger wahrscheinlich, da sie keine gemeinsamen Allele in dem untersuchten Genort haben. **Fett** sind die von der Mutter stammenden Allele hervorgehoben.

<i>STR-Merkmal</i>	<i>Allele Kind 1</i>	<i>Allele Kind 2</i>	<i>Allele Mutter</i>	<i>Allele Vater 1</i>	<i>Allele Vater 2</i>	<i>Wertung</i>
a) VWA	<b>18</b> /19	16/ <b>17</b>	<b>17/18</b>	14/19	14/16	Einschluss
b) VWA	18/19	16/17	unbekannt	14/19	14/16	Negativer Hinweis

Wenn also überprüft werden soll, ob zwei Personen Halbgeschwister oder Geschwister sind, aber das Genom des gemeinsamen Elternteils nicht bekannt ist, kann es aufgrund zahlreicher Kombinationsmöglichkeiten zu häufigeren „Ausschlüssen“ von Genorten bzw. „negativen Hinweisen“ führen. Damit kann fälschlicherweise ein Ausschluss bzw. Einschluss der Verwandtschaft erfolgen [Mályusz et al. 2007]. Diese Defizienzfälle sind sehr problematisch und bergen ein hohes Fehlerrisiko, insbesondere wenn eine einzige Methode der genetischen Analyse mit nur wenigen Genorten gewählt wird [Poetsch et al. 2006].

Ein weiteres Problem besteht, wenn potentielle Geschwister oder Halbgeschwister in anderer Weise miteinander verwandt sind, z.B. als Cousins oder als Neffe und Onkel. In diesen Fällen

können sich die DNA-Profile dermaßen ähneln, dass sie schnell zu einem falsch positiven Ergebnis führen [von Wurmb-Schwark et al. 2004 a].

Leider existierten bisher keine klaren Richtlinien oder Empfehlungen bezüglich der genetischen Untersuchung von Geschwistern oder Halbgeschwistern. Es ist also unklar wie viele genetische Merkmale untersucht werden müssen, um ein optimales Ergebnis zu erreichen. Es ist ebenfalls nicht bekannt ab welcher Wahrscheinlichkeit eine Geschwisterschaft als erwiesen gilt. Die Benennung solcher Wahrscheinlichkeit ist auch sehr schwierig, weil durch die hohe Varianz der untersuchten STR-Merkmale eine Wahrscheinlichkeit von 99,9% auch bei nicht verwandten Personen möglich wäre [Poetsch et al. 2006].

## **1.5 Zielsetzung**

Das Hauptziel dieser Arbeit war es, anhand der gesammelten Daten eine Methode für die Untersuchung der potentiellen Geschwister- und Halbgeschwisterverhältnisse zu entwickeln, um eine Wahrscheinlichkeit für deren Verwandtschaft zu ermitteln. Dabei wurden zwei mögliche Ansätze diskutiert. Zum einen die Festlegung einer bestimmten Wahrscheinlichkeitsgrenze für den jeweiligen Fall. Zum anderen die Festlegung einer Anzahl negativer Hinweise in der Gesamtheit der Allelkonstellationen bei einem Geschwister- bzw. Halbgeschwisterpaar. Zusätzlich wurde untersucht, wie viele STR-Merkmale notwendig wären, um eine sichere Aussage über das Vorliegen einer Voll- bzw. Halbgeschwisterschaft treffen zu können.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Probandenkollektiv**

Für diese Studie wurden Probanden aus drei verschiedenen Gruppen untersucht. Sie werden im Folgenden näher beschrieben.

#### **2.1.1 Vollgeschwister**

In dieser Gruppe wurden insgesamt 354 Geschwisterpaare untersucht. Bei den Angehörigen dieser Gruppe handelte es sich überwiegend um dizygote Zwillinge aus dem GNN-Project des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck. Während dieses Projekts wurden zwischen 2003 und 2009 in 28 Zentren in Deutschland Blutproben aus der Nabelschnur sowie Mundschleimhaut-Abstriche von insgesamt 3708 Neugeborenen gewonnen, darunter auch von mehreren hundert Mehrlingen. U.a. wurde dabei untersucht, ob diese Mehrlinge mono- oder dizygot waren. [Spiegler et al. 2012]. Das DNA-Material der dizygoten Geschwisterpaare aus dem GNN-Project wurde für die vorliegende Arbeit verwendet.

Vor der initialen Probeentnahme wurde die Einverständniserklärung seitens der Eltern zur Verwendung des entnommenen Materials für die Forschungszwecke unterzeichnet. Zu Anonymisierungszwecken wurde jeder Person eine Nummer zugeteilt. Die Nummern von Geschwisterkindern wurden entsprechend der Nummer der Mutter zugeordnet. Auch die Röhrchen mit den DNA-Proben trugen die Aufschrift mit der jeweils zugewiesenen Nummer. Alle Nummern wurden fortlaufend in Listen gespeichert. Alle untersuchten Kinder waren kaukasischer Herkunft.

Weiterhin gab es eine geringe Anzahl an Vollgeschwistern, die aus den Abstammungsuntersuchungen am Institut der Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel stammen. Bei diesen Probanden erfolgte zur Probegewinnung eine venöse Blutabnahme, und zwar von einem am Institut angestellten Arzt. Die Proben wurden nach der Entnahme direkt mit Namen und Geburtsdatum versehen. Eine sichere Identifizierung der Probanden erfolgte durch die Vorlage eines aktuellen Lichtbildes, Personalausweis oder Geburtsurkunde. Zusätzlich wurden bei Erwachsenen ein Fingerabdruck des linken Daumens, bei Kleinkindern ein Abdruck des linken Fußes angefertigt. Alle untersuchten Personen sicherten zu, dass sie innerhalb der letzten drei Monate keine Bluttransfusionen erhielten und an keinen Erkrankungen des Blutes oder der blutbildenden Organe litten. Alle Daten wurden in einem Identitätsbogen festgehalten. Alle Probanden willigten in die Verwendung der Proben für

weitere Forschungszwecke ein. Die Anonymisierung der Proben erfolgte, indem jeder untersuchten Person einer Nummer zugeordnet wurde.

### **2.1.2 Halbgeschwister**

Für diese Gruppe wurden Mundschleimhautabstriche von 32 sicheren Halbgeschwisterpaaren untersucht. Die DNA-Proben wurden zum größten Teil von dem Institut der Rechtsmedizin in Essen zur Verfügung gestellt. Sechs Proben stammen aus den Abstammungsgutachten des Instituts der Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel. Alle Proben wurden gemäß den aktuellen Richtlinien der GEKO und dem GenDG entnommen. Auch hier lag die Einverständniserklärung der Probanden bzw. deren Erziehungsberechtigter zur Nutzung des gewonnenen Untersuchungsmaterials für weitere Forschungszwecke vor. Die gewonnenen DNA-Proben wurden durch die fortlaufende Nummerierung anonymisiert gespeichert. Alle Personen stammen aus der kaukasischen Population.

### **2.1.3 Unverwandte Personen**

Die dritte Probandengruppe bestand aus 100 nicht miteinander verwandten Paaren. Diese Gruppe wurde aus den Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel gebildet, bei denen keine Blutsverwandtschaft bekannt war. Alle Probanden willigten in die Entnahme der Proben und deren Weiterverwendung zu Forschungszwecken ein. Jeder Person wurde zu Anonymisierungszwecken eine Nummer zugeteilt. Die DNA-Proben wurden durch die Abstriche von der Mundschleimhaut gesichert. Alle untersuchten Personen waren ebenfalls Kaukasier.

## **2.2 Molekulargenetische Analytik**

### **2.2.1 DNA-Extraktion**

Wie bereits in Kapitel 2.1 erwähnt, erfolgte die Gewinnung der DNA-Proben durch die Entnahme von Mundschleimhautabstrichen oder durch die Gewinnung des Blutes aus einer peripheren bzw. Nabelschnurvene. Im Prinzip kann zur DNA-Extraktion jedes biologische Material verwendet werden, welches kernhaltige Zellen enthält, z.B. Vollblut, Speichel, Haut, Haar, Knochen, Sperma, Vaginalsekret usw. Die Isolierung der DNA erfolgt heutzutage meist automatisiert.

In dieser Arbeit wurden für die DNA-Extraktion zum einen 200 µl Vollblut verwendet und mit NucleoSpin® Blood QuickPure Kit der Firma Macherey-Nagel (Düren, Deutschland), gemäß

den Herstellerangaben aufbereitet [Macherey-Nagel 2106]. Zum anderen wurde die DNA aus dem Mundschleimhautabstrich mittels eines InnuPrep DNA Swab Kit (Analytik Jena, Jena, Deutschland), gemäß den Herstellerangaben bzw. unter Zugabe von 300 µl SwabSolution™ je Probe (Promega, Mannheim, Deutschland), sowie unter Verwendung eines Invisorb Spin Swab Kit (Stratec, Berlin, Deutschland) extrahiert. Anschließend an die DNA-Extraktion wurde eine Fragmentanalyse im ABIPrism® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) [Applied Biosystems 2010 a] durchgeführt.

### 2.2.2 PCR

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist eine Methode zur Vermehrung der DNA oder der einzelnen Genomabschnitte und wurde 1983 von Kary Banks Mullis entwickelt [Mullis et al. 1986]. Später wurde dieses Verfahren weiter erforscht. Daraus entstanden neue Untersuchungsmethoden, wie z.B. die hier angewandte Multiplex-PCR [Chamberlain et al. 1988]. Bei dieser können gleichzeitig mehrere Genomabschnitte amplifiziert werden. Dies wird möglich durch den Einsatz mehrerer markierter Primer. Die Methode wird in solchen medizinischen Bereichen wie Mutationsanalysen, Gendelektionsanalysen, Pathogenese und vieles mehr angewandt [Henegariu et al. 1997]. In dieser Arbeit wurde die Multiplex-PCR für die Amplifikation der STRs verwendet.

Die Reaktion läuft im Allgemeinen folgendermaßen ab: Die DNA wird zuerst unter 94°-96°C in Einzelstränge aufgespalten. Dies ist die s.g. Denaturierungsphase. Danach folgt die Annealingphase. Es kommt zur Abkühlung auf eine primerspezifische Temperatur. Dadurch können sich die Primer an die komplementären Einzelstränge anlagern. In der darauffolgenden Extensionsphase erfolgt die Erhöhung der Temperatur auf 68°-72°C. Dies ist die optimale Temperatur für die Aktivierung der Taq-Polymerase. Dieses Enzym bindet komplementäre Basen an die Einzelstrang-DNA. Der Zyklus wird so lange wiederholt, bis die ausreichende Menge des gewünschten Produktes hergestellt ist. Mit der Abkühlung auf 4°C wird die Reaktion beendet.

Die PCR wurde für die hier untersuchten Proben auf einem GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) durchgeführt [Applied Biosystems 2010 b]. Es wurden jeweils 0,5 – 1 µl vom DNA-Extrakt für die PCR verwendet.

Die Primer stammen aus den kommerziell erhältlichen Multiplex-PCR-Kits. Standardmäßig wurden hier im Labor für 349 Voll- und 30 Halbgeschwisterpaare 15 STRs (Penta E, D18S51, D21S11, TH01, D3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, VWA, Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317, D5S818) plus geschlechtsspezifisches Amelogenin mit dem

Powerplex® 16HS Kit (Promega, Mannheim, Deutschland) bestimmt [Promega 2016]. Zusätzlich wurden für diese Arbeit bei 130 der vorab erwähnten Geschwister- und 29 Halbgeschwisterpaaren 17 STRs (wie die 15 o.g. STRs sowie zusätzlich D2S1338 und D19S433) plus geschlechtsspezifisches Amelogenin mit dem Powerplex® 18D Kit (Promega, Mannheim, Deutschland) nachbestimmt [Promega 2016]. Für weitere 91 Geschwister-, elf Halbgeschwisterpaare sowie 100 Unverwandte erfasste man 20 STRs (wie die 15 o.g. STRs bei Powerplex® 16HS sowie zusätzlich D2S1338, D19S433, D1S1656, D12S391, D6S1043) plus geschlechtsspezifisches Amelogenin mit dem Powerplex® 21 Kit (Promega, Mannheim, Deutschland) [Promega 2017 a]. Es ist wichtig zu erwähnen, dass bei der Untersuchung mit der Powerplex® 21- Methode nur 19 Genorte in die statistische Auswertung eingegangen sind. Das STR-Merkmal D6S1043 konnte nicht in der Berechnung berücksichtigt werden, da es zum Zeitpunkt der Zusammenstellung dieser Arbeit in dem Computer-Programm „W-VAT“ zur biostatistischen Abstammungsbegutachtung (siehe Kapitel 2.3) noch nicht vorhanden war. Weiterhin wurde bei sechs männlichen Geschwisterpaaren die Analyse mit Powerplex® Y23 (Promega, Mannheim, Deutschland) durchgeführt [Promega 2017 b]. Die dazu zählenden STR-Merkmale werden an dieser Stelle nicht im Einzelnen benannt, da diese Methode im Rahmen der vorliegenden Arbeit nur als eine Zusatzuntersuchung eingesetzt wurde.

### **2.2.3 STR-Analyse mittels Kapillarelektrophorese**

Die Elektrophorese wird definiert als Wanderung geladener kolloidaler Teilchen oder gelöster Moleküle durch ein elektrisches Feld. Diese 1937 von Arne Tiselius entwickelte Methode [Tiselius 1937] gehört heutzutage zu den Standardmethoden in der medizinischen und biologischen Forschung. Mit der Zeit kam es zur Weiterentwicklung des Verfahrens, sodass man heute viele verschiedene Arten der Elektrophorese unterscheidet, z.B. Serumelektrophorese, Gelelektrophorese, Kapillarelektrophorese [Klepárník und Bocek 2010]. Letztere kam in dieser Arbeit zum Einsatz.

Die Kapillarelektrophorese dient der Auftrennung von genetischem Material. Für diese Arbeit wurde das an der Fakultät der Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel etablierte Verfahren mit ABIPrism3130 Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) [Applied Biosystems 2010 a] angewendet. Dabei wurden einzelne DNA-Fragmente nach der Länge aufgetrennt. Man verwendete hierfür 0,5 µl des PCR-Produktes gelöst in 12 µl sterilem Wasser plus 0,3 µl ILS500 (ein Größenstandard von Applied Biosystems). Die eingesetzten Primer wurden mit fluoreszenzhaltigen Farbstoffen markiert. Dadurch war es erst möglich, die spezifischen DNA-Fragmente nachzuweisen. Zum Vergleich wurde parallel dazu eine s.g.

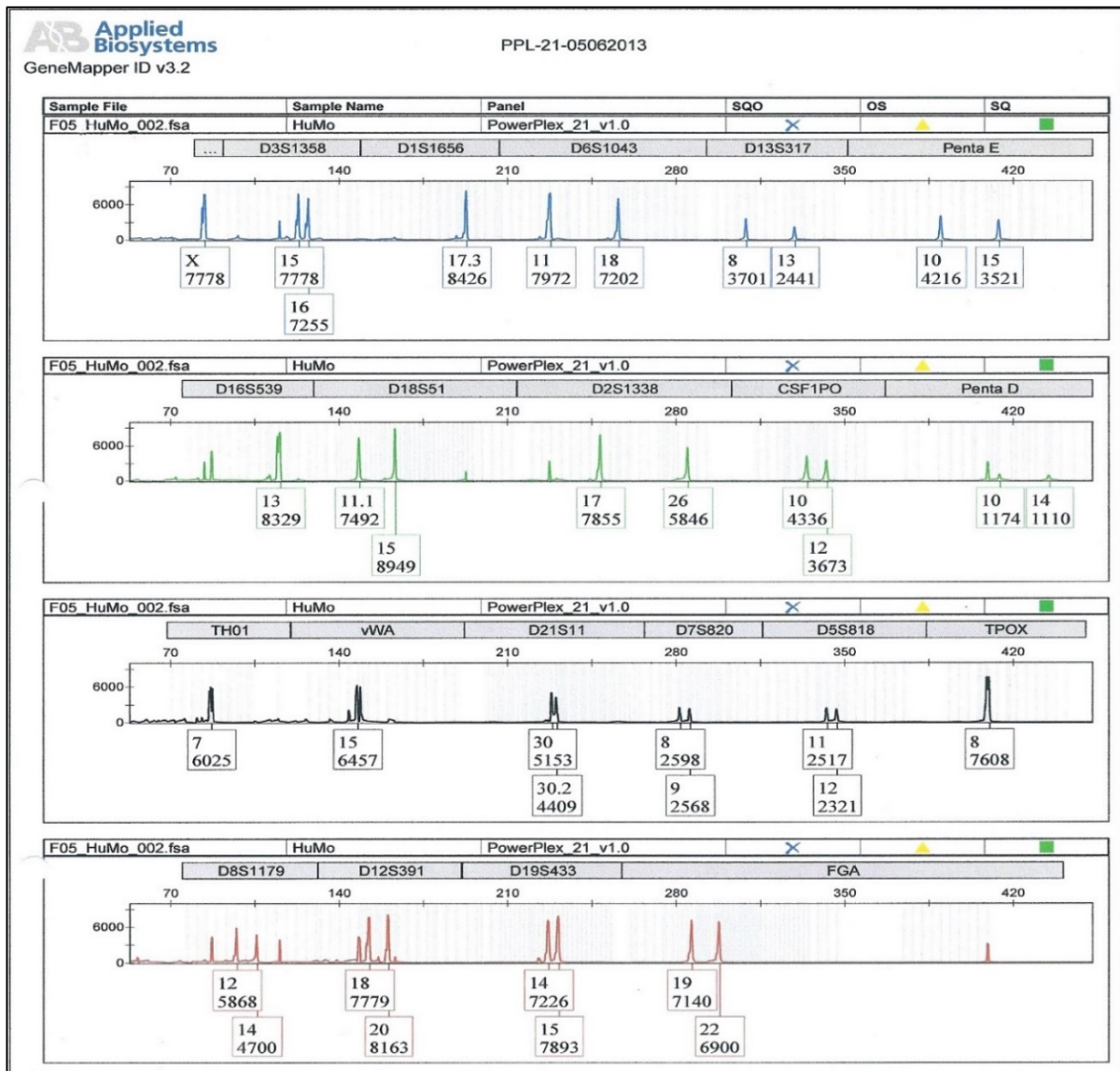
„allelische Leiter“ analysiert – ein mit Farbe markierter DNA-Längenstandard. Dieser beinhaltet eine Mischung von Allelen, deren Wiederholungseinheiten bereits für das einzelne Multiplex-System festgelegt sind. So konnten einzelne Allele sicher zugeordnet werden. Durch ein optisches Kamerasystem wurden die Fluoreszenzsignale aufgenommen und anhand der Wellenlänge und Signalstärke einzelner Fragmente in digitale Messwerte umgewandelt. Durch den Vergleich mit der vorgegebenen „allelischen Leiter“ konnten diese Werte bestimmten Allelen einzelner STR-Systeme zugeordnet werden, abhängig von der Farbmarkierung und der Fragmentlänge. Dieser Prozess wurde mit Hilfe der GeneMapper® ID Software v3.2 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) [Applied Biosystems 2006] automatisiert durchgeführt. Anschließend mussten die Ergebnisse manuell mit den Allelleitern und den STRs der untersuchten Personen abgeglichen werden. Dieser Arbeitsschritt wurde von einem weiteren wissenschaftlichen Mitarbeiter zur Kontrolle wiederholt. Als Ergebnis der Analyse entstand ein s.g. Elektropherogramm – eine graphische Darstellung der Ergebnisse der Elektrophorese (Abbildung 1). Es zeigt ein Gesamtbild aus vielen Peaks. Dabei werden Peaks, die kleiner als 50 RFU oder größer als 3000 RFU sind, in der Regel verworfen, um falsche Ergebnisse durch etwaige Kontaminationen zu vermeiden. Ggf. muss die Messung wiederholt werden. Ein Elektropherogramm ist für jeden einzelnen Menschen individuell. Aufgrund des einzigartigen Musters wird es auch als „genetischer Fingerabdruck“ bezeichnet. Die Ausnahme bilden die eineiigen Zwillinge, welche auf genetischer Ebene im Normalfall komplett identisch sind [von Wurmb-Schwark 2004 b].

## **2.3 Biostatistische Berechnung und Hypothesenerstellung**

### **2.3.1 Vollgeschwister**

Für die Berechnung der Geschwisterwahrscheinlichkeiten wurde das Programm „W-VAT“ zur biostatistischen Abstammungsbegutachtung von M. B. Baur, R. Fimmers, W. Spitz, Version 2.0.2.4. (Bonn, Deutschland) verwendet. Hier wurden die Ergebnisse aus den Rohdaten der genetischen Typisierung (den Elektropherogrammen, siehe Abbildung 1) eingegeben.

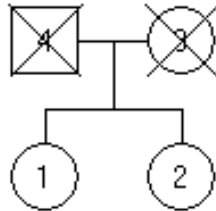




**Abbildung 1: Elektropherogramm.** Erstellt nach kapillarelektrophoretischer Auftrennung und Auswertung am ABIPrism3130 Analyzer (Applied Biosystems). PCR-Typisierung nach Multiplex-PCR mit Powerplex® 21. Darstellung von 20 Genorten (in grauen Kästchen) einer Person plus geschlechtsspezifischem Amelogenin (hier „X“). Je nach Länge wird jeweils ein Peak eines STR-Merkmal einem bestimmten Allel zugeordnet.

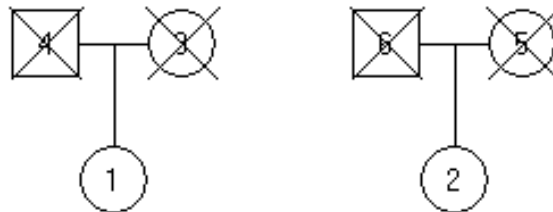
Jedes Personenpaar wurde unter der „Geschwisternummer“, z.B. GW01, eingegeben und im Computer gespeichert. Dabei wurden die folgenden Hypothesen aufgestellt:

**Hypothese 1:** Bei beiden Personen (1 und 2) handelt es sich um Vollgeschwister, sie haben dieselbe Mutter (3) und denselben Vater (4).



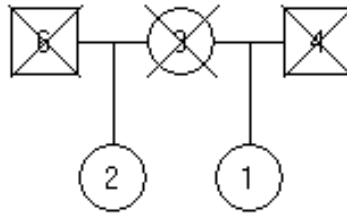
**Abbildung 2: Hypothese 1.** Person 1 und Person 2 sind die beiden untersuchten Personen. Sie sind Vollgeschwister. Person 3 ist die gemeinsame Mutter, Person 4 der gemeinsame Vater. Kreis steht für weibliches Geschlecht, Quadrat für männliches Geschlecht. Durchgestrichen sind Personen, deren genetisches Material nicht zur Untersuchung vorlag.

**Hypothese 2:** Die beiden Personen (1 und 2) sind nicht miteinander verwandt, sie haben völlig unterschiedliche Eltern (3 und 4, 5 und 6).



**Abbildung 3: Hypothese 2.** Person 1 und Person 2 sind die beiden untersuchten Personen. Sie sind miteinander nicht verwandt. Person 3 ist die Mutter der Person 1. Person 4 ist der Vater der Person 1. Person 5 ist die Mutter der Person 2. Person 6 ist der Vater der Person 2. Kreis steht für weibliches Geschlecht, Quadrat für männliches Geschlecht. Durchgestrichen sind Personen, deren genetisches Material nicht zur Untersuchung vorlag.

**Hypothese 3:** Die beiden Personen (1 und 2) sind Halbgeschwister. Sie haben dieselbe Mutter (3) aber unterschiedliche Väter (4 und 6).



**Abbildung 4: Hypothese 3.** Person 1 und Person 2 sind die beiden untersuchten Personen. Sie sind Halbgeschwister. Person 3 ist die Mutter der Person 1 und der Person 2. Person 4 ist der Vater der Person 1. Person 6 ist der Vater der Person 2. Kreis steht für weibliches Geschlecht, Quadrat für männliches Geschlecht. Durchgestrichen sind Personen, deren genetisches Material nicht zur Untersuchung vorlag.

Es wurde die einzusetzende Population gewählt, in diesem Fall Kaukasier. Dann wurde der Berechnungsfall dem Programm vorgegeben. Dabei wurden folgende drei Fälle betrachtet:

**Fall 1:** „Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei miteinander verglichene Personen Vollgeschwister (Hypothese 1) sind, ist höher, als die Wahrscheinlichkeit, dass sie nicht verwandt (Hypothese 2) sind“.

**Fall 2:** „Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei miteinander verglichene Personen Halbgeschwister (Hypothese 3) sind, ist höher, als die Wahrscheinlichkeit, dass sie nicht verwandt (Hypothese 2) sind“.

**Fall 3:** „Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei miteinander verglichene Personen nicht verwandt (Hypothese 2) sind, ist höher, als die Wahrscheinlichkeit, dass sie Vollgeschwister (Hypothese 1) oder Halbgeschwister (Hypothese 3) sind“.

Die Durchführung der biostatistischen Berechnung erfolgte anhand der STR-Daten zweier Personen, die den einzelnen Elektropherogrammen entnommen wurden. Die Allele wurden für die jeweils beteiligte Person für jedes STR-Merkmal in die generierten Tabellen eingetragen (siehe Tabelle 3 und Tabelle 4). Die Berechnung der jeweiligen Wahrscheinlichkeiten, anlehnend an den einzelnen Berechnungsfall (Fall 1, Fall 2 oder Fall 3), erfolgte automatisch mit Hilfe der im Computer-Programm hinterlegten Daten. Grundlage für diese Daten bilden die

Häufigkeiten der bei den Geschwistern übereinstimmenden Allele in der gegebenen Population. Nach der Berechnung und Zusammenfügung der Wahrscheinlichkeiten für die einzelnen, unten dargestellten STR-Merkmale ergab sich eine Gesamtwahrscheinlichkeit für das Vorliegen des jeweils untersuchten Falls.

Als Algorithmus dient dem o.g. Computer-Programm die von Essen-Möller und Quensel 1939 aufgestellte Formel zur Berechnung von Vaterschaftswahrscheinlichkeiten. Damals wurde sie zur Objektivierung von den s.g. „Ähnlichkeitsgutachten“ erarbeitet und lautete:

$$W = \frac{1}{1 + \frac{Y}{X}}$$

„W“ steht dabei für die zu berechnende Wahrscheinlichkeit, „X“ für das Verhältnis der Merkmalshäufigkeit unter „wahren Vätern“ (bzw. hier unter echten Geschwistern), „Y“ für das Verhältnis der Merkmalshäufigkeit unter „falschen Vätern“ (bzw. hier unter nicht Verwandten). Eine a-priori-Wahrscheinlichkeit von 50% wurde festgelegt. Das bedeutet, dass vor der jeweiligen Untersuchung die Chancen für das Vorliegen und Nichtvorliegen einer Vaterschaft bei dem Putativvater gleich hoch sind. Für die Einbeziehung mehrerer Merkmale in die Berechnung wurde die Formel wie folgt modifiziert:

$$W = \frac{1}{1 + \frac{Y_1}{X_1} \cdot \frac{Y_2}{X_2} \cdot \frac{Y_3}{X_3} \dots}$$

Damit konnte die Häufigkeit der Kombination von mehreren Merkmalskonstellationen dargestellt werden [Essen-Möller und Quensel 1939].

Es wird deutlich, dass dieser Formel ein Vergleich von Hypothesen zugrunde liegt. Die Berechnungen für die Fälle 1 und 2 erfolgten anhand des Vergleichs von jeweils zwei Hypothesen. Daher werden sie in dieser Arbeit als s.g. „2er Hypothese“ bezeichnet. Ein Beispiel dafür ist in Tabelle 3 aufgeführt. Die Tabelle zeigt eine berechnete Wahrscheinlichkeit (W-Wert) dafür, dass die beiden untersuchten Personen Vollgeschwister sind. Bei einem W-Wert von über 99,9% ist eine Verwandtschaft als höchst wahrscheinlich anzusehen. Die Wahrscheinlichkeit, dass die beiden Personen dagegen nicht verwandt sind, läge in diesem Fall bei „100 – die errechnete Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft“. Die Wahrscheinlichkeit für eine Halbgeschwisterschaft wurde dabei außer Acht gelassen.

Um alle drei betrachteten Hypothesen in die Berechnungen einzubeziehen, wurde die s.g. „3er Hypothese“ erstellt. Diese verglich die Wahrscheinlichkeiten für die drei o.g. Hypothesen

gegeneinander. Somit ergaben sich drei W-Werte. Der jeweilige W-Wert entspricht dabei der Verteilung der Gesamtwahrscheinlichkeit von 100% auf die jeweilige erstellte Hypothese. Die Darstellung einer „3er Hypothese“ ist in Tabelle 4 zu sehen.

**Tabelle 3:** Berechnung der Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft (Fall 1) anhand der „2er Hypothese“ für das Paar GW03. **Kursiv** ist die berechnete Gesamtwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft zwischen Person 1 und Person 2 hervorgehoben. W-Wert steht für Wahrscheinlichkeitswert.

<i>STR-Merkmal</i>	<i>Allele Person 1</i>	<i>Allele Person 2</i>	<i>W-Wert (in %)</i>
D3S1358	16/18	16/18	83,5619
TH01	7/8	7/8	89,5533
D21S11	Var/31.2	Var	95,1174
D18S51	13/14	12/14	49,9065
Penta E	10/12	10/12	90,0596
D5S818	12/13	12/13	76,9330
D13S317	8/10	8/12	53,2502
D7S820	11	11	90,3070
D16S539	9	9/12	72,1173
CSF1PO	12	12	81,1858
Penta D	10/11	11/16	51,7460
VWA	18/19	17/18	45,0156
D8S1179	12/15	12/15	92,3562
TPOX	8	8	66,8415
FGA	22	22	92,4504
<b><i>Gesamt</i></b>			<b><i>&gt; 99,999999</i></b>

**Table 4:** Berechnung der Wahrscheinlichkeiten für das Nichtverwandtsein (Fall 3) anhand der „3er Hypothese“ für das Paar GW03. **W1** entspricht der Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 1 (beide Personen sind Vollgeschwister), **W2** der Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 2 (beide Personen sind nicht miteinander verwandt), **W3** der Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 3 (beide Personen sind Halbgeschwister). **Kursiv** ist die Gesamtwahrscheinlichkeit für die jeweilige Hypothese dargestellt, welche insgesamt 100% ergibt.

<b>STR-Merkmal</b>	<b>Allele Person 1</b>	<b>Allele Person 2</b>	<b>W1 (in %)</b>	<b>W2 (in %)</b>	<b>W3 (in %)</b>
D3S1358	16/18	16/18	64,0750	12,6047	23,3203
TH01	7/8	7/8	71,9847	8,3973	19,6180
D21S11	Var/31.2	Var	48,4457	2,4868	49,0674
D18S51	13/14	12/14	30,7250	30,8400	38,4350
Penta E	10/12	10/12	72,1242	7,9608	19,9150
D5S818	12/13	12/13	56,3897	16,9075	26,7028
D13S317	8/10	8/12	32,2851	28,3439	39,3710
D7S820	11	11	69,6887	7,4800	22,8314
D16S539	9	9/12	40,2692	15,5693	44,1615
CSF1PO	12	12	58,3723	13,5274	28,1003
Penta D	10/11	11/16	31,5891	29,4574	38,9535
VWA	18/19	17/18	28,3542	34,6333	37,0125
D8S1179	12/15	12/15	76,4198	6,3248	17,2554
TPOX	8	8	45,4462	22,5448	32,0090
FGA	22	22	73,1302	5,9719	20,8979
<b>Gesamt</b>			<b>99,974652</b>	<b>0,000000</b>	<b>0,025348</b>

Des Weiteren war es wichtig, die Fälle in Abhängigkeit von der Anzahl der betrachteten STR-Merkmale miteinander zu vergleichen. Hierfür wurden die Proben zuerst mit Powerplex® 16 berechnet, später zusätzlich mit Powerplex® 18 und Powerplex® 21 nachuntersucht. Dadurch konnten von den 354 Vollgeschwisterpaaren bei 349 die Wahrscheinlichkeiten anhand der Berechnungen mit 15 Genorten, bei 130 Paaren mit 17 und bei 91 Paaren zusätzlich mit 19 Genorten bestimmt werden. Für alle betrachteten Paare galten jeweils die vorher festgelegten

Hypothesen und die drei Fälle, so dass sie miteinander vergleichbar waren. Die „3er Hypothese“ wurde jedoch nur für die Berechnung mit 15 STR-Merkmalen verwendet.

### **2.3.2 Halbgeschwister**

Bei den Halbgeschwistern wurden die gleichen Hypothesen festgelegt und Fälle betrachtet, wie bereits bei den Vollgeschwistern im Kapitel 2.3.1 (s.o.). Auch hier erfolgte die automatische Berechnung der Wahrscheinlichkeiten mit Hilfe des „W-VAT“-Programms (M.B. Baur, R. Fimmers, W. Spitz, Version 2.0.2.4., Bonn, Deutschland). Für die Betrachtung der unterschiedlichen Fälle wurden ebenfalls die „2er Hypothese“ und die „3er Hypothese“ erstellt. Insgesamt lagen in dieser Arbeit Daten von 32 Halbgeschwisterpaaren vor. Es wurden jedoch nur 30 von ihnen mit Powerplex® 16 untersucht. 29 Paare wurden zusätzlich mit Powerplex® 18 nachbestimmt und 11 Halbgeschwisterpaare mit Powerplex® 21. Alle Untersuchungen erfolgten sowohl anhand der „2er Hypothese“ als auch anhand der „3er Hypothese“.

### **2.3.3. Unverwandte Personen**

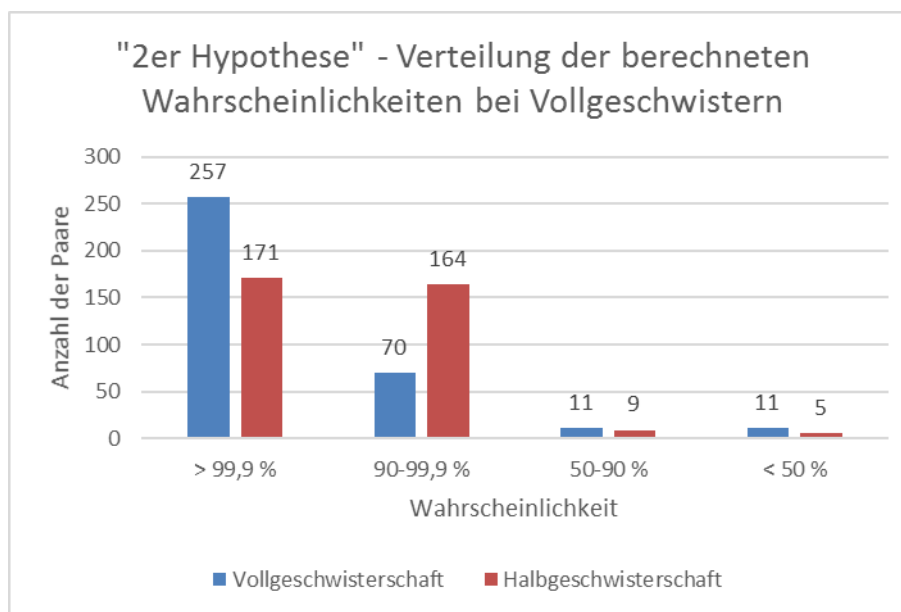
Bei den in Wirklichkeit nicht verwandten Personen wurden ebenfalls die gleichen Hypothesen zu Grunde gelegt, sowie die gleichen drei Fälle aufgestellt, wie bereits bei den Voll- und den Halbgeschwistern (siehe Kapitel 2.3.1). Auch an dieser Stelle erfolgte die Berechnung der Wahrscheinlichkeiten mit dem o.g. Computer-Programm. Für die 100 mit Powerplex® 21 untersuchten Paare wurden erneut Berechnungen nach der „2er Hypothese“ und nach der „3er Hypothese“ erstellt und die Ergebnisse zum Schluss miteinander verglichen. Leider wurde in dieser Gruppe keine Analyse mittels Powerplex® 16 oder Powerplex® 18 durchgeführt. Dadurch war der Vergleich mit den anderen hier untersuchten Personengruppen nur beschränkt möglich.

### 3. Ergebnisse

Es wurden insgesamt 486 Paare auf das Vorliegen einer Geschwisterschaft untersucht. Dabei wurde u.a. versucht herauszufinden, wie viele Merkmale für eine möglichst sichere Aussage, dass zwei Personen von den gleichen Eltern oder von einem gemeinsamen Elternteil abstammen, ausreichend sind. In erster Linie ging es aber darum, aus den gewonnenen Daten Rückschlüsse über eine mögliche Wahrscheinlichkeitsgrenze für den Nachweis einer Geschwisterschaft aufzuzeigen. Weiterhin wurde geprüft, ob eine entsprechende Anzahl an negativen Hinweisen in der Gesamtheit von Allelkonstellation für einen Geschwisterschaftsausschluss festgelegt werden kann. Es stand im Normalfall nur die DNA der potentiellen Geschwister zur Verfügung, nicht die der Eltern.

#### 3.1 Auswertung: Vollgeschwister

Von den 354 untersuchten Geschwisterpaaren wurden 349 mit Powerplex® 16 (Promega) identifiziert. 257 von diesen wiesen bereits, den Berechnungen nach der „2er Hypothese“ zufolge, eine Wahrscheinlichkeit von mindestens 99,9% für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft auf. Das entspricht 73,6% der untersuchten Geschwisterpaare. Bei 22 Paaren lag diese Wahrscheinlichkeit unter 90% (siehe Abbildung 5 und Tabelle 8 im Anhang).



**Abbildung 5: Verteilung der Wahrscheinlichkeiten in der Gruppe der Vollgeschwister nach der Berechnung mit der „2er Hypothese“.** Für die gleichen Paare wurden Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft (blau) und einer Halbgeschwisterschaft (rot) bestimmt. Jede Säule ist mit der Anzahl der Paare beschriftet, welche die unter den Säulen aufgeführten Wahrscheinlichkeitswerte für die jeweilige Hypothese erreichten. Die Berechnung erfolgte mit 15 STR-Merkmalen. Insgesamt wurden 349 Geschwisterpaare untersucht.



Diese 22 Geschwisterpaar-Proben wurden weiteren Untersuchungen unterzogen. Die Proben wurden erneut auf ihre Richtigkeit geprüft, die Beschriftungen der Proben wurden genauestens abgeglichen und erneute Elektropherogramme von 38 der 44 Proben erstellt. Diese zeigten keine Änderung gegenüber den bereits vorhandenen Elektropherogrammen.

Bei sechs männlichen Geschwisterpaaren wurde zusätzlich eine Y-STR-Analyse durchgeführt, um die Abstammung von dem gleichen Vater bei dem jeweiligen Geschwisterpaar nachzuweisen. Dies geschah mithilfe des Powerplex® Y23-Systems (Promega). Bei zwei Paaren (GW223, GW228) fiel der Y-STR-Haplotyp identisch aus, obwohl die initial errechnete Wahrscheinlichkeit, dass es sich um ein echtes Geschwisterpaar mit den gleichen Eltern handelt, bei weniger als 10% lag. Zwei andere Paare (GW91, GW94) zeigten ein einziges unterschiedliches Allel. Zwei der sechs untersuchten Geschwisterpaare (GW54, GW75) wiesen jedoch komplett unterschiedliche Y-STR-Haplotypen auf. Dieser interessante Sachverhalt wird später im Kapitel 4.1 diskutiert.

Des Weiteren wurden 130 Geschwisterpaare mit Powerplex® 18 (Promega) sowie 91 Paare mit Powerplex® 21 (Promega) untersucht. Damit sollte geprüft werden, ob die 15 Allele, die bisher für die STR-Analyse als Standard galten, tatsächlich ausreichend sind. In 23 Fällen stieg die jeweils errechnete Geschwisterwahrscheinlichkeit auf über 99,9% an, wenn 17 oder sogar 19 STR-Merkmale, statt wie üblicherweise 15, ermittelt wurden. In drei Fällen stieg die Wahrscheinlichkeit sogar von unter 80% auf über 99,9% an (Tabelle 5). Insgesamt hat sich die Wahrscheinlichkeit in 97 Fällen verbessert, wenn man mit 17 Allelen gerechnet hat. Der maximale Unterschied zwischen dem W-Wert bei der Berechnung mit 15 und mit 17 Merkmalen lag bei 76%. Zusätzlich verbesserte sich der W-Wert in 60 Fällen, wenn 19 STR-Merkmale in die Rechnung einbezogen waren. In diesem Fall lag der Unterschied maximal bei 58,2%.

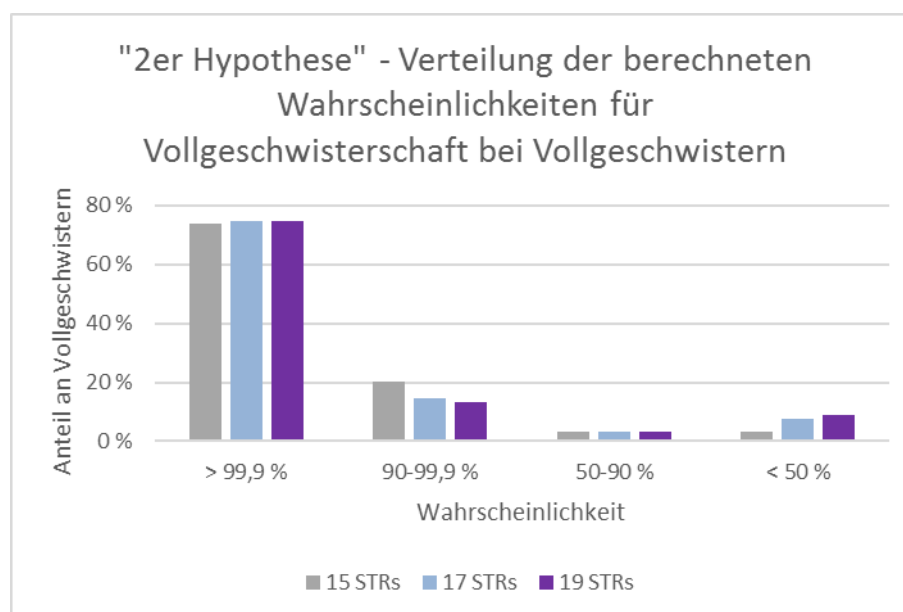
Man muss jedoch hinzufügen, dass der W-Wert sich in 29 Fällen bei der Erhöhung der Anzahl der STR-Merkmale auf 17 auch verschlechterte. Die maximale Reduzierung des W-Wertes lag bei 32,4%. Ebenfalls wurde er in 23 von 91 Fällen, die mit 19 Allelen berechnet wurden, niedriger, maximal um 7%. In sieben Fällen ging die Reduzierung der Geschwisterwahrscheinlichkeit sogar auf unter 99,9% herunter, in drei Fällen bei der Berechnung mit den Daten von Powerplex® 18 und in vier Fällen, wenn 19 Merkmale berücksichtigt wurden. In diesen Fällen handelte es sich um eine maximale Reduzierung der Wahrscheinlichkeit um 1,3% (Tabelle 6). Insgesamt wurde bei 74,6% der mit Powerplex® 18 und bei 74,7% der mit Powerplex® 21 untersuchten Paare eine Vollgeschwisterschaft festgestellt. Dieses Ergebnis ist u.a. in der Abbildung 6 dargestellt.

**Tabelle 5:** Erhöhung der Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit mit zunehmender Anzahl der STR-Merkmale auf über 99,9%. **Fett** sind die Werte mit dem Anstieg des W-Wertes auf über 99,9% dargestellt. **Kursiv** sind die Werte mit dem Anstieg des W-Wertes von unter 80% bei der Berechnung mit 15 Merkmalen auf über 99,9% bei der Berechnung mit 19 Merkmalen markiert worden.

<b>Geschwisterpaar (Vollgeschwister)</b>	<b>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft bei Berechnung mit</b>		
	<b>15 STRs (in %)</b>	<b>17 STRs (in %)</b>	<b>19 STRs (in %)</b>
<b>GW10</b>	22,512025	98,553541	<b>99,935622</b>
GW12	99,681724	<b>99,998412</b>	
<b>GW20</b>	77,72476	99,139067	<b>99,964805</b>
GW23	97,551478	<b>99,941515</b>	
GW29	99,477699	<b>99,944009</b>	
GW31	99,878325	<b>99,982334</b>	
GW34	98,190601	<b>99,973094</b>	
GW44	99,761064	<b>99,996982</b>	
<b>GW283</b>	52,004613	99,848559	<b>99,923994</b>
GW293	99,470746	99,125007	<b>99,930392</b>
GW296	99,81734	<b>99,925738</b>	99,672897
GW302	99,04565	99,678085	<b>99,999774</b>
GW307	97,692221	99,748521	<b>99,928557</b>
GW321	99,835992	<b>99,99527</b>	<b>99,997795</b>
GW322	99,445883	99,255453	<b>99,995967</b>
GW324	99,613272	<b>99,988534</b>	<b>99,997883</b>
GW327	99,679342	<b>99,967547</b>	<b>99,990034</b>
GW328	99,581858	<b>99,916643</b>	99,720324
GW342	99,807097	<b>99,997003</b>	<b>99,991226</b>
GW346	99,766613	<b>99,990328</b>	<b>99,968076</b>
GW347	99,866603	<b>99,953614</b>	<b>99,992077</b>
GW352	99,775247	99,762828	<b>99,99218</b>
GW354	97,469259	<b>99,967903</b>	<b>99,99262</b>

**Table 6:** Verschlechterung der Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit mit zunehmender Anzahl der STR-Merkmale auf weniger als 99,9%. **Fett** sind die Werte markiert, die diese Reduktion der Wahrscheinlichkeit nachweisen.

<b>Geschwisterpaar (Vollgeschwister)</b>	<b>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft bei Berechnung mit</b>		
	<b>15 STRs (in %)</b>	<b>17 STRs (in %)</b>	<b>19 STRs (in %)</b>
GW296	99,81734	99,925738	<b>99,672897</b>
GW298	99,964428	99,958607	<b>99,341797</b>
GW299	99,916231	<b>98,676323</b>	99,979789
GW314	99,933869	<b>99,613913</b>	99,933869
GW315	99,966047	<b>99,814435</b>	99,901932
GW328	99,581858	99,916643	<b>99,720324</b>
GW331	99,996625	99,946033	<b>99,762129</b>



**Abbildung 6:** Verteilung der Wahrscheinlichkeiten für Vollgeschwisterschaft nach der Berechnung mit der „2er Hypothese“ in der Gruppe der echten Vollgeschwister. Es wurde die Wahrscheinlichkeitsberechnung für die gleichen Paare mit jeweils 15 (grau), 17 (blau) und 19 (violett) STR-Merkmalen durchgeführt.

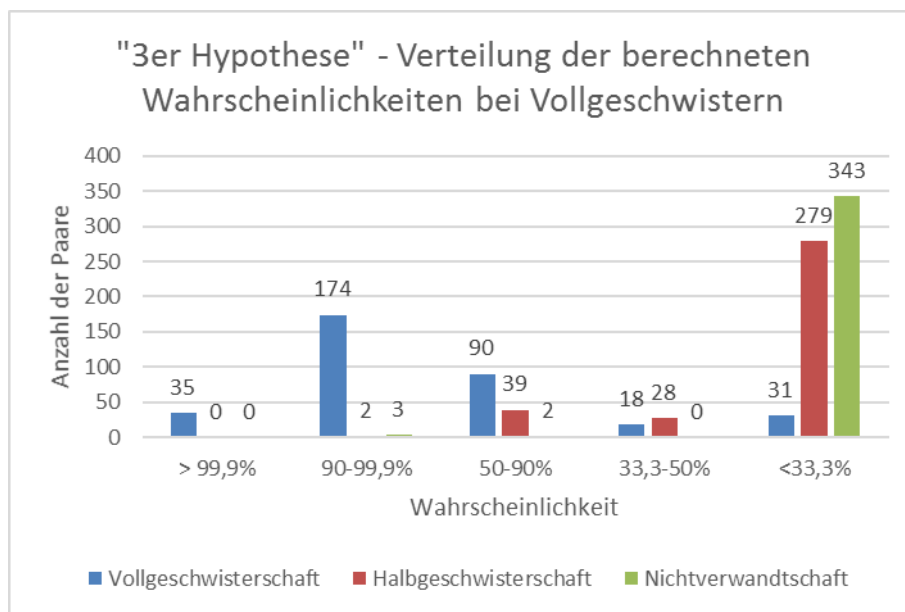
### 3.1.1 Hypothese 1

Weiterhin wurden in dieser Arbeit verschiedene Hypothesen untersucht. Bei der Hypothese 1 wurde angenommen, dass beide Personen Vollgeschwister sind und dieselben Eltern haben. Bei der Überprüfung dieser Hypothese mit 15 STR-Merkmalen konnte unter allen 349 untersuchten Vollgeschwisterpaaren eine maximale Wahrscheinlichkeit von 99,99% festgestellt werden. Diese Zahl traf auch auf die Berechnung mit 17 und 19 STR-Merkmalen zu. Die minimal

errechnete Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft betrug bei der Untersuchung mit der Powerplex® 16-Methode 0,0013%, mit der Powerplex® 18-Methode 0,0005% und mit der Powerplex® 21-Methode 0,00003 %. Der Mittelwert lag bei 15 untersuchten Allelen bei 96,02%, bei 17 untersuchten Merkmalen bei 92,34% und bei 19 Allelen bei 90,25%. Das niedrige prozentuale Ergebnis wurde durch die Anwesenheit einiger Ausreißer-Werte begründet. Mittels Berechnung des Medians wurde diesen ein entsprechend geringerer Einfluss zuteil. Dieser lag bei der Berechnung mit 15 Allelen bei 99,995%, mit 17 Allelen bei 99,997% und mit 19 Allelen ebenfalls bei 99,997%.

### 3.1.2 Hypothese 2

Die Hypothese 2 sagte aus, dass beide untersuchten Personen nicht miteinander verwandt sind und völlig unterschiedliche Elternteile haben. Da es bisher keine Richtlinien für die Bestimmung der Geschwisterschaft gibt, wurde von den Empfehlungen des Robert-Koch-Instituts für die Bestimmung von Vaterschaften ausgegangen. Diese besagen, dass bei einem W-Wert von >99,9% das verbale Prädikat „praktisch erwiesen“ vergeben wird. Theoretisch könnte man annehmen, dass jedes Geschwisterpaar, das den W-Wert von 99,9% nicht erreicht, zur Hypothese 2 passen würde. Allerdings muss man noch die Wahrscheinlichkeit dafür in Betracht ziehen, dass bei einigen Geschwisterpaaren nur ein Elternteil gemeinsam ist (entsprechend der Hypothese 3). Um das berücksichtigen zu können, wurde eine „3er Hypothese“ erstellt. Diese wurde mit Hilfe des Computer-Programms zur biostatistischen Abstammungsbegutachtung „W-VAT“ für die 348 mit Powerplex® 16 errechneten Geschwisterpaare angewendet. Sie zeigte letztendlich, welche Wahrscheinlichkeit höher war, um jeweils die Hypothese 1, 2 oder 3 nachzuweisen. Wenn sie für alle 3 Hypothesen gleich hoch wäre, so würde sie jeweils 33,3% betragen. Soll also nachgewiesen werden, dass zwei Menschen miteinander nicht verwandt sind, müsste demnach der W-Wert für die Hypothese 2 über 33,3% liegen. Man muss allerdings beachten, dass es nie zur gleichmäßigen Aufteilung der Wahrscheinlichkeit kommt, sprich, wenn die Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 3 z.B. bei 40% läge, kann es immer noch sein, dass die Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 1 bei 45% und für die Hypothese 2 bei 15% liegt. Aus diesem Grund müssen die Fälle, bei denen die Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Hypothese zwischen 33,3% und 50% liegt, immer einzeln betrachtet werden. In fünf Fällen von den 348 Vollgeschwistern lag die Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 2 bei über 50%, so dass nur hier die Hypothese 2 fälschlicherweise angenommen werden konnte. Dieses Ergebnis ist auch in der Abbildung 7 zu sehen.



**Abbildung 7: Verteilung der Wahrscheinlichkeiten nach der Berechnung mit der „3er Hypothese“ in der Gruppe der Vollgeschwister.** Bei jedem Paar in dieser Gruppe wurden anhand einer Berechnungsmethode Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen von Vollgeschwisterschaft (blau), Halbgeschwisterschaft (rot) und Nichtverwandtschaft (grün) bestimmt. Jede Säule ist mit der Anzahl der Paare beschriftet, welche die unter den Säulen aufgeführten Wahrscheinlichkeitswerte für die jeweilige Hypothese erreichten. Die Berechnung erfolgte mit 15 STR-Merkmalen. Insgesamt wurden 348 Paare untersucht.

### 3.1.3 Hypothese 3

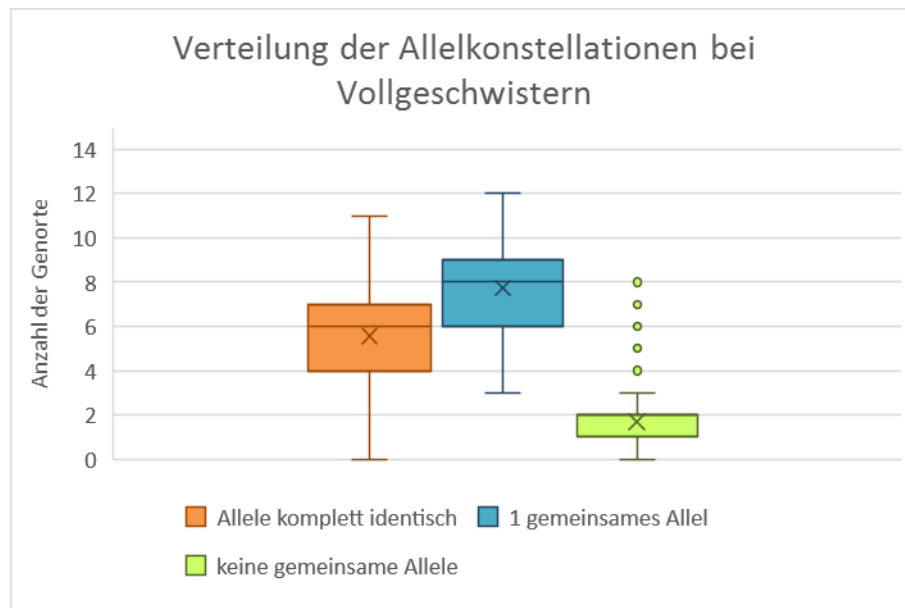
Bei der Hypothese 3 wurde davon ausgegangen, dass die beiden untersuchten Personen Halbgeschwister sind und eine gemeinsame Mutter aber unterschiedliche Väter haben. Tatsächlich konnte man bei den meisten echten Geschwistern beinahe mit gleicher Wahrscheinlichkeit sagen, dass diese Halbgeschwister seien, wenn man auch bei dieser Hypothese die Mindestgrenze von 99,9% erreicht. So wiesen von den 349 mit Powerplex® 16 untersuchten Geschwisterpaaren nach der Berechnung mit der „2er Hypothese“ 171 diesen Wert auf (siehe Abbildung 5). In insgesamt 50 Fällen ließ sich eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine Halbgeschwisterschaft als für eine Vollgeschwisterschaft nachweisen. Nur in drei dieser Fälle konnte jedoch der Wahrscheinlichkeitswert 99,9% erreicht werden. Bei einem dieser Fälle lag die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft sogar unter 99,9%. In den restlichen 47 Fällen konnte die 99,9% -Grenze nicht erreicht werden (siehe Anhang, Tabelle 9). Genauso wurde diese Hypothese mit jeweils 17 und 19 errechneten Merkmalen überprüft. Bei den 130 mit Powerplex® 18 bestimmten Fällen wurden 22 Fälle nachgewiesen, in denen die Wahrscheinlichkeit für eine Halbgeschwisterschaft höher lag als für eine Vollgeschwisterschaft. Bei 91 mit Powerplex® 21 bestimmten Fällen waren es sogar 24

Geschwisterpaare, die eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine Halbgewwisterschaft aufwiesen.

Da es sich bei den Probanden um echte Geschwister handelte, ist es positiv anzumerken, dass die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft insgesamt höhere Wahrscheinlichkeitswerte zeigte, als für das Vorliegen einer Halbgewwisterschaft. Eine entsprechende Darstellung dieser Ergebnisse liefert Abbildung 5.

#### **3.1.4 Allelhäufigkeit bei den Vollgeschwistern**

Als Nächstes wurde die statistische Auswertung für die mit Powerplex® 16 berechneten Daten durchgeführt, welche zeigte, wie viele Genorte bei dem jeweiligen Geschwisterpaar übereinstimmen müssen, um deren Vollgeschwisterschaft nachweisen zu können. So wurde für jedes Paar explizit ausgerechnet, in wie vielen Allelen die zwei Geschwister miteinander komplett, zur Hälfte oder gar nicht übereinstimmten. Dabei wurde nicht darauf geachtet, um welche Genorte es sich speziell handelte. Unabhängig von dem errechneten W-Wert wurde maximal in 11 von den 15 untersuchten Genorten eine komplette Übereinstimmung festgestellt, und zwar in nur zwei Fällen (GW215 und GW336). In zwei anderen Fällen gab es gar keine Genloci mit einer kompletten Übereinstimmung (GW52 und GW54). Beide Fälle gehörten jedoch zu den bereits oben erwähnten „Ausreißern“ und lagen bei einer Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft unter 0,1%. Wie es zu solchen Ausreißer-Werten kommen konnte, wird später im Kapitel 4 diskutiert. Im Durchschnitt stimmten die Vollgeschwister in 5,56 Genorten komplett überein. Der Median lag bei 6. Weiterhin gab es Genloci, die nur in einem der beiden Allele übereinstimmten. Maximal konnten bei den 349 untersuchten Vollgeschwistern 12 solche Genorte festgestellt werden, minimal waren es 3, durchschnittlich wiederum 7,75. Der Median lag hier bei 8. Zudem gab es Genorte, die komplett unterschiedlich waren. In den hier untersuchten Proben gab es eine Spanne zwischen 0 und 8 Genorten, die bei beiden Geschwistern gar nicht übereinstimmten. Wobei die Werte über 3 unter der Annahme der Normalverteilung als Ausreißer identifiziert wurden. Im Durchschnitt waren es 1,69 Genloci, die komplett unterschiedliche Allele besaßen. Der Median lag bei 2. Diese Werte sind der untenstehenden Abbildung 8 zu entnehmen.



**Abbildung 8: Verteilung der Allelkonstellationen bei 349 Vollgeschwisterpaaren.** Von den 15 untersuchten Genorten gab es in jedem der untersuchten Fälle eine bestimmte Anzahl an Allelpaaaren, die komplett übereinstimmten (orange), nur in einem der beiden Allele gleich waren (blau) oder gar kein gemeinsames Allel aufwiesen (grün). Für jede Konstellation ist die Spannweite mit einem minimalen (unterer „Whisker“) und einem maximalen (oberer „Whisker“) Wert, sowie der Mittelwert (Kreuz) und der Median (Linie in dem Kasten) dargestellt. Der Median im grünen Kasten fällt mit dem oberen Quartil zusammen und ist deshalb nicht deutlich zu erkennen. Außerdem sind hier die „Ausreißer“ zu sehen (Punkte).

Um die Ausreißer möglichst ausschließen zu können, wurde entschieden die Allelhäufigkeit nur für die 257 Fälle mit dem W-Wert von mindestens 99,9% zu betrachten. So zeigten die Ergebnisse eine komplette Übereinstimmung in mindestens 3 Genorten, maximal in 11, durchschnittlich in 6,28. Einen deutlichen Unterschied gab es bei den komplett unterschiedlichen Allelen der Geschwisterpaare. Hier waren es maximal 4, minimal 0 und im Schnitt 1,25. Bei der Anzahl der nur in einem Allel übereinstimmenden Genorte änderte sich kaum etwas. Es waren durchschnittlich 7,47.

Genauso wurde die Berechnung für die Fälle mit dem W-Wert unter 99,9% durchgeführt. Diese zeigte eine signifikant niedrigere Anzahl der komplett gleichen Allele (Maximalwert 6, Minimalwert 0, durchschnittlich 3,58) und eine viel höhere Anzahl an komplett unterschiedlichen Allelen (mindestens 1, maximal 8, durchschnittlich 2,86). In der Auswertung der Genloci mit Übereinstimmungen in einem Allel lag der Mittelwert bei 8,56. Die maximale Anzahl solcher Genloci lag bei 12, die minimale bei 5.

## 3.2 Auswertung: Halbgeschwister

In dieser Arbeit wurden 32 echte Halbgeschwisterpaare untersucht. Auch hier wurde der W-Wert von mindestens 99,9%, anlehnend an die Richtlinien zur Bestimmung von Vaterschaften, als Richtwert für das Vorliegen einer Verwandtschaft angenommen. Das genetische Material von 30 Halbgeschwisterpaaren wurde mit der Powerplex® 16-Methode untersucht. Von diesen konnte nur in zwei Fällen (HGW24, HGW31) eine Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit von über 99,9% ermittelt werden. Dabei lag bei einem dieser zwei Paare (HGW24) die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft insgesamt höher als für eine Halbgeschwisterschaft. Weiterhin gab es ein Halbgeschwisterpaar (HGW14), welches eine Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit mit dem W-Wert von über 99,9% (99,98%) erreichte, jedoch bei der Berechnung der Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit einen W-Wert unter 99,9% (99,85%) aufwies. Alle anderen mit Powerplex® 16 untersuchten Halbgeschwisterpaare konnten die 99,9%-Grenze nicht erreichen.

Des Weiteren wurden 29 Halbgeschwisterpaare mit Powerplex® 18, sowie elf zusätzlich mit Powerplex® 21 nachuntersucht. Diese Nachuntersuchungen ergaben jedoch keine wesentlichen Veränderungen im Vergleich zu den Untersuchungen mit Powerplex® 16. Insgesamt verbesserte sich die Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit bei der Genortbestimmung mittels 17 Merkmale in 15 Fällen, maximal um 19,81% (HGW30) und minimal um 0,008% (HGW14), in 14 Fällen gab es jedoch eine Verschlechterung um maximal 12,37% (HGW01) und minimal 0,45% (HGW29). Bei der Bestimmung der Genorte mittels Powerplex® 21 stieg die Wahrscheinlichkeit im Vergleich zur Untersuchung mit 17 Merkmalen zusätzlich in neun Fällen an, maximal um 40% (HGW01), minimal um 0,08% (HGW14). In zwei Fällen ist die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Halbgeschwisterschaft jedoch mit zunehmender Anzahl der untersuchten Genorte gesunken, um maximal 5,33% (HGW03) und minimal 5,3% (HGW13). Nur in einem Fall (HGW14) konnte durch die Erhöhung der Anzahl der verglichenen Merkmale auf 19 der W-Wert von 99,9% für den Nachweis einer Halbgeschwisterschaft erreicht werden. Trotzdem blieb diese Wahrscheinlichkeit insgesamt niedriger, als die für die Vollgeschwisterschaft, gemessen mit der gleichen Methode.

### 3.2.1 Hypothese 1

Der Hypothese 1 zufolge sind beide miteinander verglichenen Personen Vollgeschwister. Tatsächlich waren in dieser Gruppe jedoch alle untersuchten Paare Halbgeschwister. Insgesamt konnte von den 30 Paaren, die mit Powerplex® 16 untersucht wurden, nur bei zwei Paaren



(HGW24, HGW31) eine Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit von mindestens 99,9% nachgewiesen werden. Bei der Untersuchung mit Powerplex® 18 waren es drei (HGW14, HGW24, HGW31) und bei der Bestimmung von 19 Merkmalen nur ein Halbgeschwisterpaar (HGW14), das einen W-Wert von über 99,9% für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft aufwies.

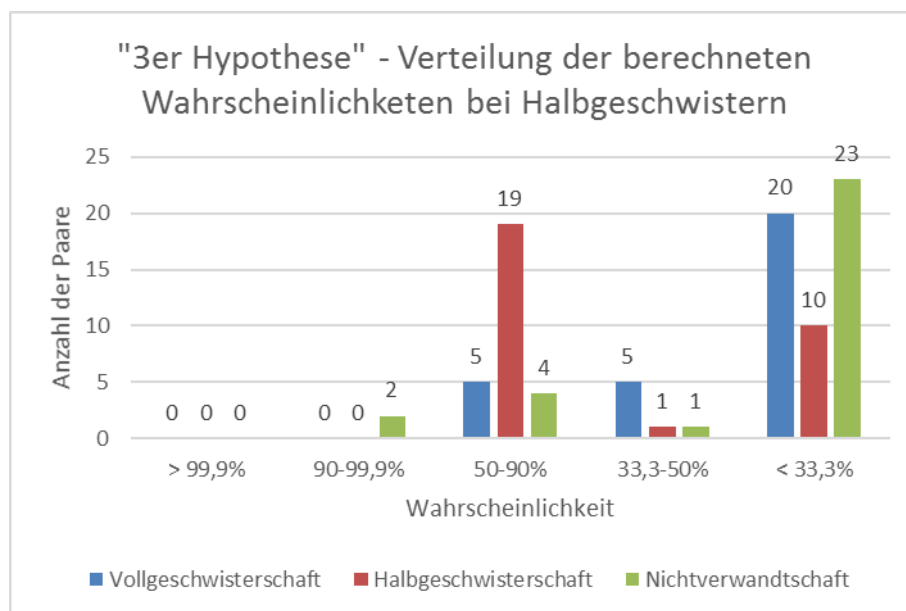
In fünf der mit Powerplex® 16 bestimmten Fällen war die Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit höher als die Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit. Dabei betrug der Unterschied maximal 3,38% (HGW13) und minimal 0,07% (HGW24). Der gleiche Sachverhalt wurde für die mit Powerplex® 18 bestimmten Fälle berechnet. In sieben dieser Fälle war die Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft höher als für die Halbgeschwisterschaft mit maximal 1,67% (HGW13) und minimal 0,004% (HGW31) Unterschied zueinander. Bei den elf Fällen, die mit Powerplex® 21 bestimmt wurden, waren es zwei, welche eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft als für die Halbgeschwisterschaft aufwiesen. Hier lag der maximale Unterschied bei 3,43% (HGW 13) und der minimale bei 0,03% (HGW14).

Der maximal errechnete W-Wert für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft bei den 30 mit Powerplex® 16 untersuchten Paaren lag bei 99,991%, bei 17 bestimmten Genorten bei 99,999%, bei 19 Genorten bei 99,978%. Der minimale Wert lag bei 0,054% bei 15 Genorten, bei Berechnung mit Powerplex® 18 und 21 jeweils bei 0,004% und 0,007%. Der Mittelwert wurde ebenfalls ermittelt und lag für die Berechnung mit 15 Genorten bei 55,76%, mit 17 Genorten bei 55,89% und bei 19 Genorten bei 44,67%. Um den Einfluss der Ausreißer möglichst zu verringern, wurde der Median ermittelt. Dieser lag bei 59,49% für die mit Powerplex® 16 berechneten Daten, bei 66,12% für 17 Genorte und bei 30,63% bei 19 bestimmten Genorten.

### 3.2.2 Hypothese 2

Die Hypothese 2 besagt, dass beide untersuchten Personen unterschiedliche Eltern haben und somit nicht verwandt seien. Wenn nun angenommen wird, dass zum Nachweis der Verwandtschaft ein W-Wert von mindestens 99,9% notwendig ist, kann damit bei 27 der 30 mit Powerplex® 16 untersuchten Halbgeschwisterpaaren eine Verwandtschaft ausgeschlossen werden. Ebenso gilt dies für die 26 der 29 mit Powerplex® 18 untersuchten Paare, sowie für die zehn von den elf Paaren, die mit Powerplex® 21 nachuntersucht wurden. Aus diesem Grund wurde hier, wie bereits für die Vollgeschwister, eine „3er Hypothese“ erstellt, welche die Wahrscheinlichkeiten für die Hypothesen 1, 2 und 3 im Vergleich zueinander darstellt. Bei der Gruppe mit 15 bestimmten Genorten fanden sich sechs Fälle (HGW01, HGW03, HGW07,

HGW10, HGW11, HGW15), deren Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 2 über 50% lag. In einem der 30 Fälle lag die Wahrscheinlichkeit dabei über 33,3% aber unter 50% (HGW25). Nach genauerem Betrachten konnte auch festgestellt werden, dass die Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 2 kleiner als für die Hypothese 3 war.



**Abbildung 9: Verteilung der Wahrscheinlichkeiten nach der Berechnung mit der „3er Hypothese“ in der Gruppe der Halbgeschwister.** Bei jedem Paar in dieser Gruppe wurden Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen von Vollgeschwisterschaft (blau), Halbgeschwisterschaft (rot) und Nichtverwandtschaft (grün) bestimmt. Jede Säule ist mit der Anzahl der Paare beschriftet, welche die unter den Säulen aufgeführten Wahrscheinlichkeitswerte für die jeweilige Hypothese erreichten. Die Berechnung erfolgte mit 15 STR-Merkmalen. Insgesamt wurden 30 Paare untersucht.

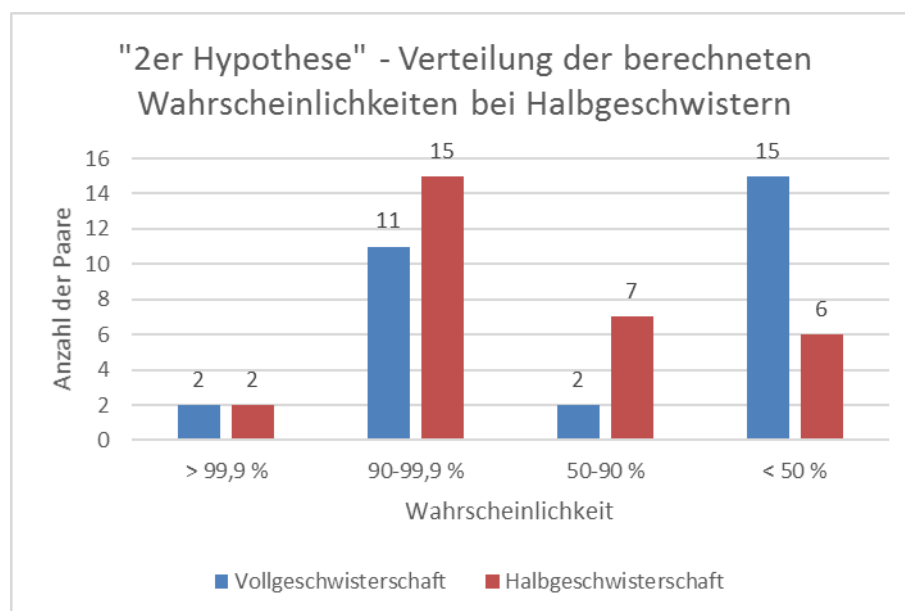
Ein ähnliches Ergebnis wurde bei der Untersuchung der Daten mit 17 Genorten errechnet, allerdings lag hier die Wahrscheinlichkeit zwischen 33,3% und 50% bei einem anderen Halbgeschwisterpaar (HGW20). Und bei den elf mit Powerplex® 21 untersuchten Probandenpaaren waren es vier Fälle, welche alle über 50% lagen und damit die Hypothese 2 bestätigten. Bei dem Halbgeschwisterpaar HGW11 zeigte sich ein deutlicher Abfall der Wahrscheinlichkeit für die Nichtverwandtschaft mit Hinzunahme der untersuchten Genorte von 70,15% bei der Untersuchung mit Powerplex® 16 auf 51,55% bei der Untersuchung mit Powerplex® 18 und auf 26,07% mit Powerplex® 21.

Insgesamt betrug der maximal errechnete W-Wert für das Vorliegen einer Nichtverwandtschaft bei den mit Powerplex® 16 untersuchten Paaren 95,67%, bei Bestimmung mit der Powerplex® 18-Methode 97,86% und bei 19 bestimmten Genorten 94,16%. Der minimale

Wert lag bei 0,008% bei 15 bestimmten Genorten, bei der Berechnung mit Powerplex® 18 und 21 jeweils bei 0,015% und 0,001%. Bei dem Mittelwert ergab sich für die Berechnung mit 15 Genorten ein Wert von 22,56%, mit 17 Genorten waren es 22,43% und bei 19 Genorten 28,8%. Der Median lag bei 7,45% für die mit Powerplex® 16 berechneten Daten, bei 3,15% für 17 Genorte und bei 10,81% bei 19 bestimmten Genorten.

### 3.2.3 Hypothese 3

Diese Hypothese sagt aus, dass die beiden untersuchten Personen nur ein gemeinsames Elternteil haben und somit Halbgeschwister sind. Das war bei den hier untersuchten Probanden tatsächlich gegeben. Insgesamt zeigten die Ergebnisse eine Tendenz Richtung höherer Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit. Jedoch konnte nur in einzelnen Fällen ein W-Wert von 99,9% erreicht werden, bei den mit Powerplex® 16 untersuchten Paaren waren es zwei Fälle, bei den mit Powerplex® 18 ebenfalls zwei und bei den mit Powerplex® 21 untersuchten Paaren nur ein Fall. Trotzdem wurde in den meisten Fällen eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft als für die Vollgeschwisterschaft nachgewiesen, Abbildung 10 verdeutlicht dies. Der maximale Unterschied bei den mit Powerplex® 16 ermittelten Fällen lag dabei bei 76,15% (HGW28), der minimale bei 0,02% (HGW31).



**Abbildung 10: Verteilung der Wahrscheinlichkeiten nach der Berechnung mit der „2er Hypothese“ in der Gruppe der Halbgeschwister.** Für die gleichen Paare wurden Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft (blau) und einer Halbgeschwisterschaft (rot) bestimmt. Jede Säule ist mit der Anzahl der Paare beschriftet, welche die unter den Säulen aufgeführten Wahrscheinlichkeitswerte für die jeweilige Hypothese erreichten. Die Berechnung erfolgte mit 15 STR-Merkmalen. Insgesamt wurden 30 Paare untersucht.

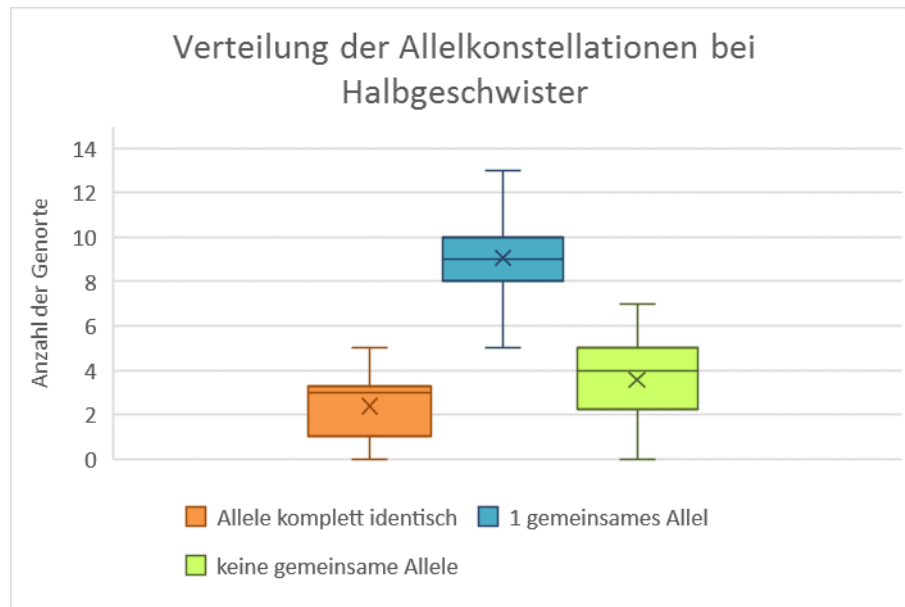
Durch die Erstellung der „3er Hypothese“ konnte wiederum gezeigt werden, für welchen Fall eine höhere Wahrscheinlichkeit vorliegt: für die Voll-, für die Halbgeschwisterschaft oder dafür, dass gar keine Verwandtschaft besteht. In 19 von 30 Fällen, die mit Powerplex® 16 berechnet wurden, lag die Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft über 50% und bestätigte somit am ehesten die Hypothese 3 (siehe Abbildung 9).

Insgesamt betrug der maximal errechnete W-Wert für das Vorliegen einer Halbgeschwisterschaft bei 15 bestimmten Genorten 99,92%, bei 17 bestimmten Genorten 99,99% und bei 19 Genorten 99,95%. Der minimale Wert lag bei 15 Genorten bei 4,223%, bei 17 Genloci bei 2,116% und bei 19 bestimmten Genorten bei 5,831%. Der Mittelwert lag für die Berechnung mit 15 Genorten bei 76,67%, mit 17 Genorten bei 77,09% und bei 19 Genorten bei 70,69%. Der errechnete Median-Wert ergab 91,8% für die mit Powerplex® 16 berechneten Daten, 96,39% für 17 Genorte und 88,65% bei 19 bestimmten Genorten.

### 3.2.4 Allelhäufigkeit bei Halbgeschwistern

Wie bereits bei echten Geschwistern, war nun das Ziel der Allel-Darstellung, eine Anzahl an Allelen zu finden, die unbedingt gleich sein müssen bzw. komplett unterschiedlich sein dürfen, um die Halbgeschwisterschaft nachweisen zu können. Dabei wurde wieder von der Berechnung mit Powerplex® 16 ausgegangen. Von den 32 echten Halbgeschwisterpaaren waren es 30 Paare, die somit in Betracht gezogen wurden. Eine komplette Übereinstimmung bestand hier in maximal 5 Genorten (HGW06, HGW13), die minimale Anzahl der gemeinsamen Genorte lag jedoch bei 0 (HGW01, HGW03, HGW07, HGW11, HGW28). Durchschnittlich waren es 2,37 Merkmale, die komplett gleich für beide Halbgeschwister waren. Der Median lag jedoch bei 3. Es gab also Paare die keine einzige komplette Übereinstimmung in den untersuchten Genorten aufwiesen. Diese waren zum größten Teil die Gleichen gewesen, die nach der „3er Hypothese“ die höchste Wahrscheinlichkeit für das Nichtverwandtsein zeigten (HGW01, HGW03, HGW07, HGW11). Weiterhin wurde verglichen, in wie vielen Genorten des untersuchten Halbgeschwisterpaars keine gemeinsamen Allele vorlagen. Maximal waren es 7 Genorte, minimal wiederum 0. Im Schnitt waren es 3,57 der 15 untersuchten Genorte, die für beide Halbgeschwister komplett unterschiedlich waren. Auch der Median lag bei 4. Bei zwei der untersuchten Halbgeschwisterpaare (HGW24, HGW31), bei denen eine Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit über 99,9% nachgewiesen werden konnte, war es höchstens 1 Genlocus mit zwei komplett unterschiedlichen Allelen gewesen. Allen Paaren gemeinsam war, dass sie viele Genorte hatten, wo sie sich nur in einem Allel unterschieden. Es waren mindestens 5 und maximal 13 Genorte unter den 30 untersuchten

Halbgeschwisterpaaren. Im Durchschnitt waren es 9,07 Genorte mit einem gleichen und einem unterschiedlichen Allel. Der Median lag, dem Mittelwert entsprechend, bei 9 (siehe Abbildung 11).

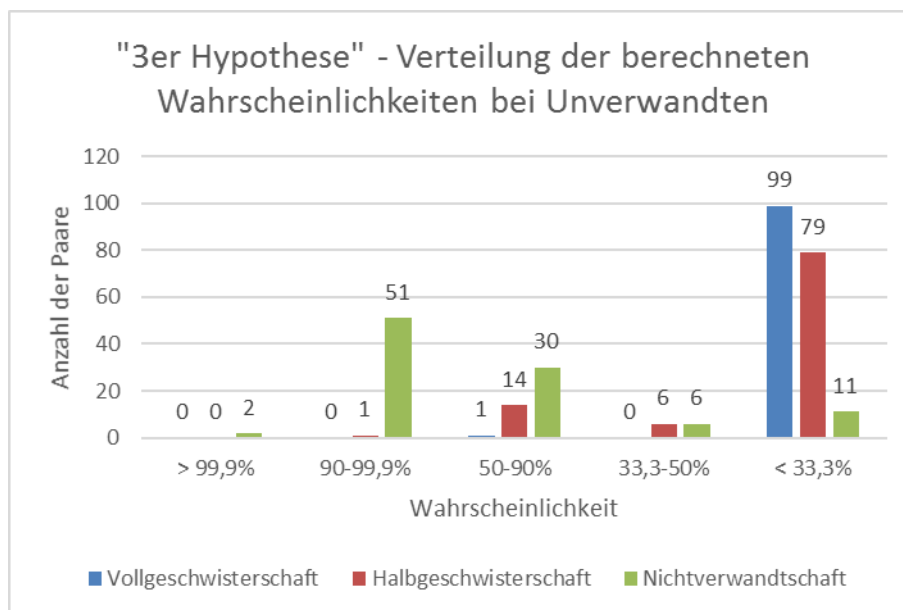


**Abbildung 11: Verteilung der Allelkonstellationen bei 30 Halbgeschwisterpaaren.** Von den 15 untersuchten Genorten gab es in jedem der untersuchten Fälle eine bestimmte Anzahl an Allelpaaaren, die komplett übereinstimmten (orange), nur in einem der beiden Allele gleich waren (blau) oder gar kein gemeinsames Allel aufwiesen (grün). Für jede Konstellation ist die Spannweite mit einem minimalen (unterer „Whisker“) und einem maximalen (oberer „Whisker“) Wert, sowie der Mittelwert (Kreuz) und der Median (Linie in dem Kasten) dargestellt.

Im Vergleich zu den echten Geschwistern (siehe Abbildung 8) sind es viel weniger Fälle mit kompletter Übereinstimmung der Allele. Durchschnittlich sind es 3,2 komplett übereinstimmende Allele mehr bei den Vollgeschwistern als bei den Halbgeschwistern. Bezüglich der Genorte mit nur einem gemeinsamen Allel weisen die Vollgeschwister im Schnitt eine um 1,3 niedrigere Anzahl auf, als die Halbgeschwister. Auch der Durchschnitt an Genorten mit komplett unterschiedlichen Allelen zeigt bei den Vollgeschwistern eine um 2,0 geringere Anzahl als bei den Halbgeschwistern. Diese Ergebnisse werden im Kapitel 3.4 in der Abbildung 15 nochmal dargestellt. Dies zeigt eindeutig die Tendenz zu dem weniger identisch aufgebauten „genetischen Fingerabdruck“ bei den Halbgeschwistern.

### 3.3 Auswertung: Unverwandte Personen

Weiterhin wurde in dieser Arbeit die Gruppe aus insgesamt 100 Paaren betrachtet, die miteinander nicht verwandt waren. Alle diese Paare wurden mit der Powerplex® 21-Methode untersucht. Die Auswertung erfolgte insbesondere anhand der „3er Hypothese“. Hier konnte bei 16 (NV43, NV55, NV 57, NV58, NV67, NV68, NV69, NV70, NV73, NV81, NV82, NV86, NV88, NV90, NV99, NV100) der 100 untersuchten Paare eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit festgestellt werden, als für die Nichtverwandtschaft. In einem dieser Fälle (NV100) lag die Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft sogar höher als für die Halbgeschwisterschaft und Nichtverwandtschaft zusammen. Dementsprechend konnte bei den 100 untersuchten Paaren in 84 Fällen von einer Nichtverwandtschaft ausgegangen werden. Bei 83 dieser betrachteten Paare lag ein W-Wert für die Nichtverwandtschaft von über 50% vor. In einem Fall (NV93) lag dieser Wert zwar unter 50%, jedoch immer noch über 33,3% und somit insgesamt höher, als die Wahrscheinlichkeit für die Voll- oder Halbgeschwisterschaft. Diese Ergebnisse sind in der Abbildung 12 zusammengefasst.



**Abbildung 12: Verteilung der Wahrscheinlichkeiten nach der Berechnung mit der „3er Hypothese“ in der Gruppe der Unverwandten.** Bei jedem Paar in dieser Gruppe wurden anhand einer Berechnungsmethode Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen von Vollgeschwisterschaft (blau), Halbgeschwisterschaft (rot) und Nichtverwandtschaft (grün) bestimmt. Jede Säule ist mit der Anzahl der Paare beschriftet, welche die unter den Säulen aufgeführten Wahrscheinlichkeitswerte für die jeweilige Hypothese erreichten. Die Berechnung erfolgte mit 19 STR-Merkmalen. Insgesamt wurden 100 Paare untersucht.

Der oben genannte Sachverhalt gilt jedoch nur für die „3er Hypothese“. Betrachtete man die „2er Hypothese“, ließ sich ein etwas anderes Ergebnis nachweisen. Wenn wir davon ausgehen, dass die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Nichtverwandtschaft bei mindestens 99,9% liegen soll, müsste demnach die Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft plus die Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft insgesamt einen W-Wert von maximal 0,1 ergeben. Dies wäre nur in zwei Fällen (NV21, NV35) gegeben.

Leider wurde bei der Untersuchung dieser Personengruppe nur die Powerplex® 21-Methode verwendet, so dass ein direkter Vergleich mit Powerplex® 16 und 18 nicht möglich war.

### 3.3.1 Hypothese 1

Der Hypothese 1 entsprechend, wurde davon ausgegangen, dass zwei miteinander verglichene Personen Vollgeschwister sind. Diese Hypothese traf jedoch für keinen der untersuchten Fälle zu. Es gab zwar in einem Fall (NV100) bei der Berechnung mit der „2er Hypothese“ eine höhere Gesamtwahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft als für andere Ereignisse, jedoch zeigte sich der W-Wert von 94,54% als nicht signifikant genug.

Insgesamt lag die maximale Wahrscheinlichkeit bei 98,44% (NV81). Die minimale Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft betrug 0,000001 % (NV21). Der Mittelwert lag bei 6,47%, das Median betrug 0,009%.

### 3.3.2 Hypothese 2

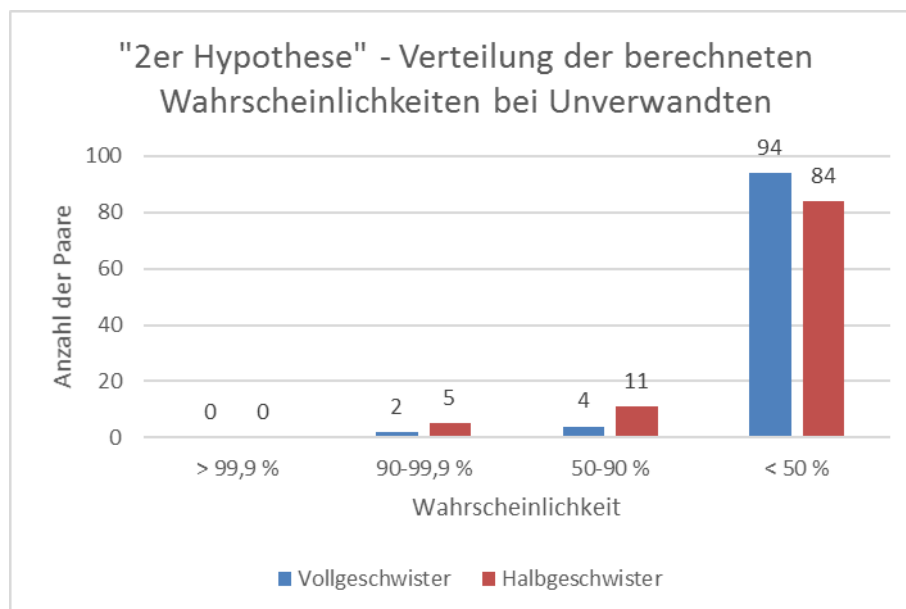
Die Hypothese 2 beschreibt in diesem Fall die wahre Aussage: „beide untersuchten Personen stammen von unterschiedlichen Eltern ab und sind somit nicht verwandt“. In den 100 untersuchten Fällen konnten rückschließend aus der Berechnung der Voll- und Halbgeschwisterschaften anhand der „2er Hypothese“ nur zwei Paare (NV21 und NV35) einen W-Wert von mindestens 99,9% für das Vorliegen einer Nichtverwandtschaft erreichen. Die Berechnung mit der „3er Hypothese“ ergab dagegen in 83 Fällen W-Werte von über 50% und zusätzlich in einem Fall einen Wahrscheinlichkeitswert von über 33,3%. Damit zeigte sich im Rahmen der Betrachtung der „3er Hypothese“, wie bereits oben beschrieben und in der Abbildung 12 dargestellt, eine deutliche Tendenz Richtung Nichtverwandtschaft.

Der minimale ausgerechnete W-Wert für die Nichtverwandtschaft nach der „3er Hypothese“ lag bei 0,269% (NV81). Die maximale Wahrscheinlichkeit, wie oben bereits erwähnt, bei 99,973% (NV21). Im Durchschnitt ergab sich eine Wahrscheinlichkeit für die Nichtverwandtschaft von 78,9%. Der Median lag jedoch bei 90,99%.

### 3.3.3 Hypothese 3

Diese Hypothese drückt aus, dass die beiden untersuchten Personen nur ein gemeinsames Elternteil haben und somit Halbgeschwister sind. Eine Wahrscheinlichkeit von 99,9% und somit der Nachweis der aufgestellten Hypothese konnte in keinem der Fälle erreicht werden. In nur fünf Fällen (NV55, NV69, NV81, NV82, NV100) lag die Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft über 90% (siehe Abbildung 13). Insgesamt lag die Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft in 99 Fällen höher, als für die Vollgeschwisterschaft. Dies konnte bei der Berechnung mit beiden Methoden nachgewiesen werden. Bei der Anwendung der „3er Hypothese“ konnte außerdem verdeutlicht werden, dass in 15 Fällen (NV43, NV55, NV 57, NV58, NV67, NV68, NV69, NV70, NV73, NV81, NV82, NV86, NV88, NV90, NV99) der Wahrscheinlichkeitswert für die Halbgeschwisterschaft höher lag, als für die Nichtverwandtschaft.

Die maximale Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft lag bei 99,7% (NV81) nach der Berechnung mit der „2er Hypothese“ und bei 91,2% (NV55) mit der „3er Hypothese“. Die minimale Wahrscheinlichkeit lag bei der Anwendung von beiden Berechnungsmethoden bei 0,03% (NV21). Der Mittelwert für das Vorliegen einer Halbgeschwisterschaft betrug 20,8%. Der Median lag bei 9%

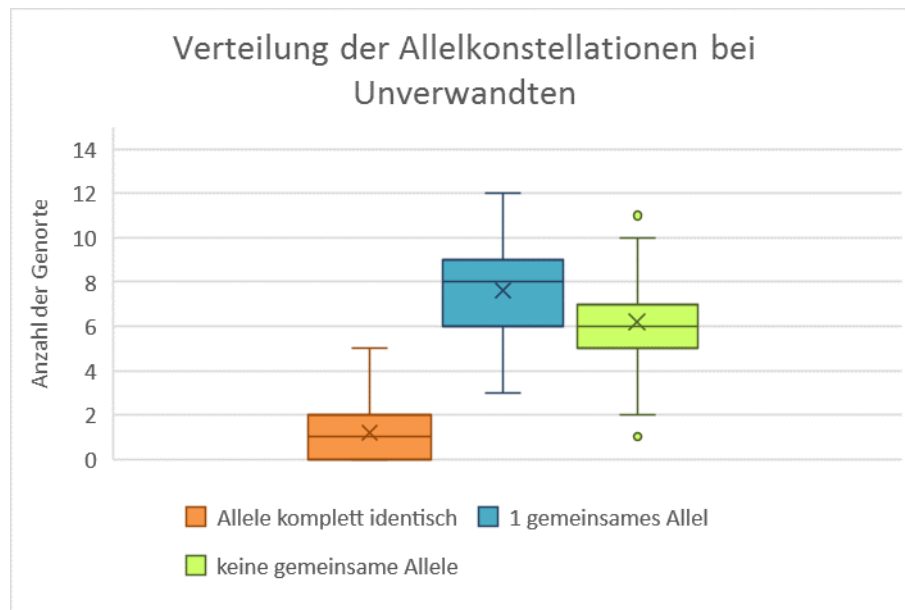


**Abbildung 13: Verteilung der Wahrscheinlichkeiten nach der Berechnung mit der „2er Hypothese“ in der Gruppe der Unverwandten.** Für die gleichen Paare wurden Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft (blau) und einer Halbgeschwisterschaft (rot) bestimmt. Jede Säule ist mit der Anzahl der Paare beschriftet, welche die unter den Säulen aufgeführten Wahrscheinlichkeitswerte für die jeweilige Hypothese erreichten. Die Berechnung erfolgte mit 19 STR-Merkmalen. Insgesamt wurden 100 Paare untersucht.



### 3.3.4 Allelhäufigkeit bei Unverwandten

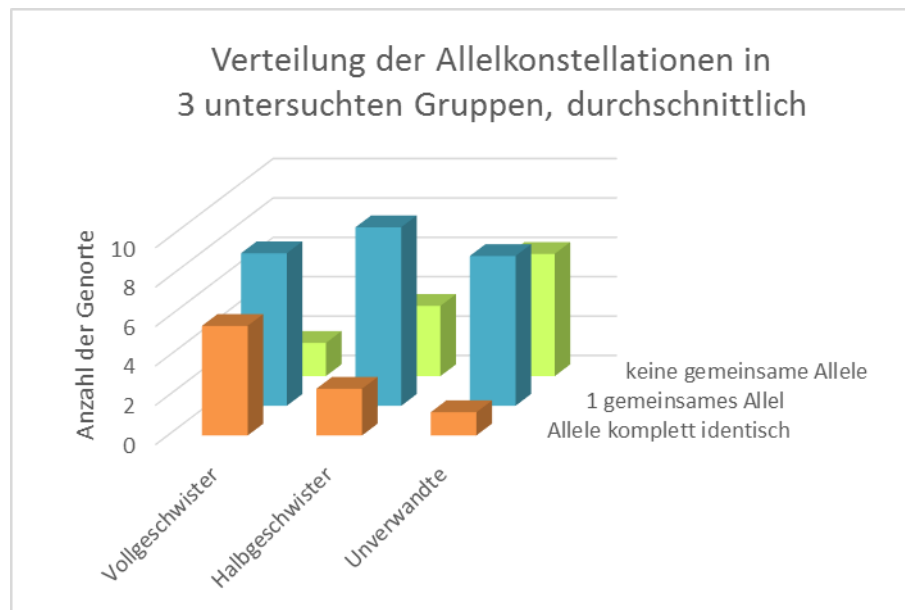
Die 100 nicht miteinander verwandten Paare wurden in dieser Arbeit alle mit Powerplex® 21 untersucht. Für die Vergleichbarkeit mit der Gruppe der echten Geschwister und der Gruppe der Halbgeschwister wurden jedoch an dieser Stelle nur die 15 Genorte betrachtet, die sonst bei Powerplex® 16 bestimmt werden. Auch hier wurde untersucht, in wie vielen Genorten die Probanden miteinander komplett, nur in einem der beiden Allele oder gar nicht übereinstimmen. Es konnte festgestellt werden, dass die maximale Anzahl an komplett identischen Genorten bei einem der 100 untersuchten Paare bei 5 lag. Dies war das Paar NV100, welches den vorigen Berechnungen zufolge am ehesten für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft in Frage kam. Die minimale Anzahl der kompletten Übereinstimmungen lag bei 0. Im Durchschnitt erwies sich in 1,18 Genorten der nicht miteinander verwandten Personen eine komplette Übereinstimmung. Der Median lag in diesem Fall ebenfalls bei 1. Weiterhin wurde untersucht wie viele Genorte in nur einem der beiden Allele bei einem nicht verwandten Paar übereinstimmten. Maximal waren es 12 (NV69), minimal 3 Genorte (NV33), der Mittelwert lag bei 7,61. Also konnte gerundet in 8 der 15 untersuchten Genorte ein gemeinsames Allel festgestellt werden. Dies bestätigte auch der Median. Des Weiteren gab es Genorte, die sich in beiden Allelen unterschieden und somit einen Hinweis darauf gaben, dass die Abstammung der zwei betrachteten Personen von mindestens einem unterschiedlichen Elternteil sein muss. Die maximale Anzahl von solchen Genorten bei den nicht verwandten Individuen lag maximal bei 11 (NV21), minimal bei 1 (NV69) und im Durchschnitt bei 6,21 Genloci. Der Median lag bei 6, dem Mittelwert entsprechend. Diese Ergebnisse können der Abbildung 14 entnommen werden



**Abbildung 14: Verteilung der Allelkonstellationen bei 100 nicht verwandten Paaren.** Von den 15 untersuchten Genorten gab es in jedem der untersuchten Fälle eine bestimmte Anzahl an Allelpaaaren, die komplett übereinstimmten (orange), nur in einem der beiden Allele gleich waren (blau) oder gar kein gemeinsames Allel aufwiesen (grün). Für jede Konstellation ist die Spannweite mit einem minimalen (unterer „Whisker“) und einem maximalen (oberer „Whisker“) Wert, sowie der Mittelwert (Kreuz) und der Median (Linie in dem Kasten) dargestellt. Außerdem sind hier die „Ausreißer“ zu sehen (Punkte).

### 3.4 Zusammenfassung Allelhäufigkeiten

Die statistische Verteilung der Allelkonstellationen zeigt ein deutliches Maximum im Bereich der Genorte mit einem identischen Allel. Dies traf jedoch in den vorliegenden Untersuchungen sowohl auf die echten Geschwister, die Halbgeschwister als auch auf die unverwandten Personen zu. Der Unterschied lag meist an der Verteilung der Genorte mit den komplett übereinstimmenden Allelen und mit den sich unterscheidenden Allelen. Bei den echten Geschwistern waren es mehr identische Genloci, als in den übrigen untersuchten Gruppen. Bei den nicht verwandten Personen überwog dagegen die Anzahl der komplett unterschiedlichen Allelzusammensetzung im Vergleich zu der Gruppe der Voll- und der Halbgeschwister. Die meisten Genloci mit einem übereinstimmenden Allel waren in der Gruppe der Halbgeschwister vertreten (siehe Abbildung 15).



**Abbildung 15: Gesamtverteilung der Allelkonstellationen in den drei untersuchten Gruppen.** Es sind nur die Mittelwerte dargestellt. Von den 15 untersuchten Genorten gab es in jedem der untersuchten Fälle eine bestimmte Anzahl an Allelpaaaren, die komplett übereinstimmten (orange), nur in einem der beiden Allele gleich waren (blau) oder gar kein gemeinsames Allel aufwiesen (grün).

## 4. Diskussion

### 4.1 Diskussion der Ergebnisse

#### 4.1.1 Vollgeschwister

Die Untersuchung von insgesamt 354 echten Geschwisterpaaren zeigte in 73,64% der Fälle eine Bestätigung der Vollgeschwisterschaft durch W-Werte von über 99,9%. Es waren insgesamt 93,7% der Fälle, die eine Wahrscheinlichkeit von über 90% zeigten (siehe Abbildung 5). Der berechnete Mittelwert bei den 349 mit Powerplex® 16 untersuchten Fällen lag bei 96,02%, eine starke Beeinflussung durch die Ausreißer ist hier jedoch zu bedenken. Um deren Einfluss zu minimieren, wurde nochmal der Median ermittelt. Dieser lag bei 15 untersuchten STR-Merkmalen bei 99,99%. Damit konnte verdeutlicht werden, dass in den meisten Fällen von einer echten Vollgeschwisterschaft mit einem W-Wert von über 99,9 % ausgegangen werden kann. Bei insgesamt 22 Paaren wurde die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft unter 90% ermittelt. Deshalb folgte eine erneute Überprüfung der betroffenen Proben. Die zur Anonymisierung erteilten Nummerierungen wurden nochmals abgeglichen und die Elektropherogramme erneut erstellt. Fehler oder Abweichungen von den initialen Daten konnten nicht festgestellt werden. Eine zusätzliche geschlechtsspezifische Untersuchung mit der Y-STR-Analyse bei sechs männlichen Geschwisterpaaren half, in einigen Fällen die Abstammung vom gemeinsamen Vater nachzuweisen. Bei zwei Paaren (GW223, GW228) war der Y-STR-Haplotyp völlig identisch. Damit konnte die Abstammung vom gleichen Vater trotz sehr niedriger Wahrscheinlichkeit bei alleiniger Anwendung der STR-Methode (unter 10%) bewiesen werden. Zwei andere Paare (GW91, GW94) zeigten ein einziges unterschiedliches Allel, was bei Geschwistern aufgrund von Mutationen nicht selten vorkommen kann. Diese Mutationen hängen stark von der Länge, der Komplexität und dem Sequenzmuster der untersuchten Y-STR-Merkmale ab [Ballantyne et al. 2010]. Zwei der sechs untersuchten Geschwisterpaare (GW54, GW75) wiesen jedoch komplett unterschiedliche Y-STR-Haplotypen auf, sodass eine Verwandtschaft nicht bestätigt werden konnte. Tatsächlich wurde von einigen Fällen berichtet, in denen die dizygoten Zwillinge, die von einer gemeinsamen Mutter abstammen, zwei verschiedene Väter aufwiesen und somit Halbgeschwister waren [Girela et al. 1997].

Ähnliche Studien zur Bestimmung von Geschwisterwahrscheinlichkeiten wurden bereits von anderen Arbeitsgruppen durchgeführt und publiziert, z.B. von Reid et al. 2004. Dort wurde eine

kleine Gruppe von 50 echten Vollgeschwister und 50 nicht verwandten Personen mit jeweils 15 STRs untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass alle echten Geschwister tatsächlich als echt identifiziert werden konnten. Zudem gab es keine falsch positiven Ergebnisse unter der Vergleichsgruppe der Nichtverwandten [Reid et al. 2004]. Diese Ergebnisse konnten in der hier vorliegenden Arbeit jedoch nicht bestätigt werden. Vermutlich lag es in der Studie von Reid et al. an der geringen Anzahl der Probanden. So wurden diese Ergebnisse ebenfalls von der Arbeitsgruppe Pu et al. widerlegt. In deren Studie wurde anhand von generierten Daten untersucht, wie sensitiv und spezifisch die Berechnung der Geschwisterwahrscheinlichkeit mit 15 STR-Merkmalen sei. Dafür wurden 357.630 Vollgeschwister-Paare und 178.815 unverwandte Paare aus vorhandenen DNA-Profilen per Zufall simuliert. Es zeigte sich, dass etwa 1,5% der Vollgeschwister nicht als solche identifiziert werden konnten (Sensitivität). Dafür zeigten 1,875% der Nichtverwandten fälschlicherweise Wahrscheinlichkeitswerte, die auf eine Vollgeschwisterschaft hinwiesen (Spezifität) [Pu und Linacre 2008]. Dies war den Ergebnissen, die in dieser Arbeit präsentiert wurden, ähnlich. So waren es hier 6,3% der echten Geschwister, die eine Wahrscheinlichkeit unter 90% für eine Vollgeschwisterschaft aufwiesen und damit deren Verwandtschaft ziemlich unwahrscheinlich wurde (Sensitivität). Auf der anderen Seite waren es 2% der Nichtverwandten, die bei der Berechnung fälschlicherweise die Wahrscheinlichkeitsgrenze für Vollgeschwisterschaft von über 90% erzielten (Spezifität). Näheres dazu siehe im Kapitel 4.1.3.

Was die Anzahl der STR-Merkmale angeht, so ist es bei einer Vaterschaftsanalyse in den von GEKO vorgegebenen Richtlinien festgelegt, dass mindestens 15 voneinander unabhängige Genorte untersucht werden müssen [Gendiagnostik-Kommission 2012]. In den Untersuchungen von vielen Arbeitsgruppen war dies ebenfalls ein häufig erwähnter Diskussionspunkt, u.a. bei Thomson et al. So beschrieb die Arbeitsgruppe eine hohe Aussagekraft von 16 untersuchten STRs bei den meisten Verwandtschaftsanalysen, also nicht nur bei der Vaterschaftsanalyse [Thomson et al. 2000]. Wir überprüften, ob die Bestimmung von mehr STR-Merkmalen für die Geschwisteranalyse von Vorteil sein könnte. Dafür wurden 130 Geschwisterpaare mit Powerplex® 18 (Promega), sowie 91 Paare mit Powerplex® 21 (Promega) nachuntersucht. Nur in 23 Fällen konnte bestätigt werden, dass mehr STR-Merkmale eindeutig einen Vorteil bieten. So wurde die jeweils errechnete Geschwisterwahrscheinlichkeit in diesen Fällen durch zwei bzw. vier zusätzliche Genorte auf über 99,9% erhöht. In drei Fällen stieg die Wahrscheinlichkeit sogar von unter 80% auf über 99,9% an (siehe Tabelle 5). Insgesamt zeigte sich in den meisten Fällen eine etwas höhere Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft bei der Berechnung mit 17 oder 19 STR-Merkmalen. Allerdings lag in

den meisten dieser Fälle auch schon bei der Berechnung mit Powerplex® 16 eine Wahrscheinlichkeit von über 99,9% für eine Vollgeschwisterschaft vor. Damit zahlten sich in diesen Fällen die zusätzlich verwendeten Ressourcen nicht aus. Zudem gab es sieben Fälle, in denen die zusätzlichen STR-Merkmale zu einem Ausschluss der errechneten Geschwisterschaft führten. Diese Fälle sind in der Tabelle 6 dargestellt. Auch die Abbildung 6 zeigt deutlich, dass mit der höheren Anzahl der untersuchten Merkmale der Anteil an den Vollgeschwistern, die als falsch negativ berechnet wurden, steigt. Dem Mittelwert nach zu urteilen, müsste die Berechnung der Geschwisterwahrscheinlichkeit mit 15 Merkmalen ebenfalls die besten Ergebnisse liefern. In diesem Fall lag er bei 96,02%. Bei der Berechnung mit 17 STR-Merkmalen betrug er 92,34% und bei 19 berücksichtigten Genorten nur 90,25%. Anhand dieser Ergebnisse wird ersichtlich, dass die Erhöhung der Anzahl der zu untersuchenden STR-Merkmale keine Verbesserung der Vorhersage einer Vollgeschwisterschaft nach sich zieht. Allerdings muss dabei bedacht werden, dass für die Berechnung des Mittelwertes unterschiedliche Anzahl von Geschwisterpaaren verwendet wurde. Zudem handelte es sich häufig um Geschwister, die aufgrund der initial niedrig errechneten Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit für die Nachbestimmung mit mehr Merkmalen ausgewählt wurden. Dieser Umstand erklärt den insgesamt niedrigen Mittelwert in diesen Personengruppen. Poetsch et al. untersuchten in einer Studie, ob die hier verwendete Analyse mit Powerplex® 21 in der Bestimmung von Vaterschaften einen Vorteil gegenüber Powerplex® 16 bringen würde. Dabei wurde für eine erfolgreiche Untersuchung eine Grenze von 99,999% festgelegt. Diese konnte nur in 57% der insgesamt 330 mit 15 STRs berechneten Fälle erreicht werden. Die Berechnung mit 19 STRs ergab dagegen in 95,5% eine Vaterschaftswahrscheinlichkeit von über 99,999% [Poetsch et al. 2013]. Es konnte also, entgegen den in dieser Arbeit präsentierten Ergebnissen, durch mehr untersuchte Merkmale ein deutlicher Vorteil nachgewiesen werden, zumindest für die Vaterschaftsanalyse. In den neueren Studien anderer Arbeitsgruppen wurden neue Analyse-Systeme, wie z.B. HDplex®-System mit z.T. anderen Genorten mit den bereits bekannten und in dieser Arbeit auch angewendeten Analyse-Kits verglichen. Die besten Ergebnisse wurden dabei bei der Verwendung des neueren Testsystems erzielt, was nur 12 STR-Merkmale enthielt. Diese Merkmale präsentierten sich alle hoch polymorph und heterozygot, was zu einer sehr hohen Aussagekraft mit höchster Sensitivität und Spezifität beigetragen hat [Turrina et al. 2016].

Weiterhin war es uns wichtig zu ermitteln, wie viele Genorte mit zwei unterschiedlichen Allelen für eine sichere Aussage für oder gegen das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft notwendig wären. Erneut wurden an dieser Stelle die Richtlinien des Robert-Koch-Instituts für den

Nachweis einer Vaterschaft als Leitlinie genommen. Diese besagen, dass bei Vorliegen von 4 und mehr Ausschlusskonstellationen eine Vaterschaft ausgeschlossen sei [Gendiagnostik-Kommission 2012]. Dabei sollte bei der Untersuchung von Geschwistern nicht von „Ausschlüssen“, sondern eher von „negativen Hinweisen“ gesprochen werden, denn solch eine „Ausschlusskonstellation“ zu 25% bei Vollgeschwistern und sogar zu 50% bei Halbgeschwistern laut Mendelschen Gesetzen vorkommen darf [Wenk und Chiafari 2000]. So wurde anhand der mit Powerplex® 16 ermittelten Rohdaten untersucht, wie viele STR-Merkmale von den 15 bei jedem einzelnen Geschwisterpaar komplett identisch, zur Hälfte gleich oder ganz unterschiedlich waren (siehe Abbildung 8). Wie bereits oben erwähnt, waren in der Gruppe der Vollgeschwister viele Ausreißer dabei, die nur einen sehr niedrigen Wert für die Geschwisterwahrscheinlichkeit aufwiesen. Um deren Einfluss auf das Gesamtergebnis zu minimieren, wurde überprüft wie sich die Werte verändern, wenn diese Ausreißer aus der Gesamtbetrachtung ausgeschlossen werden. Es zeigte sich kein wesentlicher Unterschied. So lagen im Durchschnitt in beiden Gruppen 2 Merkmale mit komplett unterschiedlichen Allelkonstellationen bzw. negativen Hinweisen vor. Was die Genorte mit komplett identischen Allelkonstellationen angeht, so waren es im Durchschnitt 6 von den 15 untersuchten (siehe Abbildung 8). Durch die in dieser Arbeit vorgenommenen Betrachtung der drei Gruppen, also der Vollgeschwister, der Halbgeschwister und der Unverwandten, ergab sich die Möglichkeit eines direkten Vergleichs. So waren es in der Gruppe der Halbgeschwister durchschnittlich 4 negative Hinweise und 2 komplett identische Allelzusammensetzungen. Die Gruppe der Nichtverwandten wies sogar 6 negative Hinweise und nur 1 komplett identisches Allelpaar auf. Diese Gegenüberstellung ist in der Abbildung 15 dargestellt. Die Arbeitsgruppe von Wenk et al. stellte diesen Zusammenhang ebenfalls fest. Wenn zwei Allele auf einem Genort bei zwei potentiellen Geschwistern gleich sind, so ist eine Vollgeschwisterschaft wahrscheinlicher als eine Halbgeschwisterschaft [Wenk und Chiafari 2000].

Dennoch gab es einige Ausnahmen, die trotz einer günstigen Allelkonstellation den W-Wert 99,9% nicht erreichten. So z.B. beim Geschwisterpaar GW17. Die Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft lag hier bei 96,96%, die Allelkonstellation wies aber nur 2 negative Hinweise auf. Bei dem Geschwisterpaar GW283 waren es ebenfalls nur 2 negative Hinweise. Dennoch betrug die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft nur 52%. Bemerkenswert war aber die Tatsache, dass diese Wahrscheinlichkeit nach Hinzunahme von vier weiteren STR-Merkmalen auf 99,92% gestiegen war. Umgekehrt gab es Fälle wie GW194, wo trotz Vorliegens von 4 negativen Hinweisen eine Geschwisterwahrscheinlichkeit von 99,99% erreicht werden konnte. In diesem Fall war die Anzahl an komplett identischen

Allelkonstellationen mit 7 besonders hoch. Es wird deutlich, dass die Gesamtverteilung der Allelkonstellationen an der Gesamtheit der vorhandenen Genorte von großer Bedeutung ist und in jedem einzelnen Fall untersucht werden sollte. Eine Entscheidung nur anhand der betrachteten negativen Hinweise kann in manchen Fällen zu falschen Ergebnissen führen. Weiterhin gibt es häufigere und seltenere Allel-Zusammensetzungen, die letztendlich, abhängig von der betrachteten Bevölkerungsgruppe, die vorliegende Wahrscheinlichkeit beeinflussen. Kommt eine Allelkonstellation nur selten in der betrachteten Bevölkerungsgruppe vor, macht es eine Verwandtschaft der beiden untersuchten Personen wahrscheinlicher [Wenk und Chiafari 2000]. Aber auch die untersuchten Genorte an sich spielen eine große Rolle. Sie weisen in verschiedenen Populationen unterschiedliche Effizienz auf. So hat z.B. der Genlocus D6S1043 eine geringere Aussagekraft in der deutschen Bevölkerung, als beispielsweise der Genort FGA. In der westafrikanischen Bevölkerung dagegen sind die beiden Genorte gleich effizient in deren Aussagekraft [Poetsch et al. 2013].

Ein besonders interessanter Kasus zeigte sich bei der Betrachtung der Rohdaten eines Drilling-Falls (GW323). Drei heterozygote Geschwisterkinder (5316, 5317, 5318) wurden untereinander auf Vollgeschwisterschaft geprüft. Es wurden also insgesamt drei mögliche Geschwisterkonstellationen (GW321, GW322, GW323) betrachtet. In der Tabelle 7 werden diese aufgeführt. Dabei ergab sich bei zwei Geschwisterpaaren eine Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft von über 99,9% und nur in einer Konstellation (GW323) von gerade mal 43,1% bei 15 untersuchten STR-Merkmalen. Auch bei der Betrachtung der Allelkonstellation der jeweiligen Geschwisterpaare ließen sich bei dem Geschwisterpaar GW323 fünf komplett unterschiedliche Allelkonstellationen nachweisen, was am ehesten gegen das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft sprechen würde. Im Gegensatz dazu waren es bei GW321 nur ein und bei GW322 zwei negative Hinweise. Bei der Nachbestimmung der zusätzlichen Genorte fiel der W-Wert sogar mit der Hinzunahme von zwei STR-Merkmalen auf 10,68%, stieg allerdings bei Hinzunahme von zwei weiteren STR-Merkmalen auf 68,89% wieder an. Dieser Wert war allerdings immer noch nicht hoch genug, um in diesem Fall von einer Vollgeschwisterschaft auszugehen. Rückschließend aus den beiden anderen Geschwisterkonstellationen (GW321, GW322) kann diese Aussage nicht der Wahrheit entsprechen. Die möglichen Gründe für solche „Ausreißer“ werden im Kapitel 4.2 diskutiert. Die Tabelle 7 zeigt, dass es kein Einzelfall war.



**Tabelle 7:** Ergebnisse der Untersuchung einiger Fälle mit Mehrlingen. **Fett** hervorgehoben ist der oben geschilderte Fall der Drillinge. In einer (GW323) der drei möglichen Geschwisterkonstellationen fällt die errechnete Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft besonders niedrig aus. Damit wäre am ehesten anzunehmen, dass Person 5317 und Person 5318 miteinander nicht verwandt sind. Allerdings waren Person 5316 und Person 5317 (GW321) zu 99,998% Vollgeschwister (mit 19 STR-Merkmalen gerechnet). Auch zwischen Person 5316 und Person 5318 (GW322) lag die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft bei 99,996% (mit 19 Merkmalen gerechnet). Demzufolge sollten Person 5317 und Person 5318 ebenfalls Vollgeschwister sein.

<i>Person 1</i>	<i>Person 2</i>	<i>Geschwister- paar (Vollgeschwister)</i>	<i>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft bei Berechnung mit</i>		
			<i>15 STRs (in %)</i>	<i>17 STRs (in %)</i>	<i>19 STRs (in %)</i>
995	996	GW127	99,999711		
996	997	GW128	99,975138		
997	998	GW129	99,999146		
995	997	GW130	99,997881		
996	998	GW131	99,997654		
995	998	GW132	66,582154		
1950	1951	GW155	99,134847		
1952	1953	GW156	99,999959		
1950	1952	GW157	99,970434		
1950	1953	GW158	93,059418		
1951	1952	GW159	99,989198		
1951	1953	GW160	99,967603		
<b>5316</b>	<b>5317</b>	<b>GW321</b>	<b>99,835992</b>	<b>99,99527</b>	<b>99,997795</b>
<b>5316</b>	<b>5318</b>	<b>GW322</b>	<b>99,445883</b>	<b>99,255453</b>	<b>99,995967</b>
<b>5317</b>	<b>5318</b>	<b>GW323</b>	<b>43,080028</b>	<b>10,676167</b>	<b>68,887831</b>

Es gab einen weiteren Drilling-Fall und drei Fälle mit Vierlingen, in denen einzelne Geschwisterkonstellationen den W-Wert von 99,9% nicht erreichten (siehe Tabelle 7 und Anhang, Tabelle 10). Bei allen Mehrlingen handelte es sich um heterozygote Geschwisterkinder mit unterschiedlichen „genetischen Fingerabdrücken“. Damit konnte eindeutig gezeigt werden, dass die alleinige Untersuchung der Geschwisterverhältnisse mittels STR-Analyse zwischen zwei einzelnen Personen manchmal nicht ausreicht, um eine sichere Aussage bezüglich der Geschwisterschaft treffen zu können.

Weiterhin bleibt die Unterscheidung zwischen den Voll- und den Halbgeschwistern in der Gruppe der echten Geschwister sehr problematisch. Insbesondere die Berechnung mit der „2er Hypothese“ zeigte ähnliche Ergebnisse sowohl für eine Voll-, als auch für eine Halbgeschwisterschaft (siehe Abbildung 5). So waren es 95,99% der Vollgeschwister, die einen W-Wert von über 90% für eine Halbgeschwisterschaft aufwiesen. Aber nur 93,7% von ihnen erreichten die 90%-Grenze bei der Berechnung einer Vollgeschwisterschaft. Die Berechnung nach der „3er Hypothese“ zeigte hier deutlich bessere Ergebnisse mit einer viel höheren Spezifität für die Vollgeschwisterschaft, also für die wahre Hypothese (siehe Abbildung 7). So waren es nur 1,4% der Vollgeschwisterpaare, die anhand der „3er Hypothese“ fälschlicherweise als nichtverwandt identifiziert wurden. Ebenfalls mit der „3er Hypothese“ gerechnet, wurden nur 11,8% der Vollgeschwister fälschlicherweise als Halbgeschwister identifiziert. Das zeigt, welche große Bedeutung eine sorgfältige Hypothesen- und Fallaufstellung für jede einzelne Fragestellung hat. Die „3er Hypothese“ findet nämlich nur selten Anwendung in der rechtsmedizinischen Praxis, da sie deutlich kompliziertere Auswertung nach sich zieht, als die häufiger angewendete „2er Hypothese“. Sie ist allerdings für bestimmte Fragestellungen von großer Bedeutung. So auch in dieser Arbeit, wo drei Hypothesen im direkten Vergleich zueinander betrachtet werden sollten.

Diesen Ergebnissen nach zu urteilen, ist es eher schwierig die aktuell geltenden Richtlinien für die Vaterschaftsanalysen auf die Untersuchung der Geschwister zu übertragen. Zudem sollten die neusten Studien [Poetsch et al. 2013, Turrina et al. 2016] bezüglich der Empfehlungen für die Anzahl und für die Auswahl der untersuchten STR-Merkmale beachtet werden. Ein Mittelweg aus möglichst genauen Ergebnissen bei zugleich ökonomisch günstigen Untersuchungsmethoden sollte angestrebt werden. Weiterhin wäre es sinnvoll, die Wahrscheinlichkeitsgrenze für den Nachweis der Vollgeschwister niedriger anzusetzen. So ergab sich bei einem W-Wert von 90% eine höhere Gesamtanzahl an ermittelten Vollgeschwistern bei immer noch hoher Spezifität [von Wurmb-Schwark 2015]. Im Fall einer dennoch zu niedrig errechneten Wahrscheinlichkeit (unter 90%) sollte zudem die

Nachbestimmung zusätzlicher Allele erwogen werden. Bei gleichgeschlechtlichen Geschwistern sollte diesbezüglich die geschlechtsspezifische Untersuchung wie die Y-STR-Analyse zusätzlich durchgeführt werden [Wenk et al, 2003]. Aber auch andere molekulargenetische Verfahren, wie die SNP-Analyse, stehen als Zusatzuntersuchung zur Verfügung und sollten in schwierigen Fällen großzügig eingesetzt werden [Schwark et al. 2012]. Und wenn in solchen Defizienzfällen mehr als zwei Geschwisterkinder für die Untersuchung zur Verfügung stehen, sollten auch entsprechend viele Geschwisterkonstellationen betrachtet und untersucht werden. Somit würde sich die Aussagekraft der errechneten Wahrscheinlichkeiten deutlich erhöhen [Lee et al. 2012, Wenk und Shao 2012].

#### **4.1.2 Halbgeschwister**

Eine der Aufgaben dieser Arbeit war es nach Möglichkeiten zu suchen, eine Halbgeschwisterschaft zu bestimmen. Die Schwierigkeit besteht darin, dass die Halbgeschwister nur von einem gemeinsamen Elternteil die gleiche genetische Information besitzen. Damit können sie maximal zu 50% in einem Allel auf einem Genlocus übereinstimmen, zu den anderen 50% gänzlich unterschiedliche Allele besitzen. Die Wahrscheinlichkeit, dass sie komplett identische Allele auf einem Genort erben, liegt bei 0 [Wenk et al. 1996]. Nur durch Zufall könnte es dazu kommen, u.a. durch Mutationen [Wenk und Chiafari 2000]. Außerdem kann es vorkommen, dass die nicht gemeinsamen Elternteile ähnliche genetische Profile aufweisen bzw. zufällig gleiche Allele auf bestimmten Genorten besitzen. Auch dadurch können komplett identische Allelkonstellationen auf einem Genort entstehen. Und so kann es in einem Defizienzfall zum Einschluss des betrachteten Genortes kommen, obwohl das gemeinsame Elternteil diese Allele nicht hat.

Insgesamt wurden in der Arbeit 32 echte Halbgeschwisterpaare betrachtet. 30 von ihnen wurden mit Powerplex® 16 untersucht. 29 Paare mit Powerplex® 18 nachbestimmt und 11 nochmals mit Powerplex® 21 bearbeitet. Auch die Allel-Auswahl bezog sich auf die gleichen 15 Genorte wie bereits bei den Vollgeschwistern.

Letztendlich konnte durch die Untersuchung mit Powerplex® 16 nur in zwei Fällen (HGW24 und HGW31) ein W-Wert von über 99,9% erreicht werden. Die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft lag in einem dieser Fälle (HGW24) sogar noch höher. Außerdem gab es ein Halbgeschwisterpaar (HGW14), welches zwar einen W-Wert von über 99,9% für eine Vollgeschwisterschaft aufwies, diese Grenze aber nicht bei der Berechnung einer Halbgeschwisterschaft erreichte. Auch nach Hinzunahme der zusätzlichen Genorte ergaben sich keine Änderungen bezüglich des Verwandtschaftsnachweises. Eine Ausnahme bildete das

Paar HGW14. Hier stieg die Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit durch die vier zusätzlichen Genloci auf 99,95% an.

Insgesamt zeigte sich jedoch unter den echten Halbgeschwistern eine höhere Wahrscheinlichkeit für die wahre Hypothese als für die Vollgeschwisterschaft oder für das Nichtverwandtsein. So wurde bei insgesamt sehr niedrig ausgefallenen Wahrscheinlichkeitswerten zusätzlich bestimmt, wie viele Geschwisterpaare eine Wahrscheinlichkeit über 90% für die Halbgeschwisterschaft aufwiesen. Dieses Ergebnis zeigten 17 Paare von 30, bzw. 56,67% derer, die mit Powerplex® 16 untersucht wurden. Während nur 13 von ihnen, also 43,33%, die gleiche Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft zeigten (siehe Abbildung 10). Auch die „3er Hypothese“ bestätigte es. Hier waren es 19 Paare, die eine höhere Wahrscheinlichkeit (über 50%) für die Halbgeschwisterschaft aufwiesen, also sogar 63,33% der untersuchten Halbgeschwister. Nur sechs der 30 Paare wiesen dabei am ehesten auf die Nichtverwandtschaft (20%) und fünf auf die Vollgeschwisterschaft (16,67%) hin. Das ist in der Abbildung 9 deutlich zu erkennen. In der medizinischen Dissertation von M. Schmidt wurden ebenfalls Verwandtschaftsverhältnisse von Halbgeschwistern untersucht, und zwar anhand simulierter Daten. Dabei wurde die RFLP-Methode zur genetischen Analyse gewählt. Damit ließen sich noch schlechtere Ergebnisse erzielen als die hier präsentierten. So konnte nur bei 3,86% der gesamten 778 simulierten Halbgeschwisterpaare ein W-Wert von mehr als 90% erreicht werden [Schmidt 2011].

Als nächstes wurden auch hier die entsprechenden Allele an den 15 Genorten untersucht. Im Durchschnitt zeigten die meisten Paare 4 negative Hinweise, 2 Allelkonstellationen waren im Durchschnitt komplett gleich und die übrigen 9 waren zur Hälfte identisch (siehe Abbildung 11). Interessant war auch, dass die Halbgeschwisterpaare mit einem W-Wert von über 99,9% (HGW14, HGW24 und HGW31) höchstens 1 negativen Hinweis und mindestens 10 zur Hälfte gleiche Allelkonstellationen aufwiesen. Insgesamt zeigten die Paare mit höchstens 3 negativen Hinweisen und mindestens 9 zur Hälfte identischen Allelen eine viel höhere Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft als die übrigen Paare. Es gab aber einige Abweichungen, wie z.B. im Fall HGW06i. Hier war die Wahrscheinlichkeit für die Halbgeschwisterschaft mit 97,19% recht hoch. Bei der genaueren Betrachtung der Allele zeigten sich jedoch 3 negative Hinweise und nur 7 zur Hälfte identische Allele. Im Fall HGW12 waren es sogar 5 negative Hinweise und nur 8 zur Hälfte gleiche Allele, was die Wahrscheinlichkeit trotzdem nicht unter 90% sinken ließ. Ähnlich verhielt es sich mit den Fällen HGW13, HGW18, HGW19 und HGW26.

Die Arbeitsgruppe von R. E. Wenk führte eine Studie durch, in der drei unabhängige Genloci jeweils auf gemeinsame Allele bei 25 Voll- und 25 Halbgeschwistern geprüft wurden. Es wurde festgestellt, dass die Vollgeschwister seltener ein einzelnes Allel auf einem Genort teilen als die Halbgeschwister [Wenk und Chiafari 2000]. Diese Aussage ließ sich auch in dieser Arbeit bestätigen. Den Berechnungen nach, waren es in der Gruppe der Vollgeschwister durchschnittlich 8 von 15 untersuchten Genorten, die jeweils ein gemeinsames Allel aufwiesen. In der Gruppe der Halbgeschwister waren es im Durchschnitt 9 Genloci.

Die richtige Tendenz der untersuchten Ergebnisse ließ sich somit erkennen. Eine Bestätigung des tatsächlichen Verwandtschaftsverhältnisses mit der alleinigen STR-Analyse erwies sich allerdings bei der Gruppe der Halbgeschwister aufgrund der geringen Sensitivität und Spezifität als nicht praktikabel. Dennoch lieferte die Untersuchung einer Halbgeschwisterschaft anhand der „3er Hypothese“ etwas bessere Ergebnisse, als die Anwendung der „2er Hypothese“. Zusatzuntersuchungen, wie die geschlechtsspezifische STR-Analyse und die Bestimmung der mtDNA wurden von vielen Arbeitsgruppen als ein enormer Vorteil bei der Untersuchung einer Halbgeschwisterschaft beschrieben [Wenk und Chiafari 2000, Ge et al. 2011, Schmidt 2011]. Eine Untersuchung der zusätzlichen STR-Merkmale brachte dagegen keine wesentlichen Vorteile. Bei der Berechnung der Halbgeschwisterwahrscheinlichkeit mit 19 STR-Loci wurden sogar im Durchschnitt niedrigere Werte (70,69%) festgestellt, als bei 15 untersuchten Genorten (76,67%).

#### **4.1.3 Unverwandte Personen**

In der Gruppe der nicht verwandten Personen wurden insgesamt 100 Paare untersucht. Bei allen untersuchten Personen wurde der „genetische Fingerabdruck“ mittels Powerplex® 21 bestimmt. Es wurde sowohl mit der „2er Hypothese“ als auch mit der „3er Hypothese“ die Wahrscheinlichkeit für das Nichtverwandtsein berechnet. Die „2er Hypothese“ zeigte dabei die Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft oder die Halbgeschwisterschaft an. Und rückschließend darauf sollte die Wahrscheinlichkeit für das Nichtverwandtsein bestimmt werden. Ein errechneter W-Wert unter 0,1% für eine Geschwisterschaft entsprach einer Wahrscheinlichkeit von 99,9% für eine Nichtverwandtschaft. Dafür sollten allerdings für jeden einzelnen Geschwisterfall sowohl das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft, als auch das Vorliegen einer Halbgeschwisterschaft separat voneinander geprüft werden. Und so wurden diese Werte nur in zwei Fällen (NV21, NV35) bei der Berechnung einer Halbgeschwister-Wahrscheinlichkeit und sogar in 70 Fällen (darunter fielen auch die o.g. Fälle NV21 und NV35) bei der Berechnung der Vollgeschwister-Wahrscheinlichkeit erreicht. Unter den 30 übrigen

Fällen waren nur zwei Paare dabei, die eine Wahrscheinlichkeit von über 90% für eine Vollgeschwisterschaft aufwiesen. Außerdem waren es fünf der 100 untersuchten Paare, die eine Wahrscheinlichkeit von über 90% für eine Halbgeschwisterschaft besaßen (siehe Abbildung 13). Damit zeigt sich zumindest eine deutliche Tendenz in der Gruppe für das Vorliegen einer Nichtverwandtschaft. Trotzdem ist es bemerkenswert, wie hoch die Wahrscheinlichkeit für eine Voll- oder Halbgeschwisterschaft bei unverwandten Personen fälschlicherweise berechnet werden kann. Dies wurde auch von Poetsch et al. in einer Studie beschrieben. Zwar handelte es sich dabei um Vaterschaftsanalysen, aber auch bei diesen wurde festgestellt, dass nicht verwandte Putativväter in Defizienzfällen z.T. eine höhere Vaterschaftswahrscheinlichkeit für ein Kind aufwiesen als der leibliche Vater [Poetsch et al. 2006].

Im nächsten Schritt wurden die Paare mit der „3er Hypothese“ untersucht. Bei 84 von den 100 berechneten Fällen wurde am ehesten eine Nichtverwandtschaft nachgewiesen. Bei 83 von ihnen lag die Wahrscheinlichkeit dafür bei über 50% (siehe Abbildung 12) und somit höher, als die Wahrscheinlichkeiten für Voll- und Halbgeschwisterschaft zusammen. In einem Fall (NV93) lag die Wahrscheinlichkeit für das Nichtverwandtsein nur bei 41,69%, damit jedoch höher, als die Wahrscheinlichkeiten für die beiden anderen Hypothesen im Einzelnen. Die weiteren 15 Fälle wiesen eine Wahrscheinlichkeit von über 50% für eine Halbgeschwisterschaft auf. Nur ein Fall (NV100) zeigte eine Wahrscheinlichkeit von über 50% für eine Vollgeschwisterschaft. Eine Tendenz zur Nichtverwandtschaft wurde hier also deutlich erkennbar.

Bei der Untersuchung der Allelkonstellationen wurde die Anzahl der betrachteten STR-Merkmale auf 15 reduziert. Dafür wurden die gleichen Genorte ausgewählt, die bereits bei der Powerplex® 16-Analyse Verwendung fanden. So konnten die Ergebnisse mit den anderen beiden Gruppen verglichen werden. Dabei kam heraus, dass es in dieser Gruppe im Durchschnitt 6 Merkmale waren, die keine gemeinsamen Allele aufwiesen. Nur 1 STR-Merkmal war komplett identisch. Und 8 wiesen zur Hälfte identische Allelkonstellation auf (siehe Abbildung 14). Es sollte erwähnt werden, dass es bei nicht verwandten Personen nur ein Zufall ist, ob sie gemeinsame Allele aufweisen. Dennoch liegt die Wahrscheinlichkeit für viele der bekannten Genorte bei mehr als 50%, dass zwei miteinander nicht verwandte Menschen mindestens ein gemeinsames Allel teilen [Wenk et al. 2003]. Auch hier gab es einzelne Ausnahmen. So z.B. der Fall NV10, in dem es trotz der wenigen negativen Hinweise, insgesamt 4, und bei 2 identischen Allelkonstellationen bei der Berechnung mittels „3er Hypothese“ eine Wahrscheinlichkeit von 74,95% für das Nichtverwandtsein erreicht werden konnte. Bei genau der gleichen Allelverteilung in den Fällen NV57 und NV73 lag die Wahrscheinlichkeit für das

Nichtverwandtsein lediglich bei 41,12% und 38,56% (berechnet ebenfalls mit Hilfe der „3er Hypothese“). Damit waren diese Werte zwar recht hoch, jedoch in beiden Fällen niedriger als für das Vorliegen einer Halbgewwisterschaft. Auch an dieser Stelle wurde damit deutlich, dass die Gesamtwahrscheinlichkeit von den einzelnen Verteilungen der Allele stark abhängt. Je seltener eine bestimmte Allelkonstellation ist, umso höher wird die Wahrscheinlichkeit für die Verwandtschaft zwischen den beiden Personen, die dieses seltene Allelpaar besitzen, berechnet [Wenk und Chiafari 2000]. Dies wird auch bei dem Computer-Programm „W-VAT“ zur biostatistischen Abstammungsbegutachtung berücksichtigt.

Es ließ sich ebenfalls in dieser Personengruppe eine Tendenz für die Hypothese 2, also für die wahre Aussage erkennen. Dennoch konnte eine klare Richtlinie für die eindeutige Bestimmung einer Nichtverwandtschaft nicht festgelegt werden. Immerhin waren es 16% der Untersuchten, die diese Hypothese nicht bestätigten. Bei 5% lag die Wahrscheinlichkeit für die Halbgewwisterschaft sogar über 90%. Mit 2% der fälschlicherweise als Vollgeschwister bestimmten unverwandten Personenpaaren wurde der gleiche Wert erreicht, wie in der Studie von Pu und Linacre 2008 (siehe Kapitel 4.1.1).

## **4.2 Fehleranalyse**

### **4.2.1 Probanden und Probenverarbeitung**

In der vorliegenden Arbeit wurden Vollgeschwister, Halbgewwister und unverwandte Personen auf ihre Abstammung untersucht. Für jedes Probandenkollektiv wurden drei Fälle konstruiert und die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft, einer Halbgewwisterschaft und einer Nichtverwandtschaft errechnet. Das genetische Material der Probanden stammte insgesamt aus drei Quellen. Zum einen waren es die dizygoten Zwillinge aus dem GNN-Projekt des UKSH, Campus Lübeck. Die Proben wurden direkt nach Geburt als Vollblut aus der Nabelschnur oder in Form von Mundschleimhautabstrichen entnommen [Spiegler et al. 2012] und daraus extrahiertes DNA-Material für mehrere Jahre in speziellen Gefrierschränken aufbewahrt. Eine weitere Entnahme-Quelle für die hier verwendeten DNA-Proben war Venenblut. Diese Probanden stammten v.a. aus dem Pool der Abstammungsgutachten des Instituts für Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel. Die dritte Quelle für die DNA-Proben stellten die Mundschleimhautabstriche der Mitarbeiter des Instituts für Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel und des Instituts für Rechtsmedizin in Essen dar.

Die vorhandenen Proben mussten vielen Schritten unterlaufen, bevor letztendlich das Endprodukt in Form des s.g. „genetischen Fingerabdrucks“ entstehen konnte. Jeder dieser Schritte war ein potentieller Angriffspunkt für die Entstehung von Fehlern.

So könnte es bereits initial zu einer fehlerhaften Zuordnung der Probanden gekommen sein. Es besteht potentiell die Möglichkeit, dass Vollgeschwister, in seltenen Fällen auch heterozygote Zwillinge, in Wirklichkeit eine Halbgeschwisterschaft aufweisen [Girela et al. 1997]. Auch ein Vertauschen von Proben beim Arbeiten im Labor, insbesondere wenn mehrere Proben gleichzeitig bearbeitet werden, wäre möglich. Um solche Fehler zu minimieren, werden am Institut für Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel alle Prozesse standardisiert durchgeführt. Dafür existieren die s.g. SOPs (Standard Operating Procedures), in denen die Arbeitsschritte für jeden Vorgang festgehalten sind.

Weiterhin wurde in einigen Studien der Einfluss der Vor- und Nachbehandlung des genetischen Materials auf die spätere Qualität und Quantität der extrahierten DNA untersucht. Es wurde festgestellt, dass nicht standardisierte Verfahren, insbesondere Dauer und ausgewählte Temperaturen für die Material-Lagerung sowie die DNA-Extraktion selbst zur Veränderung des genetischen Materials führen können. So konnte z.B. in der Studie von Malentacchi et al. aus den Blutproben, die länger als sechs Tage vor der DNA-Extraktion zwischengelagert wurden, quantitativ wesentlich weniger DNA gewonnen werden als aus dem frisch entnommenen Material. Als eine der wichtigsten Erkenntnisse galt, dass durch unterschiedliche Vor- und Nachbehandlungsmethoden der gleichen Blutprobe in verschiedenen Laboren das letztlich extrahierte Genom eine hohe Varianz aufwies [Malentacchi et al. 2015]. Auch die Lagerungstemperatur zeigte einen großen Einfluss auf die Proben. Die Arbeitsgruppe von Shabihkhani et al. zeigte in ihren Untersuchungen, dass bei Gefriertemperaturen von -80 °C das bereits extrahierte DNA-Material für Jahre erhalten bleibt, ohne später an seiner Qualität oder Quantität zu verlieren. Bei -20 °C waren die Proben dagegen nur für wenige Monate haltbar, bei 4 °C nur noch für wenige Wochen [Shabihkhani et al. 2013]. Die Blutproben blieben dagegen sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 4 °C und -20 °C maximal für einen Monat brauchbar. Bereits nach wenigen Tagen setzte die Lyse der Blutzellen und somit der Verlust der DNA ein [Nederhand et al. 2003]. Weiterhin hat das ständige Einfrieren und Auftauen der Proben einen großen Einfluss auf die Qualität des DNA-Materials. So können dadurch z.B. einzelne Basen oder ganze Oligonukleotid-Gruppen eines DNA-Stranges verloren gehen [Davis et al. 2000]. Je schneller der Gefrierprozess stattfindet, umso wahrscheinlicher sind solche Verluste. Auch eine geringe Menge an Gesamtmaterial macht die DNA-Proben hierfür anfälliger [Davis et al. 2000].



Und natürlich darf man nicht die möglichen Verunreinigungen der Proben außer Acht lassen, auch wenn die Wahrscheinlichkeit dafür aufgrund der sterilen Arbeitsbedingungen gering ist. Bei der Gewinnung der DNA-Proben mittels der Mundschleimhautabstriche besteht eine höhere Verunreinigungsgefahr. Zwar werden für die Material-Abnahme sterile Wattestäbchen verwendet, dennoch sind im Mund Bakterien und viele andere organische Substanzen enthalten, die zu einer Kontamination der Probe führen können. Quantitativ gesehen liefert diese Methode eine höhere DNA-Ausbeute als sogar aus dem Blut. Allerdings handelt es sich dabei nur bei 11% der DNA-Gesamtmenge um die humane DNA [Hansen et al. 2007]. Diese Zahl lässt sich durch vorherige Reinigung des Mundraumes auf bis zu 49% steigern [Feigelson et al. 2001, Hansen et al. 2007]. Feucht eingepackte Mundschleimhautabstriche können dagegen zu einer Degradation der DNA durch rasch einsetzende Fäulnisprozesse führen. Weiterhin sollte beachtet werden, dass Personen mit hohem Speichelfluss, wie z.B. kleine Kinder, ebenfalls eine geringere DNA-Ausbeute aufweisen [von Wurmb-Schwark et al. 2008]. Als positiv wurde dagegen in einigen Studien die lange Haltbarkeit der richtig entnommenen und trocken gelagerten Proben bewertet. So war die DNA noch nach Monaten aus den Wattestäbchen extrahierbar, was neben den geringen Kosten und der einfachen nicht invasiven Entnahmemethode einen sehr großen Vorteil gegenüber einer Blutabnahme darstellte [Freeman et al. 2002].

#### **4.2.2 Allgemeine Problematik diagnostischer Verfahren**

Auch in der Durchführung der Diagnostik-Verfahren können sich gewisse Fehler einschleichen. Die Multiplex-PCR nimmt dabei eine zentrale Rolle ein. An dieser Stelle werden die STRs amplifiziert, um später mittels Kapillarelektrophorese aufgetrennt und in Form eines Elektropherogramms dargestellt zu werden. Zu den möglichen Fehlerquellen in der PCR-Analyse zählt z.B. das Phänomen der s.g. „Stotterbanden“ bzw. „slippage bands“. Diese betreffen insbesondere kurze Wiederholungseinheiten, wie die SNPs [Levinson und Gutman 1987]. Sie stellen die häufigsten der neu auftretenden Mutationen in Mikrosatelliten-DNA dar [Brinkmann et al. 1998]. Die „Stotterbanden“ bestehen meist aus zwei Basenpaaren, die sich häufiger wiederholen können. Sie entstehen als Nebenprodukt während des PCR-Prozesses. Dabei kommt es zum Verrutschen der DNA-Polymerase in der Phase der Elongation. Infolge dessen kommt es zur versetzten Wiederanlagerung in der Phase der Replikation und damit zur Schlaufenbildung im DNA-Strang. Die Schlaufe trennt sich vom Hauptstrang und wird so zum Nebenprodukt. Da es sich nur um wenige Basenpaare von den benachbarten Allelen unterscheidet, kann es in einer Multiplex-PCR zu Störungen führen und falsche Interpretationen

der Ergebnisse nach sich ziehen. Letztendlich führt dieser Prozess zur falschen Darstellung der DNA-Profile. [Murray et al. 1993].

Weiterhin kann es zu Fehlbestimmungen der Allele durch falsch-homozygote Befunde kommen, wenn nur eines der beiden Allele an einem Genort erkannt wird. Dies kann z.B. aufgrund von Primerbindungs Mutationen, auch als „stummes Allel“ benannt, passieren. Dabei werden die Primersequenzen nicht erkannt und deren Bindung an die Ziel-DNA und die folgende Amplifikation des PCR-Produkts bleiben aus. Dieses Problem könnte durch die Verwendung von verschiedenen PCR-Kits umgangen werden [von Wurmb-Schwark et al. 2008]. Für die meisten Privatlabore ist diese Lösung allerdings zu teuer.

Ebenfalls von großer Bedeutung sind mögliche Fehler durch unsaubere Amplifikationen (u.a. durch chemische Reagenzien), durch geschädigtes DNA-Material, sowie durch falsche oder zu geringe DNA-Mengen, die in der PCR verwendet werden. Diese Fehler können ebenfalls zu Unterschieden im Typisierungsmuster führen [von Wurmb-Schwark et al. 2004 b]. Zu geringe DNA-Mengen können zu dem s.g. „low-copy-DNA“-Phänomen mit dem folgenden Ausfall eines Allels und damit einem falsch-homozygoten Befund führen. Zu hohe DNA-Konzentrationen können jedoch häufig die s.g. Amplifikationsartefakte in Form von bisher nicht vorhandenen Allelen verursachen. Durch zusätzliche unabhängige Untersuchung zur Selbstkontrolle ließen sie sich eher vermeiden [von Wurmb-Schwark et al. 2008].

### **4.2.3 Allgemeine Problematik defizienter Abstammungsgutachten**

Bei den Geschwisteranalysen handelt es sich zumeist um defiziente Abstammungsgutachten. Das bedeutet, dass das genetische Material nur von den beiden potentiellen Geschwistern vorhanden ist. Solche Gutachten können problematisch werden, insbesondere wenn die beiden untersuchten Personen auf andere Art und Weise miteinander verwandt sind, z.B. als Halbgeschwister, Cousins, Neffe und Onkel usw. Solche Verwandtschaftsverhältnisse könnten u.a. aufgrund von Sexualstraftaten entstanden sein und werden von den Betroffenen meist verschwiegen [von Wurmb-Schwark et al. 2004 a]. Aufgrund der ähnlichen genetischen Profile können solche Geschwister- und Vaterschaftsanalysen zu falsch positiven Ergebnissen führen [Wenk et al. 2003, Reid et al. 2008]. In einer von Wurmb-Schwark et al. untersuchten Studie über Vater/Kind-Verhältnisse wurde geprüft, ob in einem Defizienzgutachten auch ein Onkel oder ein Großvater als biologischer Vater durchgehen könnte. So zeigte sich in zahlreichen Onkel/Kind-Fällen, dass keine oder nur sehr wenige Allelausschlüsse vorhanden waren. Berechnete man die Wahrscheinlichkeit einer Vaterschaft für eine Onkel/Kind-Beziehung im Vergleich zu einer echten Vater/Kind-Beziehung, so zeigten sich einige Fälle, in denen der

Onkel eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Vaterschaft besaß als der wahre Vater [von Wurmb-Schwark et al. 2004 a].

Ein weiteres Problem in solchen Defizienzfällen besteht in der Auswertung der Allelkonstellationen. Wenn ein Elternteil ein heterozygoten Allelpaar auf einem Genort besitzt, kann er jeweils das unterschiedliche Allel an seinen Nachkommen weitergeben. Ohne die Beteiligung dieses Elternteils bei der Geschwisteranalyse würde es keine Übereinstimmung an diesem untersuchten Genort geben. Es wäre ein falsch negatives Ergebnis. (siehe Tabelle 2). Genauso ist es bei der Bestimmung der Vaterschaft. Wenn Mutter und Vater zufällig gleiche Allele auf einem Genort besitzen, kann es fälschlicherweise zum Einschluss des Genortes führen, obwohl in Wirklichkeit das betrachtete Allel von der Mutter weitervererbt wurde (siehe Tabelle 1).

Ebenfalls von großer Bedeutung sind die s.g. Polymorphismen. Sie entstehen durch Variationen der Basen innerhalb der DNA als s.g. Sequenzvariationen. Dazu gehören u.a. die SNPs, die sich durch die Variation eines einzelnen Basenpaares in einem DNA-Strang auszeichnen. Da die SNPs vererbbar sind und eine sehr geringe Mutationsrate aufweisen, können sie in der Abstammungsanalyse, insbesondere in schwierigen Fällen, zusätzlich verwendet werden. Studien zeigen, dass sie die Zuverlässigkeit der STR-Analyse in Defizienzfällen deutlich erhöhen [Schwark et al. 2012, Cho et al. 2017]. Außerdem helfen sie dabei, bei Ausschlusskonstellationen bzw. negativen Hinweisen zwischen einem echten Ausschluss und einer Mutation der STRs zu unterscheiden [Schwark et al. 2012]. Aber genauso wie in der STR-Analyse, kommt es in den Fällen mit ähnlichen genetischen Profilen der Probanden (z.B., wenn zwei Brüder in einer Vaterschaftsanalyse als Putativväter auftreten) häufig zu Einschlüssen der untersuchten Genorte. Dies kann letztendlich zu einem falsch positiven Gesamtergebnis führen [Schwark et al. 2012]. Die SNP-Analyse gehört nicht zu einer Routine-Untersuchung. Für die meisten Labore wäre solch eine zusätzliche Analyse mit deutlich mehr Zeit- und Kostenaufwand verbunden [Wenk et al. 2003].

## 5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, eine geeignete Methode für die Bestimmung von Geschwisterverhältnissen zu finden, und die Bedingungen für deren Nachweis zu definieren. Dafür wurden drei Gruppen untersucht: 354 echte Vollgeschwister-Paare, 32 echte Halbgeschwister-Paare, sowie miteinander nicht verwandte Personen, aus denen 100 Paare gebildet wurden. Bisher existieren keine Richtlinien für eine Geschwisteranalyse. Daher wurde versucht die bereits existierenden Richtlinien für die Vaterschaftsanalyse auf die Geschwisteranalyse zu übertragen. Dafür wurden alle 486 Paare auf das Vorliegen von drei Hypothesen geprüft, ob sie Vollgeschwister (Hypothese 1), Halbgeschwister (Hypothese 3) oder nicht verwandt (Hypothese 2) seien. Zunächst wurde in jeder der Gruppen anhand der s.g. „2er Hypothese“ untersucht, ob die wahre Hypothese einen Wahrscheinlichkeitswert von 99,9% erreichen und damit das Prädikat „praktisch erwiesen“ tragen könnte. In der Gruppe der echten Vollgeschwister ließ sich in 73,64% der Fälle eine Wahrscheinlichkeit von über 99,9% für die Hypothese 1 nachweisen, wenn mit 15 STR-Merkmalen gerechnet wurde. Nur bei 6,3% der mit der gleichen Methode untersuchten Vollgeschwister lag die Wahrscheinlichkeit unter 90%. Durch die Hinzunahme von zusätzlichen STR-Merkmalen ließ sich in einzelnen Fällen die errechnete Wahrscheinlichkeit steigern. Allerdings gab es auch Fälle, in denen die zusätzlich bestimmten Genorte umgekehrt zu einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit, als initial errechnet, führten. Daher konnte eine grundsätzliche Anwendung von mehr als 15 STR-Merkmalen in der Geschwisteranalyse nicht als Vorteil gewertet werden. Wurde die „3er Hypothese“ zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit für die Vollgeschwisterschaft angewendet, so waren es 85,92% der untersuchten Paare, die die wahre Hypothese bestätigten. Dafür war der Anteil an Vollgeschwistern, die fälschlicherweise als Halbgeschwister identifiziert wurden deutlich niedriger (11,78%), als bei der Anwendung der „2er Hypothese“ (95,99%).

In der Gruppe der Halbgeschwister, die an sich eine geringe Anzahl der Probanden enthielt, war der Nachweis der Halbgeschwisterschaft weniger eindeutig. Es wurde zunächst die „2er Hypothese“ angewendet. Damit ließ sich nur bei 6,7% der mit Powerplex® 16 untersuchten Paare eine Wahrscheinlichkeit von über 99,9% für eine Halbgeschwisterschaft nachweisen. Auch der Anteil an den Geschwisterpaaren mit über 90% Wahrscheinlichkeit für die wahre Aussage betrug nur 56,67%. Bei der Untersuchung der gleichen Probanden mit der „3er Hypothese“ zeigte sich eine geringe Steigerung dieser Werte. Hier konnte die Halbgeschwisterschaft für 63,33% des Kollektivs bestätigt werden. 20% der Untersuchten

zeigten eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Nichtverwandtsein. Die restlichen 16,67% wiesen eher auf eine Vollgeschwisterschaft hin.

Die dritte untersuchte Gruppe der nicht verwandten Personen wurde ebenfalls mithilfe der beiden Berechnungsmodelle untersucht. Nach der „2er Hypothese“ konnte zwar nur die Wahrscheinlichkeit für die Voll- oder Halbgeschwisterschaft errechnet werden, es zeigte sich aber rückschließend aus diesen Werten, dass 70% der Paare eine Wahrscheinlichkeit von über 99,9% für die wahre Hypothese (Hypothese 2) aufwiesen. Bei 91% der Paare lag die Wahrscheinlichkeit für die Hypothese 2 bei über 90%. Berechnete man den gleichen Sachverhalt mit der „3er Hypothese“, so waren es 84% der untersuchten Paare, die eine Nichtverwandtschaft aufwiesen.

In allen untersuchten Gruppen ließ sich also die Tendenz in Richtung der jeweils wahren Aussage erkennen. Würde man jedoch ein zufälliges Paar auf ein Verwandtschaftsverhältnis prüfen, ohne andere Familienmitglieder einzubeziehen, wäre eine sichere Aussage nicht möglich. Der Fehlerquotient wäre zu hoch. Aus diesem Grund kann eine einfache Übertragung der bisher existierenden Richtlinien für die Vaterschaftsanalyse auf die Geschwisteranalyse nicht empfohlen werden. Würde man die Wahrscheinlichkeitsgrenze für den Nachweis von Geschwisterverhältnissen bei 90% festlegen, wäre ein Nachweis eher möglich. Es bliebe allerdings weiterhin ein Fehlerquotient von 6,3% bei den Vollgeschwistern, 9% bei den Nichtverwandten und sogar 43,33% bei den Halbgeschwistern bestehen. Bessere Ergebnisse wurden in der Gruppe der Halbgeschwister durch die Erstellung der „3er Hypothese“ erzielt. Eine sichere Aussage über das Verwandtschaftsverhältnis konnte mit einem errechneten Fehlerquotienten von 36,7% hier ebenfalls nicht gemacht werden. Diese Ergebnisse wurden auf der Jahrestagung der DGAB 2013 in Form eines wissenschaftlichen Beitrags, sowie in einer Publikation [von Wurmb-Schwark et al. 2015] zusammengefasst und präsentiert.

Weiterhin wurde die Verteilung der Allele in den drei Gruppen betrachtet. In der Gruppe der echten Vollgeschwister waren es im Durchschnitt 2 Genorte mit komplett unterschiedlichen Allelen. Wenn also 2 negative Hinweise als Ausschlusskriterium für den Nachweis der Geschwisterschaft dienen, wären es nur 78,51% der echten Geschwister, deren Verwandtschaft somit bestätigt werden könnte. In den aktuellen Richtlinien für die Vaterschaftsanalyse dürfen es höchstens 3 Ausschlusskonstellationen sein, damit eine Vaterschaft als nachgewiesen gilt. Überträgt man diese Richtlinien auf die Vollgeschwister, so sind es tatsächlich 92,84% der untersuchten Fälle, die höchstens 3 solche negativen Hinweise zeigen. Mit dem Fehlerquotienten von 7,16% ähnelt das Ergebnis dem bereits errechneten Wert für die Wahrscheinlichkeit einer Vollgeschwisterschaft, wenn ein W-Wert von über 90% als

Nachweisgrenze festgelegt wird. Bei den Halbgeschwistern waren es im Durchschnitt 4 Genorte, die als negative Hinweise erfasst wurden, bei der Gruppe der Nichtverwandten sogar 6. Würde man diese Werte als eine Nachweisgrenze betrachten, so wären es nur 66,67% der echten Halbgeschwister und 64% der Nichtverwandten, die damit detektiert werden könnten. Daher wäre es falsch diese negativen Hinweise als Nachweisgrenzen festzulegen. Würde man dagegen aus den Richtlinien der GEKO bezüglich des Vaterschaftsnachweises rückschließend alle Paare, die mehr als 3 Allelausschlüsse bzw. negative Hinweise besitzen, als nicht verwandt einstufen, so wären es 92% der Nichtverwandten, die als solche erkannt werden könnten. Mit dem Fehlerquotienten von 8% wäre dieses Ergebnis eher annehmbar. Insgesamt hat sich gezeigt, dass nicht nur die negativen Hinweise, sondern die Gesamtverteilung der drei möglichen Allelkonstellationen des „genetischen Fingerabdrucks“ für die Bestimmung des Verwandtschaftsverhältnisses von großer Bedeutung ist.

Dennoch konnte durch die hier angewandten Analysemethoden kein Verfahren für einen sicheren Nachweis von Voll-, Halbgeschwistern oder Nichtverwandten herangezogen werden. Durch die Anwendung der „3er Hypothese“ konnte zwar die Tendenz in Richtung der jeweils wahren Aussage aufgezeigt werden, aber eine sichere Unterscheidung zwischen den drei einzelnen Gruppen war auch damit nicht möglich. Bei dem Nachweis einer Vollgeschwisterschaft konnte bei der Berechnung mit der „2er Hypothese“ durch die Festlegung der Wahrscheinlichkeitsgrenze bei über 90% eine hohe Sensitivität der Ergebnisse bei immer noch hoher Spezifität erreicht werden. Das entsprechende Risiko für einen falsch positiven Nachweis unter zwei miteinander nicht verwandten Personen lag bei unter 5%. Die Verwendung von mehr als 15 STR-Merkmalen für die Berechnung dieser Wahrscheinlichkeitswerte brachte dabei keinen wesentlichen Vorteil.

Die dargestellten Ergebnisse sollten kritisch betrachtet werden, da in dieser Arbeit nur eine geringe Anzahl von Nichtverwandten und Halbgeschwistern untersucht wurde. Um belastbare Richtlinien zu etablieren, sind noch weitere Untersuchungen notwendig. Aktuell sollten daher nach Möglichkeit immer andere Geschwister oder gemeinsame Eltern zusätzlich betrachtet werden, um eine sichere Gewissheit zu erlangen. Nur in einzelnen Fällen kann die Hinzunahme weiterer STR-Merkmale eindeutiger Ergebnisse liefern. Andere Untersuchungen, wie z.B. die geschlechtsspezifische STR-Analyse bei gleichgeschlechtlichen Paaren oder die SNP-Analyse stehen ebenfalls zur Verfügung. Problematisch bleibt es jedoch weiterhin bei den Paaren unterschiedlichen Geschlechts und bei Personen, die auf eine andere Art und Weise miteinander verwandt sind.

## 6. Literaturverzeichnis

1. **Applied Biosystems** (2010) a: 3130 and 3130xl Genetic Analyzers. System Profile.
2. **Applied Biosystems** (2010) b: GeneAmp® PCR System 9700. Base Module. User's Manual.
3. **Applied Biosystems** (2006): GeneMapper® ID Software Version 3.2 for Human Identification Applications. Product Bulletin.
4. **Ballantyne K. N.**, Goedbloed M., Fang R., Schaap O.; Lao O., Wollstein A. et al. (2010): Mutability of Y-chromosomal microsatellites: rates, characteristics, molecular bases, and forensic implications. *Am J Hum Genet*, 87, 341-353.
5. **Brinkmann B.**, Klintschar M., Neuhuber F., Hühne J., Rolf B. (1998): Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. *Am J Hum Genet*, 62, 1408-1415.
6. **Bundesjustizministerium** (2010): Gesetz über genetische Untersuchungen bei Menschen (Gendiagnostikgesetz - GenDG), BGBl I, 2529, 3672.
7. **Bundesverfassungsgericht** (2007): Urteil des Ersten Senats vom 13. Februar 2007, 1 BvR 421/05 - Rn. (1-102).
8. **Bürgerliches Gesetzbuch** (2008): Abstammung. BGB 1, §§ 1591-1600e.
9. **Buselmaier W.**, Tariverdian G. (1991): Humangenetik. Springer, Berlin, Heidelberg.
10. **Chamberlain J. S.**, Gibbs R. A., Rainer J. E., Nguyen P. N., Thomas C. (1988): Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res*, 16, 23, 11141-11156.
11. **Cho S.**, Shin E. S., Yu H. J., Lee J. H., Seo H. J., Kim M. Y., Lee S. D. (2017): Set up of cutoff thresholds for kinship determination using SNP loci. *Forensic Sci Int Genet*, 29,1-8.

12. **Davis D. L.**, O'Brien E. P., Bentzley C. M. (2000): Analysis of the degradation of oligonucleotide strands during the freezing/thawing processes using MALDI-MS. *Anal Chem*, 72, 5092-5096.
13. **Deutsche Gesellschaft für Abstammungsbegutachtung (DGAB)** (2012): Fortbildungsordnung zum „Fachabstammungsgutachter“.
14. **Edwards A.**, Civitello A., Hammond H. A., Caskey C. T. (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet*, 49, 746-756.
15. **Essen-Möller E.**, Quensel C.-E. (1939): Zur Theorie des Vaterschaftsnachweises auf Grund von Ähnlichkeitsbefunden. *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med*, 31, 70-96.
16. **Feigelson H. S.**, Rodriguez C., Robertson A. S., Jacobs E. J., Calle E. E., Reid Y. A., Thun M. J. (2001): Determinants of DNA yield and quality from buccal cell samples collected with mouthwash. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 10, 1005-1008.
17. **Freeman B.**, Smith N., Curtis C., Hockett L., Mill J., Craig I. W. (2003): DNA from buccal swabs recruited by mail. Evaluation of storage effects on long-term stability and suitability for multiplex polymerase chain reaction genotyping. *Behav Genet*, 33, 67-72.
18. **Ge J.**, Eisenberg A., Yan J., Chakraborty R., Budowle B. (2011): Pedigree likelihood ratio for lineage markers. *Int J Legal Med*, 125, 519-525.
19. **Gendiagnostik-Kommission** (2012): Richtlinien der Gendiagnostik-Kommission (GEKO) für die Anforderungen an die Durchführung genetischer Analysen zur Klärung der Abstammung und an die Qualifikation von ärztlichen und nichtärztlichen Sachverständigen gemäß §23 Abs. 2 Nr. 4 und Nr. 2b GenDG. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 1, Springer, Berlin, Heidelberg.
20. **Girela E.**, Lorente J. A., Alvarez J. C., Rodrigo M. D., Lorente M., Villanueva E. (1997): Indisputable double paternity in dizygous twins. *Fertil Steril*, 67, 1159-1161.
21. **Gusmão L.**, Alves C., Gomes I., Sánchez-Diz P. (2012): Capillary electrophoresis of an X-chromosome STR decaplex for kinship deficiency cases. *Methods Mol Biol*, 830, 57-71.



22. **Hansen T. V.**, Simonsen M. K., Nielsen F. C., Hundrup Y. A. (2007): Collection of blood, saliva, and buccal cell samples in a pilot study on the Danish nurse cohort: comparison of the response rate and quality of genomic DNA. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16, 2072-2076.
  
23. **Helms T.**, Kieninger J., Rittner C. (2010): Abstammungsrecht in der Praxis. Materielles Recht, Verfahrensrecht, medizinische Abstammungsbegutachtung. *FamRZ-Buch*, 33. Giesecking, Bielefeld.
  
24. **Henegariu O.**, Heerema N. A., Dlouhy S. R., Vance G. H., Vogt P. H. (1997): Multiplex PCR. Critical parameters and step-by-step protocol. *Biotechniques*, 23, 504-511.
  
25. **Jeffreys A. J.**, Wilson V., Thein S. L. (1985) a: Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. *Nature*, 314, 67-73.
  
26. **Jeffreys A. J.**, Wilson V., Thein S. L. (1985) b: Individual-specific "fingerprints" of human DNA. *Nature*, 314, 76-79.
  
27. **Jeffreys A. J.**, Wilson V., Neumann R., Keyte J. (1988): Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction. Towards DNA fingerprinting of single cells. *Nucleic Acids Res*, 16, 10953-10971.
  
28. **Klepárník K.**, Bocek P. (2010): Electrophoresis today and tomorrow. Helping biologists' dreams come true. *Bioessays*, 32, 218-226.
  
29. **Kröner H.-P.** (1999): Von der Vaterschaftsbestimmung zum Rassegutachten. Der erbbiologische Ähnlichkeitsvergleich als „österreichisch-deutsches Projekt“ 1926-1945. *Ber Wiss* 22, 257-264.
  
30. **Landsteiner K.** (1901): Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Klin Wochenschr*, 14, 1132-1134.
  
31. **Landsteiner K.**, Wiener A. S. (1941): Studies on an agglutinin (Rh) in human blood reacting with anti-rhesus sera and with human isoantibodies. *J Exp Med*, 74, 309-320.

32. **Lee J. C.**, Lin Y.-Y., Tsai L.-C., Lin C.-Y., Huang T.-Y., Chu P.-C. et al. (2012): A novel strategy for sibship determination in trio sibling model. *Croat Med J*, 53, 336-342.
33. **Levinson G.**, Gutman G. A. (1987): Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol Biol Evol*, 4, 203-221.
34. **Macherey-Nagel** (2016): Genomic DNA from blood. NucleoSpin® Blood, NucleoSpin® Blood L, NucleoSpin® Blood XL, NucleoSpin® Blood QuickPure. User manual.
35. **Malentacchi F.**, Ciniselli C. M., Pazzagli M., Verderio P., Barraud L., Hartmann C. C. et al. (2015): Influence of pre-analytical procedures on genomic DNA integrity in blood samples. The SPIDIA experience. *Clin Chim Acta*, 440, 205-210.
36. **Mályusz V.**, Schmidt M., Simeoni E., Poetsch M., Schwark T., Oehmichen M., von Wurmb-Schwark N. (2007): Die Aussagekraft zusätzlicher RFLP-Analysen bei Abstammungsbegutachtung mittels STR-Analyse. *Arch Kriminol*, 220, 25-35.
37. **Mendel G.** (1866): Versuche über Pflanzen-Hybriden. *Verhandlungen des Naturforschenden Vereins zu Brünn*, 4, 3-47.
38. **Mullis K.**, Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G., Erlich H. (1986): Specific enzymatic amplification of DNA in vitro. The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 51, 263-273.
39. **Murray V.**, Monchawin C., England P. R. (1993): The determination of the sequences present in the shadow bands of a dinucleotide repeat PCR. *Nucleic Acids Res*, 21, 2395-2398.
40. **Nederhand R. J.**, Droog S., Kluft C., Simoons M. L., De Maat M. P. M. and on behalf of the investigators of the EUROPA trial (2003): Logistics and quality control for DNA sampling in large multicenter studies. *J Thromb Haemost*, 1, 987-991.
41. **Oberlandesgericht Hamm** (2008): Beschluss vom 20. Juni 2008. Aktenzeichen: 3 Ss OWi 434/08.

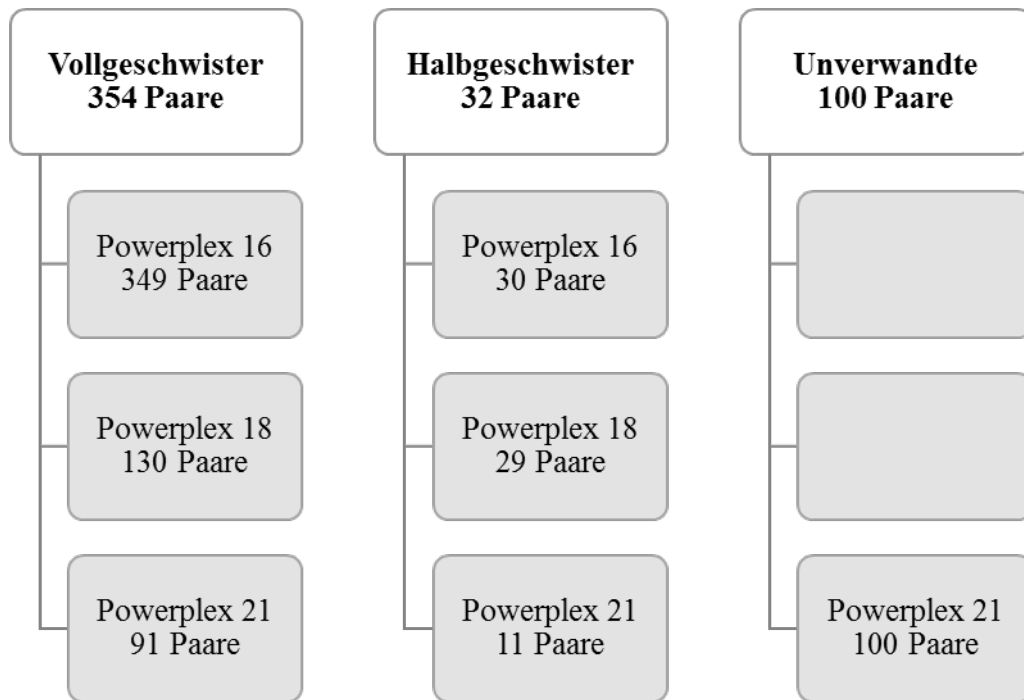
42. **Payne R.**, Hackel E. (1961):. Inheritance of human leukocyte antigens. *Am J Hum Genet*, 13, 306-319.
43. **Poetsch M.**, Lüdcke C., Repenning A., Fischer L., Mályusz V., Simeoni E., Lignitz E., Oemichen M., von Wurmb-Schwark N. (2006): The problem of single parent/child paternity analysis--practical results involving 336 children and 348 unrelated men. *Forensic Sci Int*, 159, 98-103.
44. **Poetsch M.**, Preusse-Prange A., Schwark T., von Wurmb-Schwark N. (2013): The new guidelines for paternity analysis in Germany - how many STR loci are necessary when investigating duo cases? *Int J Legal Med*, 127, 731-734.
45. **Promega** (2014): PowerPlex® 18 D System. Technical Manual.
46. **Promega** (2016): PowerPlex® 16 HS System. Technical Manual.
47. **Promega** (2017) a: PowerPlex® 21 System for Use on the Applied Biosystems® Genetic Analyzers. Technical Manual.
48. **Promega** (2017) b: PowerPlex® Y23 System for Use on the Applied Biosystems® Genetic Analyzers. Technical Manual.
49. **Pu C. E.**, Linacre A. (2008): Systematic evaluation of sensitivity and specificity of sibship determination by using 15 STR loci. *J Forensic Leg Med*, 15, 329-334.
50. **Reid T. M.**, Wolf C. A., Kraemer C. M., Lee S. C., Baird M. L., Lee Rich F. (2004): Specificity of sibship determination using the ABI Identifiler multiplex system. *J Forensic Sci*, 49, 1262-1264.
51. **Reid T. M.**, Baird M. L., Reid J. P., Lee S. C., Lee R. F. (2008): Use of sibling pairs to determine the familial searching efficiency of forensic databases. *Forensic Sci Int*, 2, 340-342.

52. **Schlichting C. D.**, Pigliucci M. (1993): Control of phenotypic plasticity via regulatory genes. *Am Nat*, 142, 366-370.
53. **Schmidt M.** (2011): Die Aussagekraft zusätzlicher RFLP-Analysen in defizienten Abstammungsbegutachtungen mittels Short-Tandem-Repeat-Analyse. *Med. Diss.*, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
54. **Schwark T.**, Meyer P., Harder M., Modrow J.-H., von Wurmb-Schwark N. (2012): The SNPforID assay as a supplementary method in kinship and trace analysis. *Transfus Med Hemother*, 39, 187-193.
55. **Shabihkhani M.**, Lucey G. M., Wei B., Mareninov S., Lou J. J., Vinters H. V. et al. (2014): The procurement, storage, and quality assurance of frozen blood and tissue biospecimens in pathology, biorepository, and biobank settings. *Clin Biochem*, 47, 258-266.
56. **Spiegler J.**, Hartel C., Schulz L., von Wurmb-Schwark N., Hoehn T., Kribs A. et al. (2012): Causes of delivery and outcomes of very preterm twins stratified to zygosity. *Twin Res Hum Genet*, 15, 532-536.
57. **Szibor R.**, Krawczak M., Hering S., Edelmann J., Kuhlisch E., Krause D. (2003): Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med*, 117, 67-74.
58. **Thomsen O.** (1930): Die Erblichkeitsverhältnisse der menschlichen Blutgruppen: *Hereditas*, 13, 121-163.
59. **Thomson J. A.**, Pilotti V., Stevens P., Ayres K. L., Debenham P. G. (1999): Validation of short tandem repeat analysis for the investigation of cases of disputed paternity. *Forensic Sci Int*, 100, 1-16.
60. **Thomson J. A.**, Ayres K. L., Pilotti V., Barrett M. N., Walker J. I. H., Debenham P. G. (2001): Analysis of disputed single-parent/child and sibling relationships using 16 STR loci. *Int J Legal Med*, 115, 128-134.
61. **Tiselius, A.** (1937): Electrophoresis of serum globulin. I. *Biochem J*, 31, 313-317.

62. **Turrina S.**, Ferrian M., Caratti S., Cosentino E., Leo D. (2016): Kinship analysis. Assessment of related vs. unrelated based on defined pedigrees. *Int J Legal Med*, 130, 113-119.
63. **Tzeng C. H.**, Lyou J. Y., Chen Y. R., Hu H. Y., Lin J. S., Wang S. Y., Lee J. C. (2000): Determination of sibship by PCR-amplified short tandem repeat analysis in Taiwan. *Transfusion*, 40, 840–845.
64. **von Wurmb-Schwark N.**, Mályusz V., Simeoni E., Oehmichen M., Lignitz E., Lüdcke C., Repenning A., Poetsch M. (2004) a: Abstammungsbegutachtungen in Defizienzfällen mit verwandten Putativvätern: eine simulierte Analyse in 27 Familien. *Arch Kriminol*, 214, 173-183.
65. **von Wurmb-Schwark N.**, Schwark T., Christiansen L., Lorenz D., Oehmichen M. (2004) b: The use of different multiplex PCRs for twin zygosity determination and its application in the forensic trace analysis. *Leg Med*, 6, 125-130.
66. **von Wurmb-Schwark N.**, Simeoni E., Poetsch M., Banaschak S., Mályusz V., Schwark T. (2008): Richtlinienkonforme Überprüfung von privaten Abstammungsgutachten an den rechtsmedizinischen Instituten in Greifswald, Jena und Kiel. *Arch Kriminol*, 222, 152-161.
67. **von Wurmb-Schwark N.**, Preusse-Prange A., Heinrich A., Simeoni E., Bosch T., Schwark T. (2009): A new multiplex-PCR comprising autosomal and y-specific STRs and mitochondrial DNA to analyze highly degraded material. *Forensic Sci Int Genet*, 3, 96-103.
68. **von Wurmb-Schwark N.**, Podruks E., Schwark T., Göpel W., Fimmers R., Poetsch M. (2015): About the power of biostatistics in sibling analysis-comparison of empirical and simulated data. *Int J Legal Med*, 129, 1201-1209.
69. **Warshawsky I.** (2009): Tubbs R. R., Stoler M. H., Cell and tissue based molecular pathology. 3–9, Churchill Livingstone, Philadelphia.
70. **Wenk R. E.**, Traver M., Chiafari F. A. (1996): Determination of sibship in any two persons. *Transfusion*, 36, 259-262.

71. **Wenk R. E.**, Chiafari F. A. (2000): Distinguishing full siblings from half-siblings in limited pedigrees. *Transfusion*, 40, 44-47.
  
72. **Wenk R. E.**, Chiafari F. A., Gorlin J., Polesky H. F. (2003): Better tools are needed for parentage and kinship studies. *Transfusion*, 43, 979-981.
  
73. **Wenk R. E.**, Shao A. (2012): Empowering sibship analyses with reference pedigrees. *Transfusion*, 52, 2614–2619.

## 7. Anhang



**Abbildung 16: Probanden-Paare.** Übersicht über die drei Gruppen, die in dieser Studie jeweils mit Powerplex® 16, Powerplex® 18 und Powerplex® 21 untersucht wurden. Die Gruppe der Unverwandten wurde nur mit Powerplex® 21 untersucht.

**Tabelle 8:** 22 Ausreißer-Fälle in der Gruppe der Vollgeschwister, deren Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Vollgeschwisterschaft unter 90% liegt. In den drei **fett** hervorgehobenen Fällen steigt diese Wahrscheinlichkeit bei der Berechnung mit 19 STR-Merkmalen auf über 99,9% an.

<i>Geschwisterpaar (Vollgeschwister)</i>	<i>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft bei Berechnung mit</i>		
	<i>15 STRs (in %)</i>	<i>17 STRs (in %)</i>	<i>19 STRs (in %)</i>
<b>GW10</b>	22,512025	98,553541	<b>99,935622</b>
GW15	78,458893	98,606076	96,081169
<b>GW20</b>	77,72476	99,139067	<b>99,964805</b>
GW52	0,05966	0,649539	0,040845
GW54	0,001276	0,000479	0,00003
GW75	4,786125	7,511044	0,505
GW91	53,096683	47,98659	69,327354
GW94	2,15531	7,568074	1,820406
GW106	87,760822	89,52287	95,686402
GW132	66,582154		
GW170	81,308712		
GW193	64,304018	75,510772	98,273017
GW197	0,005407	0,009825	0,00325
GW217	84,154341		
GW223	0,075519	0,029063	0,001817
GW228	8,694359	7,436895	21,796566
<b>GW283</b>	52,004613	99,848559	<b>99,923994</b>
GW312	88,733803	99,26098	97,558203
GW323	43,080028	10,676167	68,887831
GW337	7,369875	78,824499	98,240462
GW339	49,894893	42,518552	20,167198
GW350	59,163989	53,614783	51,49979



**Table 9:** Vergleich der Wahrscheinlichkeiten für eine Vollgeschwisterschaft und eine Halbgeschwisterschaft in der Gruppe der echten Vollgeschwister. Darstellung von 50 Vollgeschwister-Paaren, bei denen die Wahrscheinlichkeit für eine Halbgeschwisterschaft (Hypothese 3) fälschlicherweise höher ist, als die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft (Hypothese 1). **Fett** hervorgehoben sind drei Paare mit einer Wahrscheinlichkeit von über 99,9% für eine Halbgeschwisterschaft.

<b>Geschwisterpaar (Vollgeschwister)</b>	<b>Berechnung mit 15 STRs (in %)</b>	
	<b>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft</b>	<b>Wahrscheinlichkeit für Halbgeschwisterschaft</b>
GW10	22,512025	85,505914
GW12	99,681724	99,849045
GW15	78,458893	93,754437
GW17	96,960096	97,382862
GW20	77,72476	92,167323
<b>GW33</b>	<b>99,980438</b>	<b>99,980564</b>
GW52	0,05966	17,1461
GW53	97,74448	98,828875
GW54	0,001276	1,672459
GW63	98,682985	98,906454
GW64	97,288311	97,552642
GW65	96,768162	98,265256
GW72	98,328472	98,580827
GW73	93,815985	98,416559
GW75	4,786125	69,111587
GW82	91,982379	98,747508
GW83	98,843423	99,00004
GW86	98,233849	99,703224
GW87	99,745774	99,815032
GW91	53,096683	92,151604
GW94	2,15531	39,38889
GW106	87,760822	95,683496
GW132	66,582154	87,037235
GW143	98,902996	98,956
GW144	93,669253	93,982718

<i>Geschwisterpaar (Vollgeschwister)</i>	<i>Berechnung mit 15 STRs (in %)</i>	
	<i>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft</i>	<i>Wahrscheinlichkeit für Halbgeschwisterschaft</i>
GW158	93,059418	97,513087
GW170	81,308712	94,554341
GW172	98,358669	99,357497
GW177	97,08449	98,188457
GW179	99,755996	99,78648
GW182	98,876128	99,25358
GW193	64,304018	88,076685
GW197	0,005407	2,10179
GW217	84,154341	91,287485
GW223	0,075519	7,318663
GW228	8,694359	80,076713
GW248	95,18289	96,627292
GW274	93,382826	93,710735
GW283	52,004613	92,661238
GW289	99,64391	99,732759
GW307	97,692221	98,66851
GW312	88,733803	96,297686
GW313	97,271015	99,788657
GW323	43,080028	75,987746
GW337	7,369875	77,401746
GW339	49,894893	91,017033
<b>GW342</b>	<b>99,807097</b>	<b>99,919074</b>
<b>GW343</b>	<b>99,954685</b>	<b>99,973632</b>
GW350	59,163989	75,936237
GW354	97,469259	97,777862

**Tabelle 10:** Ergebnisse der Untersuchung von Mehrlingen. Vollständige Darstellung aller Fälle von Mehrlingen. Insgesamt sind drei Fälle mit Vierlingen und zwei Fälle mit Drillingen dargestellt. In jedem dieser Fälle kommt jeweils eine Geschwisterkonstellation vor, in der die Wahrscheinlichkeit von 99,9% für eine Vollgeschwisterschaft nicht erreicht wird. In allen übrigen Geschwisterkonstellationen des jeweiligen Falls wird dagegen eine Vollgeschwisterschaft nachgewiesen.

<i>Person 1</i>	<i>Person 2</i>	<i>Geschwister- paar (Vollgeschwister)</i>	<i>Wahrscheinlichkeit für Vollgeschwisterschaft bei Berechnung mit</i>		
			<i>15 STRs (in %)</i>	<i>17 STRs (in %)</i>	<i>19 STRs (in %)</i>
4003	4029	GW96	99,406059		
4029	4172	GW97	99,990735		
4172	4173	GW98	99,998496		
4003	4172	GW99	99,994572		
4003	4173	GW100	99,998437		
4029	4173	GW101	99,899739		
995	996	GW127	99,999711		
996	997	GW128	99,975138		
997	998	GW129	99,999146		
995	997	GW130	99,997881		
996	998	GW131	99,997654		
995	998	GW132	66,582154		
1950	1951	GW155	99,134847		
1952	1953	GW156	99,999959		
1950	1952	GW157	99,970434		
1950	1953	GW158	93,059418		
1951	1952	GW159	99,989198		
1951	1953	GW160	99,967603		
5316	5317	GW321	99,835992	99,99527	99,997795
5316	5318	GW322	99,445883	99,255453	99,995967
5317	5318	GW323	43,080028	10,676167	68,887831
5725	5726	GW347	99,866603	99,953614	99,992077
5725	5727	GW348	99,999996	99,999996	99,999999
5726	5727	GW349	99,999973	99,999995	99,999999

## 8. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Arbeit motiviert und unterstützt haben.

Ganz besonders möchte ich Frau PD Dr. von Wurmb-Schwark für die Bereitstellung des Themas und für die Betreuung dieser Arbeit, sowie für die erfolgreiche Präsentation der hier gewonnenen Ergebnisse bei der Jahrestagung der DGAB, sowie in einer Publikation danken. Außerdem danke ich dem gesamten Arbeitskreis für die freundliche Unterstützung bei der Einführung in das Thema dieser Dissertation, für die hilfreichen Tipps und für die Anleitung der praktischen Arbeit im Labor.

Mein Dank gilt sowohl der aktuellen als auch der ehemaligen Leitung des Instituts für Rechtsmedizin des UKSH, Campus Kiel, Frau Prof. Dr. Preuß-Wössner und Herrn Prof. Dr. Dr. Kaatsch für die Ermöglichung der Durchführung dieser Arbeit.

Ein herzlicher Dank geht an meine Freundinnen und Kommilitoninnen Gesa Erdbeer, Ina Sonntag und Julia Brecklinghaus. Julia, ich danke dir ganz herzlich für das Durchlesen und Korrigieren der Arbeit. Und ich danke euch allen für die schöne Studienzeit, die ohne euch sicher nicht so schön gewesen wäre.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen liebevollen Eltern Lilia und Mikhail. Ohne eurer Unterstützung hätte ich weder das Studium, noch diese Arbeit geschafft. Danke, dass ihr in guten, wie in schlechten Zeiten immer für mich da seid, mich ermutigt und unterstützt und immer an mich glaubt.

Und zum guten Schluss gebührt mein Dank meinen geliebten Ehemann Boris und Sohn Alexander. Boris, danke für deine starke Schulter und Geduld in allen Lebenslagen. Danke für unser glückliches gemeinsames Leben. Du bist ein toller Ehemann und ein noch besserer Vater. Alex, danke, dass du mir jeden Tag eine unendliche Freude schenkst und mich damit stärker machst.

## 9. Lebenslauf

### Persönliche Daten

---

<b>Name:</b>	Pinchuk (geb. Podruks)
<b>Vorname:</b>	Elena
<b>Geburtsdatum:</b>	26.01.1987
<b>Geburtsort:</b>	Birobidschan (Russland)
<b>Staatsangehörigkeit:</b>	deutsch
<b>Familienstand:</b>	verheiratet
<b>Kind:</b>	Alexander Pinchuk, geboren am 07.07.2017

### Schulbildung

---

<b>1994 – 2000</b>	allgemeinbildende Mittelschule Nr. 11, Birobidschan, Russland
<b>2000 – 2002</b>	Erich-Weinert-Realschule, Schwerin
<b>2002 – 2007</b>	Gymnasium Fridericianum, Schwerin
<b>06.07.2007</b>	Erlangung der allgemeinen Hochschulreife

### Studium

---

<b>10/2007 – 05/2015</b>	Studium der Humanmedizin, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
<b>13.05.2015</b>	Abschluss des Studiums mit dem dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
<b>19.05.2015</b>	Erlangung der Approbation als Ärztin

### Klinische Erfahrung

#### *Famulaturen*

---

<b>09/2011</b>	Innere Medizin, Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, UKSH, Campus Kiel
<b>03/2012</b>	Plastische und ästhetische Chirurgie, Helios Kliniken, Schwerin
<b>08/2012</b>	Kinderonkologie und -Hämatologie, UKSH, Campus Kiel
<b>09/2012</b>	Diagnostische Radiologie, UKSH, Campus Kiel
<b>08/2013</b>	Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie, UKSH, Campus Kiel
<b>10/2013</b>	Dr. med. Achim Leybold, FA für Allgemeinmedizin, Kiel

**Praktisches Jahr**

<b>04/2014 – 09/2014</b>	Gynäkologie und Geburtshilfe, Friedrich-Ebert-Krankenhaus, Neumünster
<b>09/2014 – 12/2014</b>	Innere Medizin, 2. Medizinische Klinik für Hämatologie/Onkologie, Städtisches Krankenhaus Kiel
<b>12/2014 – 04/2015</b>	Chirurgie, Städtisches Krankenhaus Kiel

**Beruflicher Werdegang**

<b>06/2010 – 08/2015</b>	Medizinische Hilfskraft bei CRS GmbH, Kiel
<b>seit 09/2015</b>	Assistenzärztin für Innere Medizin, 2. Medizinische Klinik für Hämatologie/ Onkologie, Städtisches Krankenhaus Kiel

**Wissenschaftliche Tätigkeit**

<b>03/2013 – 02/2018</b>	Promotion am Institut für Rechtsmedizin, Abteilung für forensische Genetik, UKSH, Campus Kiel
--------------------------	---

**Kongressbeitrag**

<b>13.06.-15.06.2013</b>	von Wurmb-Schwark N., <b>Podruks E.</b> , Poetsch M., Preuße-Prange A., Schwark T. (13.06.-15.06.2013): Die Untersuchung von Geschwisterwahrscheinlichkeiten in der rechtsmedizinischen Praxis. Jahrestagung der DGAB und der deutschsprachigen Arbeitsgruppe der ISFG, Greifswald, wissenschaftlicher Vortrag.
--------------------------	---

**Veröffentlichung**

<b>08/2015</b>	von Wurmb-Schwark N., <b>Podruks E.</b> , Schwark T., Göpel W., Fimmers R., Poetsch M. (2015): About the power of biostatistics in sibling analysis-comparison of empirical and simulated data. Int J Legal Med, 129, 1201–1209.
----------------	--

Penzberg, den 10.02.2018

Unterschrift (Elena Pinchuk)

## **10. Ehrenwörtliche Erklärung**

Ich versichere hiermit an Eides Statt, dass meine Dissertation mit dem Thema: „Die Beurteilung von Geschwisterwahrscheinlichkeiten in der rechtsmedizinischen Praxis“, abgesehen von Ratschlägen meiner Doktormutter und meiner sonstigen akademischen Lehrer, nach Form und Inhalt meine eigene Arbeit ist, dass ich außer den in der Arbeit aufgeführten keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe, und dass meine Arbeit bisher, weder ganz noch in Teilen, keiner anderen akademischen Stelle als Dissertation vorgelegen hat.

Penzberg, den 10.02.2018

---

Unterschrift (Elena Pinchuk)