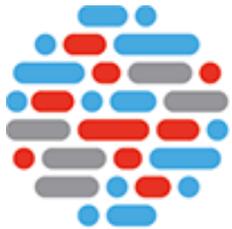


Publication des résultats génétiques sur le Canis Lupus en France

Grenoble , le 22 novembre 2017



**Résultats des analyses génétiques effectuées
par le laboratoire FORGEN (Allemagne)**

*Document synthèse pour la période mai à octobre 2017 réalisé par
le groupe de personnes ayant demandé, réalisé et financé ces analyses.
Merci au soutien des éleveurs, des élus et des associations*



Pourquoi des analyses génétiques?

- Permet d'identifier l'auteur de l'attaque (si loup ou chien)
- Permet de faire des recours si l'ONCFS classe la prédation en "LOUP EXCLU"
- Permet d'identifier si l'animal est un loup ou un hybride
- Permet d'identifier les individus, et de dénombrer une population
- Permet de retrouver les populations similaires dans le monde, et d'expliquer les origines.

Pourquoi les éleveurs? (et élus)

- L'ONCFS ne nous avait jamais communiqué de résultats d'analyses génétiques malgré les prélèvements effectués par leurs agents et malgré nos demandes de retour d'analyses
- L'Oncfs a toujours REFUSÉ de faire des analyses sur les victimes, au service des éleveurs attaqués, ne faisant des analyses QUE sur des échantillons-loups (crottes, poils) au service du suivi de la population-loups dans son expansion
- L'ONCFS a toujours sous estimé le nombre de loups et le pourcentage d'hybridation



Procédure et déroulement des analyses génétiques

Les prélèvements

- Les prélèvements sont effectués sur les animaux prédatés, les crottes, des poils laissés par les prédateurs, ou sur des ossements
- Les personnes qui pratiquent les prélèvements ont une notice sur la méthode (matériel, précautions, consignes) et fiche de renseignement



Instruction pour le "prélèvement" ADN

Comment faire pour récupérer l'ADN sur un animal victime de prédation mort ou blessé :

- 1/ Eloigner vos chiens, laisser l'animal trouvé sur place. Faites des photos pour documenter, protéger l'animal mort pour le vent à basse température, et le protéger du soleil (un uniforme l'ADN plus que la pluie)
- 2/ **DE QUOI AVEZ-VOUS BESOIN ?** Des gants de latex AA usage unique, des sachets de plastique propre (qui peuvent servir aussi DE gants), des compresses de ouate (alternatives : coton-tige, coton AA DÉMAQUILLER, mouchoirs EN papier propre TOUT JUSTE SORTIS DU PAKET), 3x3 coton-tiges DE VOS PROPRES.

Équipement minimum : mouchoirs en papier propres, 3 à 10 sachets plastique (pour compléter), feutre INDELEBILE pour écrire sur les sachets, téléphone portable pour faire des photos.

- 3/ Enlever le poil si elle est sale (surtout s'il y a de l'ADN de chien de troupeau), mettre des gants de latex (sachet de plastique) à usage unique. Éventuellement PRÉLEVER un exemple d'ADN de son chien SUR LA GENCIVE, entre la mâchoire supérieure et laèvre supérieure pour faire une ÉVENTUELLE analyse.
- 4/ **PRÉLEVEMENT de l'ADN :** prendre l'ÉCHANTILLON au bord d'une plaie (être d'une plaie) de la victime ou si y a peu de sang, faire plusieurs frotts sur les endroits où le prédateur a pu laisser de la salive. Ne pas oublier la zone où le prédateur a agrippé (si il a pris entre ses canines), où le tigeur a touché la proie. Pour ce faire, prélever sur les blessures à l'aide d'un coton-tige, d'un mouchoir en papier (2-3 coton-tiges par animal). Ne pas toucher le coton-tige, la compresse, le mouchoir, la ouate ... **soyez vous très très propres.**



Voir la photo :
 Attention : baignonnez les bords de la plaie sans prendre de sang
 Bleu : frotter l'os (Vous pouvez avoir deux à trois échantillons de référence pour le laboratoire)

Si l'animal prédaté est sec et pas couvert de rosée ou de pluie, mouillez un peu la ouate ou le Fendroid d'ou vous prenez l'exemple ADN avec des feutres propres, non plastiques, pour que la salive s'attache bien au coton.

METTRE CHAQUE EXEMPLE DANS UN SACHET DIFFÉRENT ET ANNOTEZ-LE. À LA MAISON, OUVEREZ LES SACHETS ET LAISSEZ SÉCHER LA QUATRE COTON/MOUCHOIRS À TEMPÉRATURE AMBIANTE, AVANT DE L'ENVOYER PAR VOIE POSTALE !

FORGEN
 Fanglebichstr. 75 un
 22547 Hamburg
 Tel. 04102 72 36 00
 Fax. 04102 72 36 10
 http://www.forgen.de

Un virement de 78,28 € TTC devra être envoyé au compte du laboratoire
 IBAN : DE 61 200 905 501 002 238 630 BIC : HA SPD EHM XXX

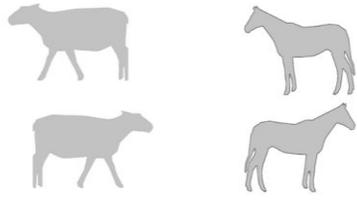
Suivent l'analyse ou les difficultés rencontrées, un complément pourra être fait. L'analyse plus complète s'élève à 100,98 € TTC. Les résultats cette facture vous seront envoyés par e-mail.

Mon adresse:
 Locante Bruno
 5 Chemin du Haut des Boucheux
 80330 LA DRESSE

Le coût de l'analyse est de 30 € moins cher si vous envoyez chez moi... car je participe à hauteur de 30 € analyse (uniquement pour les 20 premières).
 Vous m'envoyez l'échantillon ADN, avec un chèque de 40 €, je vous adresse les résultats du laboratoire, mais ceux-ci devront rester confidentiels.

Feuille à joindre dans le courrier

Dessinez le lieu de la prise de l'exemple ADN (par exemple avec des numéros... qui correspondent aux sachets: 1 la gorge, 2 le ventre...) sur la page avec des dessins



Dates de la prédation, et espèce animal prédaté:

Date/Heure du prélèvement ADN:

Lieu:

L'Animal/Animaux:

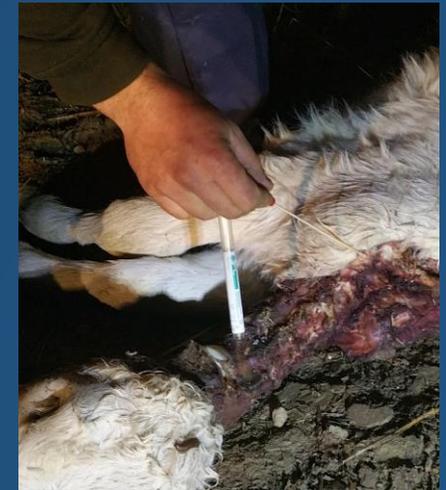
Nombre(s) d'Animal(s):

Nom Prénom Adresse Postal:

Email:

Signature de la personne qui a pris le prélèvement:

Nom Prénom et signature du témoin:







Procédure et déroulement des analyses génétiques

Le choix du laboratoire

Le choix du laboratoire s'est fait sur plusieurs critères:

- la capacité à réaliser ces recherches génétiques sur les loups
- l'indépendance du laboratoire
- La base de données sur les canidés
- L'accréditation et la certification du laboratoire.

Le laboratoire allemand FORGEN pratique la génétique médico-légale à Hambourg.

Depuis 2016, il est **certifié** par le service allemand d'**accréditation** selon la norme ISO 17025.

FORGEN réalise

- Des tests de filiation
- Des analyses génétiques, même avec des traces minimales
- Des analyses génétiques sur des animaux (identification des espèces, analyses de bâtardise sur des chiens)
- Le typage de chiens, chats, chevaux, lapins, etc... à partir de blessures par morsures.
- Etc.....

Et il est expert auprès des tribunaux.

Les analyses sont réalisées avec les mêmes normes de qualité pour les échantillons humains ou animaux.

maison analyse généalogique enquêtes de traces échantillons appartenant méthodes qualité animaux institut contact

L'analyse généalogique et les études de suivi

Le test de paternité et d'analyse de pedigree et des enquêtes et des analyses de traces biostatistiques sont nos domaines d'expertise - chez les humains et les animaux. Pour notre analyse, nous utilisons les dernières méthodes génétiques, biochimiques et immunologiques moléculaires. Nous assurons la meilleure recherche et vous conseillons possible.

Le test de paternité et d'analyse de...
enquêtes sur piste et des analyses
Méthodes d'analyse génétique



Docteur von Wurmb-Schwark est une scientifique qui a publié 80 articles dans des revues internationales, a réalisé plus de 150 rapports et contributions scientifiques. Elle a aussi été formatrice à l'école de police sur la génétique médico-légale et enseignante responsable à l'université de Kiel en biologie judiciaire.

Le docteur Jan-Hendrik MODROW est l'expert en génétique animale et sa thèse de doctorat a été consacrée au typage génétique des animaux.



Procédure et déroulement des analyses génétiques

Laboratoire possédant la CERTIFICATION QUALITÉ la plus haute (médico-légal) (DAkkS et dgab)


Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH
 Beliehene gemäß § 9 Absatz 1 AkkStelleG i.V.m. § 1 Absatz 1 AkkStelleGV
 Unterzeichnerin der Multilateralen Abkommen
 von EA, ILAC und IAF zur gegenseitigen Anerkennung

Akkreditierung 

Die Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH bestätigt hiermit, dass das Prüflaboratorium

ForGen Forensische Genetik und Rechtsmedizin
 am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Fangdickstraße 75 A, 22547 Hamburg

die Kompetenz nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005 besitzt, Prüfungen in folgenden Bereichen durchzuführen:

Forensik
 Veterinärmedizin

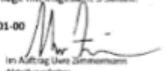
Prüfgebiete:
 Forensische Genetik (Abstammungsgutachten, DNA-Spuren, Vergleichsproben, Identitätsfeststellung),
 Genetik (Abstammungsgutachten)

Prüfarten:
 Polymerase-Kettenreaktion (PCR),
 Amplifikationsverfahren

Prüfgegenstände:
 Humane DNA aus: Mundschleimhautabstrichen, Blutproben, Humanmaterial, forensischen
 Spuren und Geweben, Knochen und Zähnen, Hundespezifische DNA und Katzenspezifische DNA
 aus: Mundschleimhautabstrichen, Blutproben, Geweben, Spuren

Die Akkreditierungsurkunde gilt nur in Verbindung mit dem Bescheid vom 27.12.2016 mit der
 Akkreditierungsnummer D-PL-20545-01 und ist gültig bis 26.12.2021. Sie besteht aus diesem Deckblatt,
 der Rückseite des Deckblatts und der folgenden Anlage mit insgesamt 3 Seiten.

Registrierungsnummer der Urkunde: **D-PL-20545-01-00**

Frankfurt a. Main, 27.12.2016 
 Im Auftrag Uwe Zimmermann
 Abteilungsleiter

Siehe Rückseite auf der Rückseite


 fachabstammungsgutachterin
 geprüft durch die kfqa
 prüfz. 02M/2013 www.kfqa.de

Die Kommission zur Feststellung der Qualifikation von Abstammungsgutachtern
 (KFQA) verleiht Frau

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
 Institut für Rechtsmedizin
 Kiel

auf Grund der Fortbildungsordnung der Deutschen Gesellschaft für Abstammungsbegutachtung den Fachtitel

Fachabstammungsgutachterin DGAB.

Frau PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark hat damit ihre Qualifikation als Sachverständige für Abstammungsgutachten gegenüber der KFQA nachgewiesen.

Sie erfüllt die Anforderungen aus Abschnitt 12 der *Richtlinie der Gendiagnostik-Kommission (GDKO) 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* (Bundesgesundheitsbl 2013 · 56:169–175) in der Fassung vom 17.07.2012.


 Prof. Dr. Peter M. Schneider
 Vorsitzender der Kommission

Köln, den 20. März 2013

KOMMISSION ZUR FESTSTELLUNG DER QUALIFIKATION VON ABSTAMMUNGSGUTACHTERIN
 VEREINIGUNGSPARTNER AUS VERBANDEN DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR ABSTAMMUNGSBEGUTACHTUNG (FACHBEREICHUNG), DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR HÄRANGENETIK, DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR RECHTSMEDIZIN, DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR TRANSFUSIONSMEDIZIN UND IMMUNSERUMOLOGIE, DER ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR GENDIAGNOSTIK UND DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR JERANGENETIK
 Vorsitz: Prof. Dr. med. univ. Peter M. Schneider, Institut für Rechtsmedizin der Universität Köln
 Korrespondenz an die Sekretariat g.-Adi, Institut für Blutgruppenserologie und Genetik,
 Hämatologischen Korp 67, 22521 Hamburg
 Tel. (040) 29 99 31-0, Fax (040) 29 07 95, info@kfqa.de, www.kfqa.de



Procédure et déroulement des analyses génétiques

L'échantillon....l'identification, puis premier test de salive



Recherche de loup 1407
 Feuille à joindre dans le courrier

Dessinez le lieu de la prise de l'exemple ADN (par exemple avec des numéros, qui correspondent aux sachets: 1 la gorge, 2 le ventre ...) sur la page avec les dessins

Dates de la prédation, et espèce animal prédaté:
 28/3/12
 Date/Heure du prélèvement ADN:
 280917A①②③
 Lieu:
 L'Animal/Animaux: Brebis
 Nombre d'Animaux: 1
 Nom Prénom Adresse Postal: MARCHIVE Prêtre
 Bengougal, 12305^{ème} EUROPE
 de CANNON
 Email: marchive.ginette@leposte.net
 Signature de la personne qui a pris le prélèvement: *[Signature]*
 Nom Prénom et signature du témoin:

Ser de rat - la Couventisade



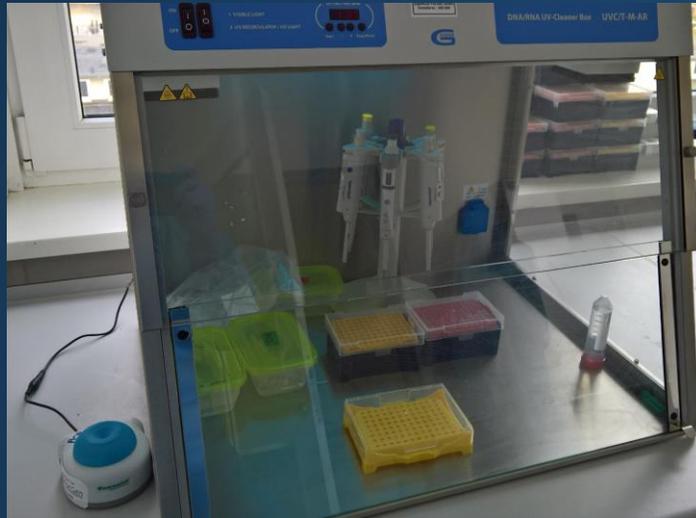


Procédure et déroulement des analyses génétiques

Préparation pour
l'extraction : incuber dans
un tampon de lyse
(différentes températures et
durées)



Préparation de la PCR
(Réaction de Polymérisation
en Chaîne) multiplex pour les
STR (Short Tandem Repeat)
spécifiques au chien



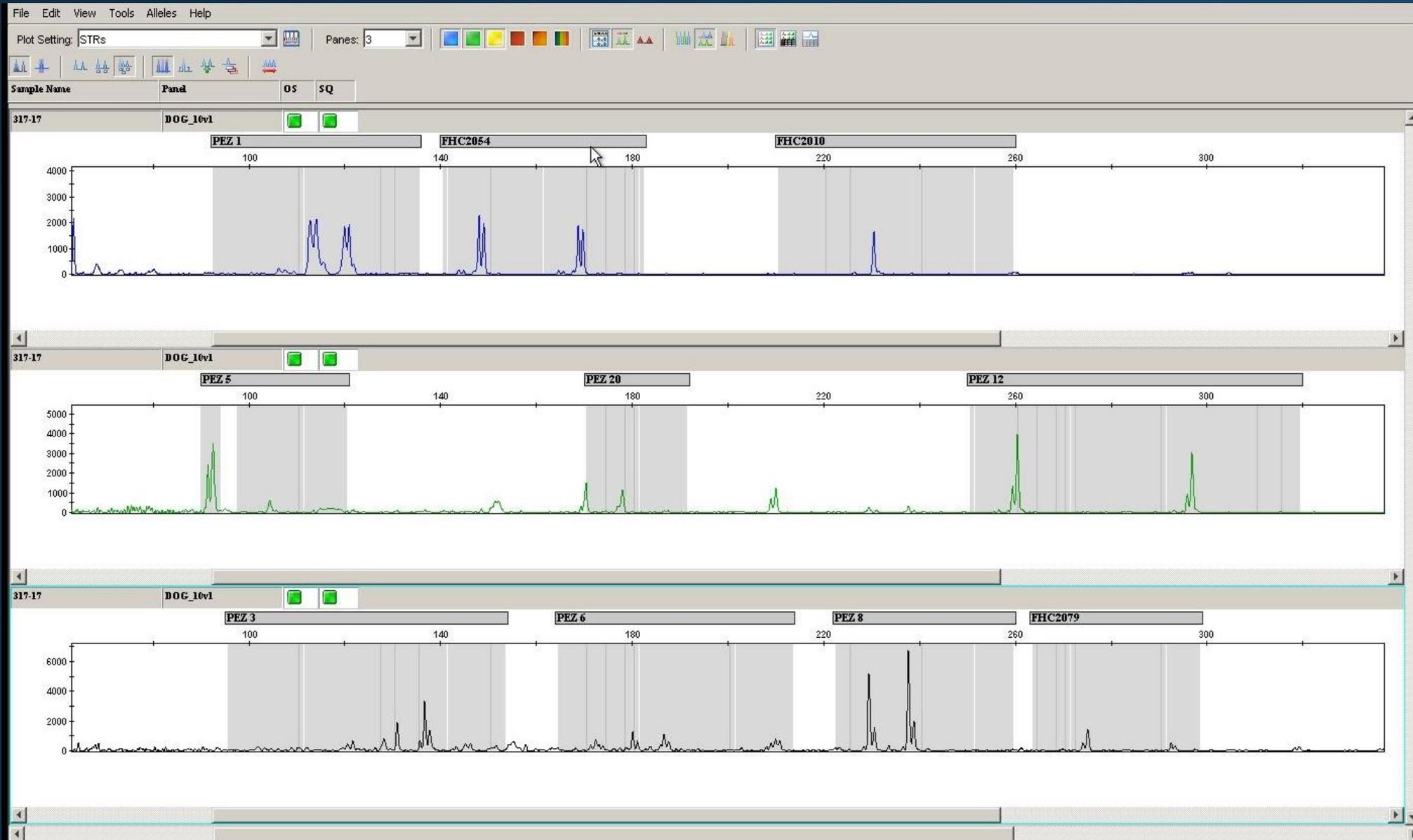
Amplification de marqueurs
STR spécifiques au chien





Procédure et déroulement des analyses génétiques

Détection des fragments spécifiques



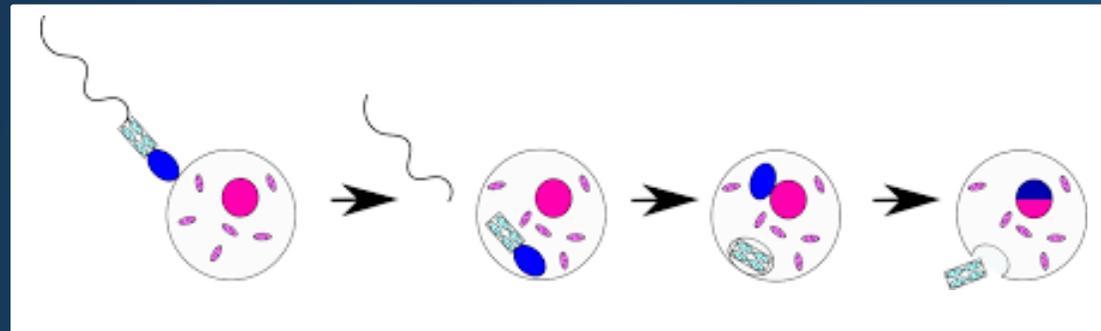


Procédure et déroulement des analyses génétiques

Le type d'analyse et le choix des marqueurs

Pourquoi ne pas faire d'analyse mitochondriale ?

L'ADN du mâle (paternel= spermatozoïde) fusionne avec l'ADN femelle (maternel) dans le noyau de l'ovule, mais les mitochondries de l'ovule ne captent pas cet ADN paternel, et ne contiennent donc que l'ADN maternel= perte de l'information génétique paternelle dans les mitochondries.

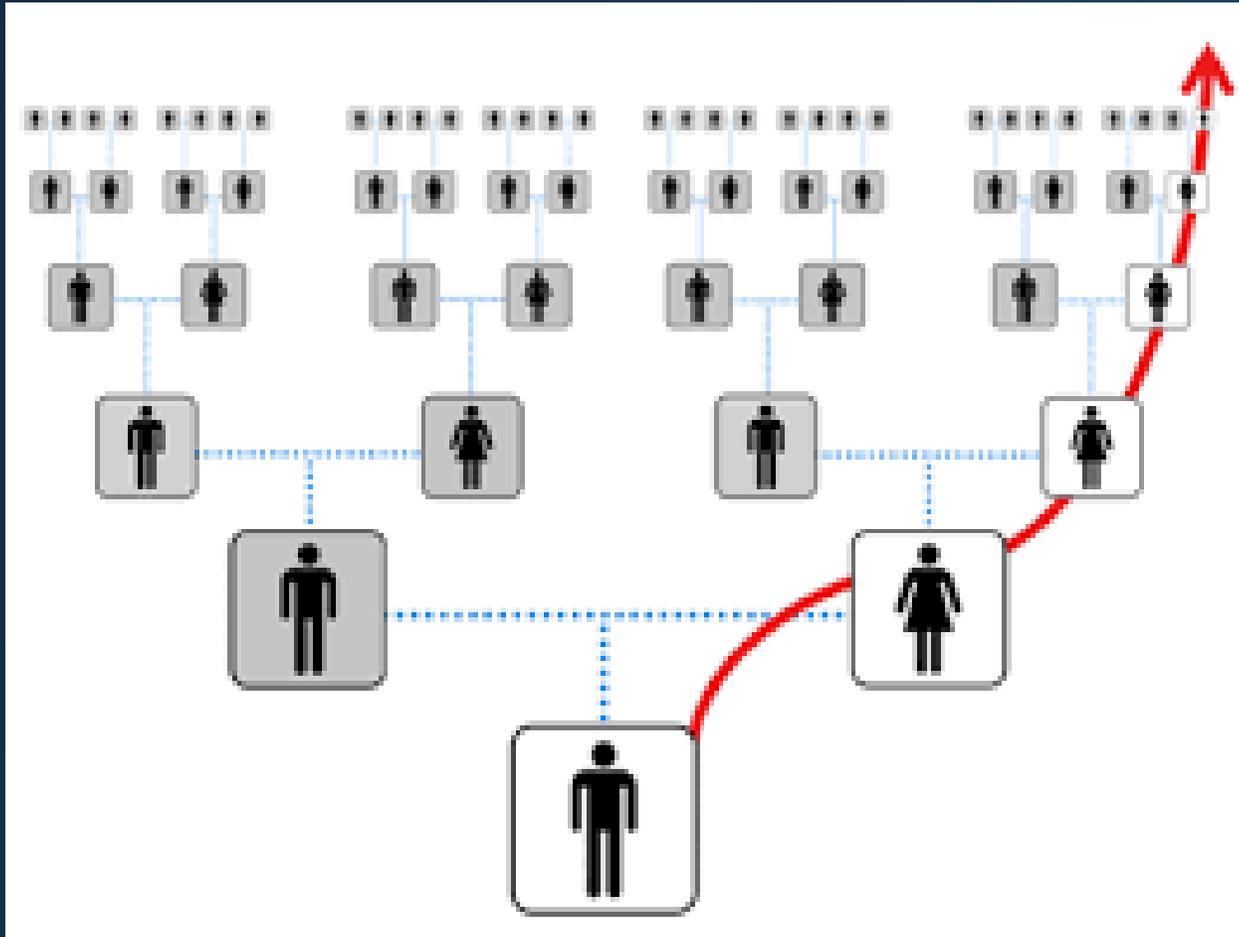




Procédure et déroulement des analyses génétiques

Le type d'analyse et le choix des marqueurs

Pourquoi ne pas faire d'analyse mitochondrial ?



L'ADN Mitochondrial n'est transmis que sur les femelles : permet de remonter la lignée maternelle.

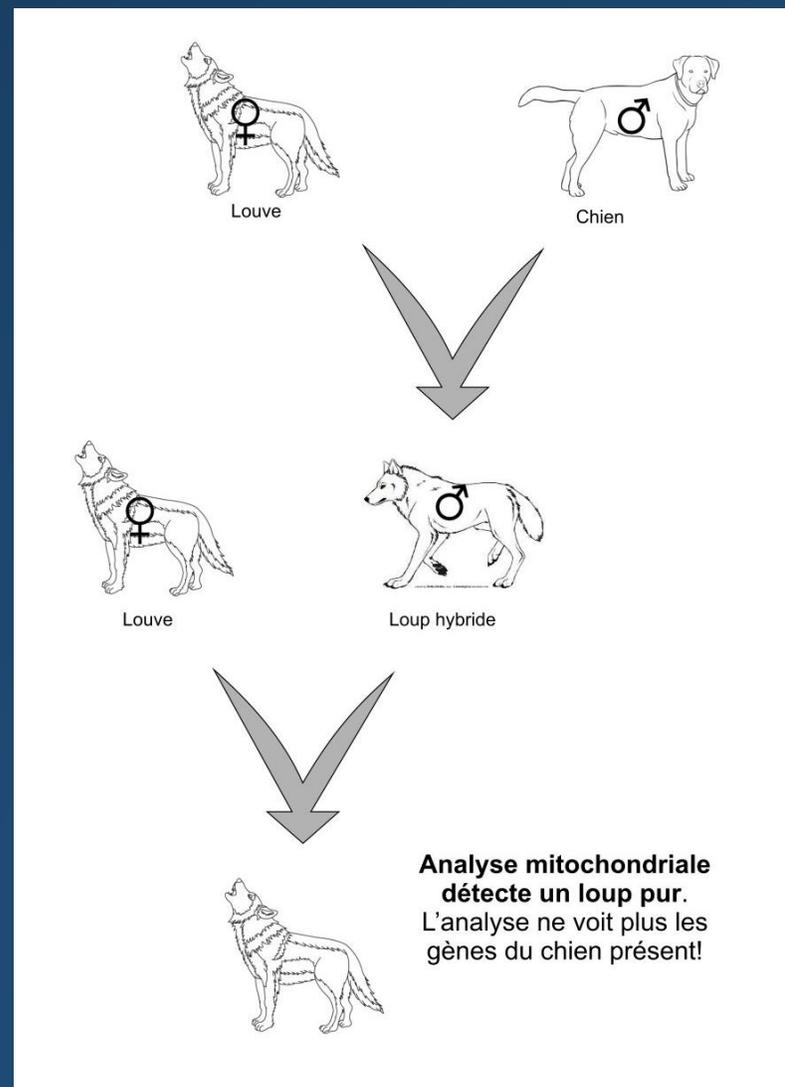
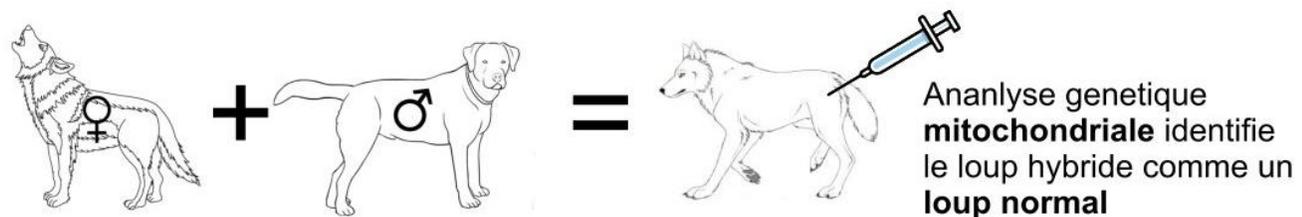
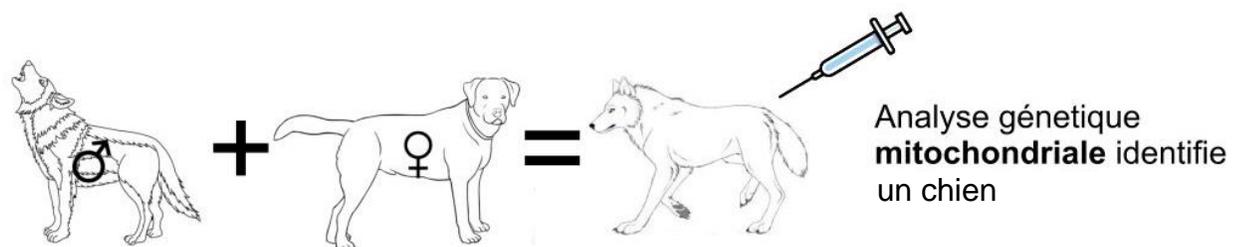
Schéma de synthèse qui fonctionne chez tous les animaux.



Procédure et déroulement des analyses génétiques

Le type d'analyse et le choix des marqueurs

Limite sur l'analyse mitochondriale





Procédure et déroulement des analyses génétiques

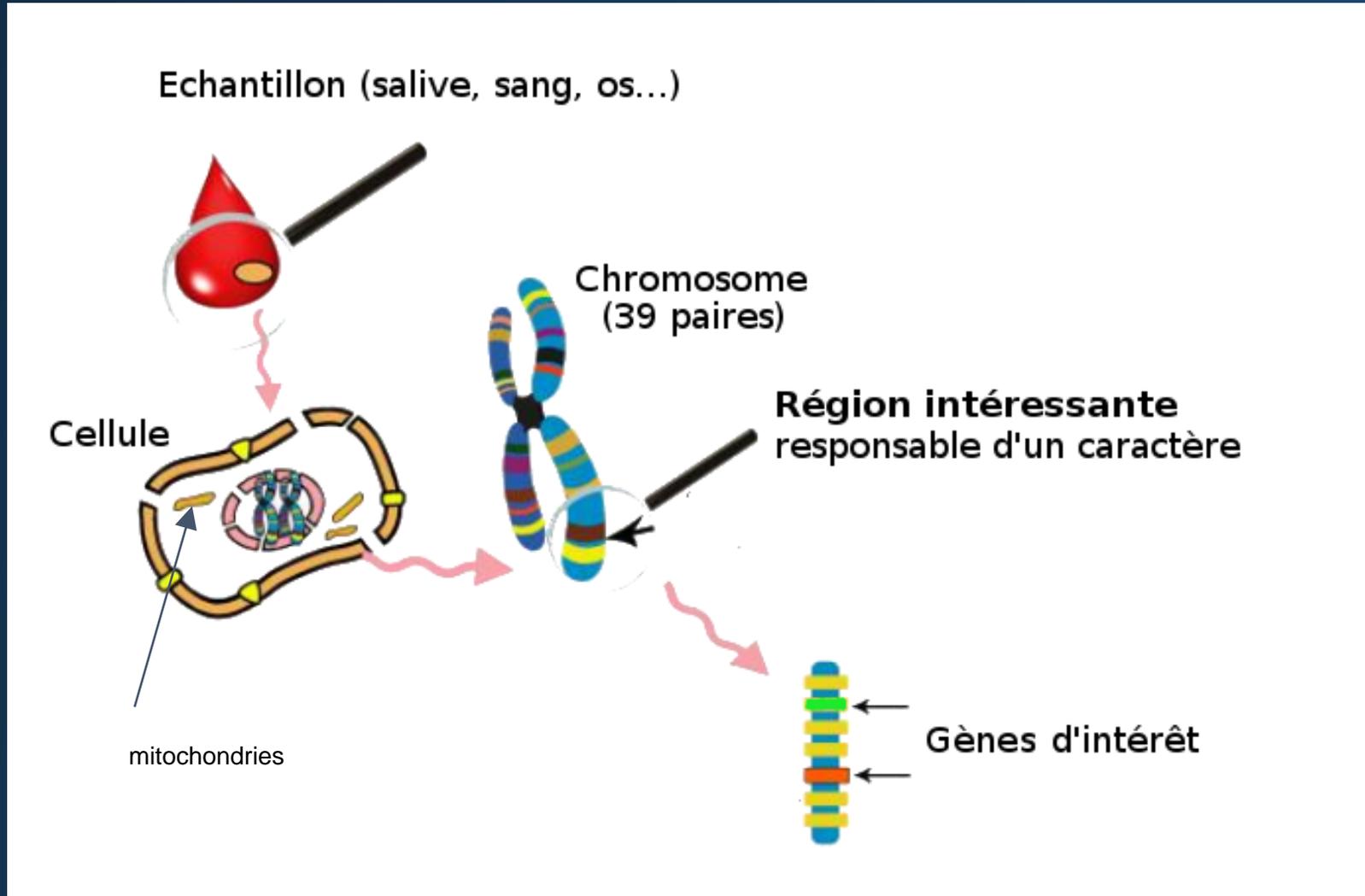
Le type d'analyse et le choix des marqueurs

Pour toutes ces raisons, le laboratoire allemand ForGen a décidé de ne pas choisir l'analyse mitochondriale.

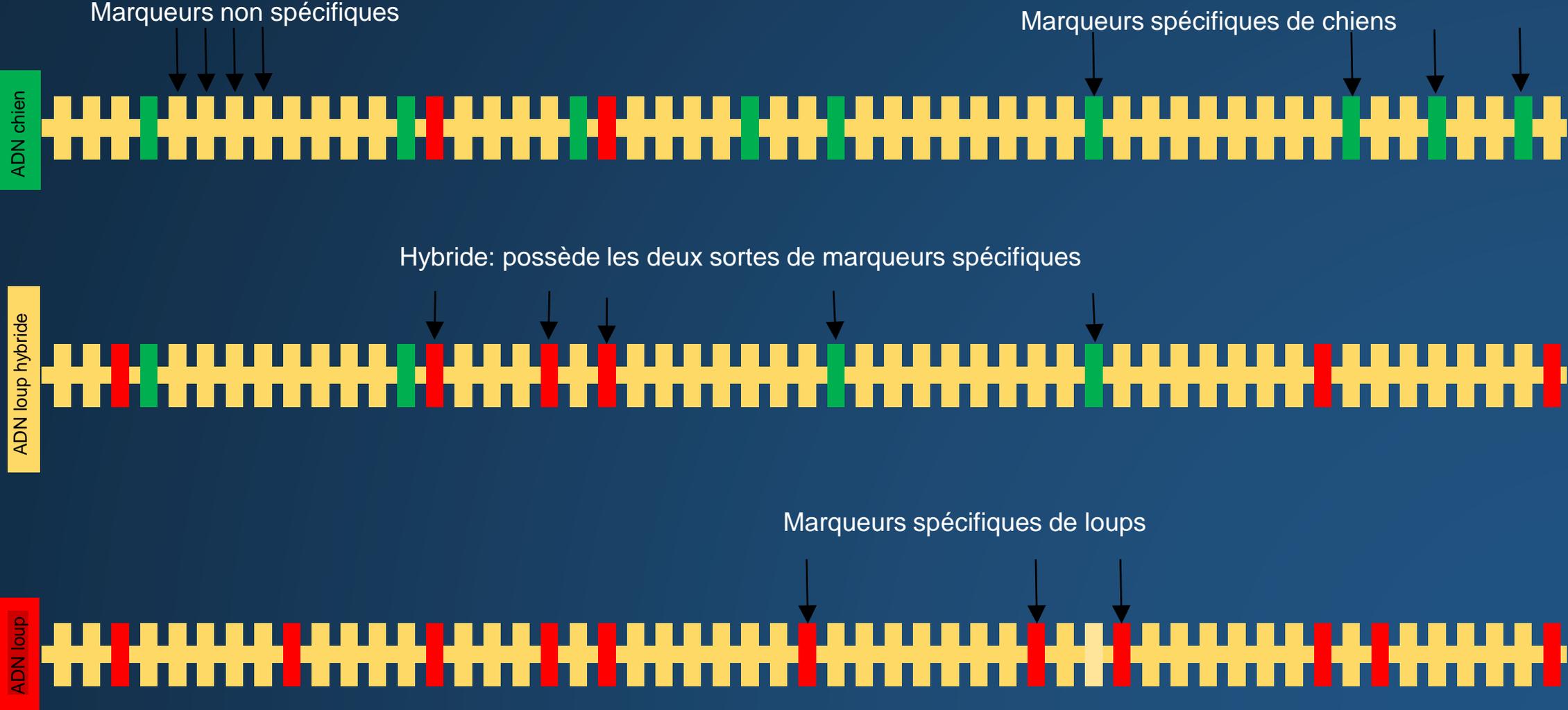


Procédure et déroulement des analyses génétiques

Le type d'analyse et le choix des marqueurs

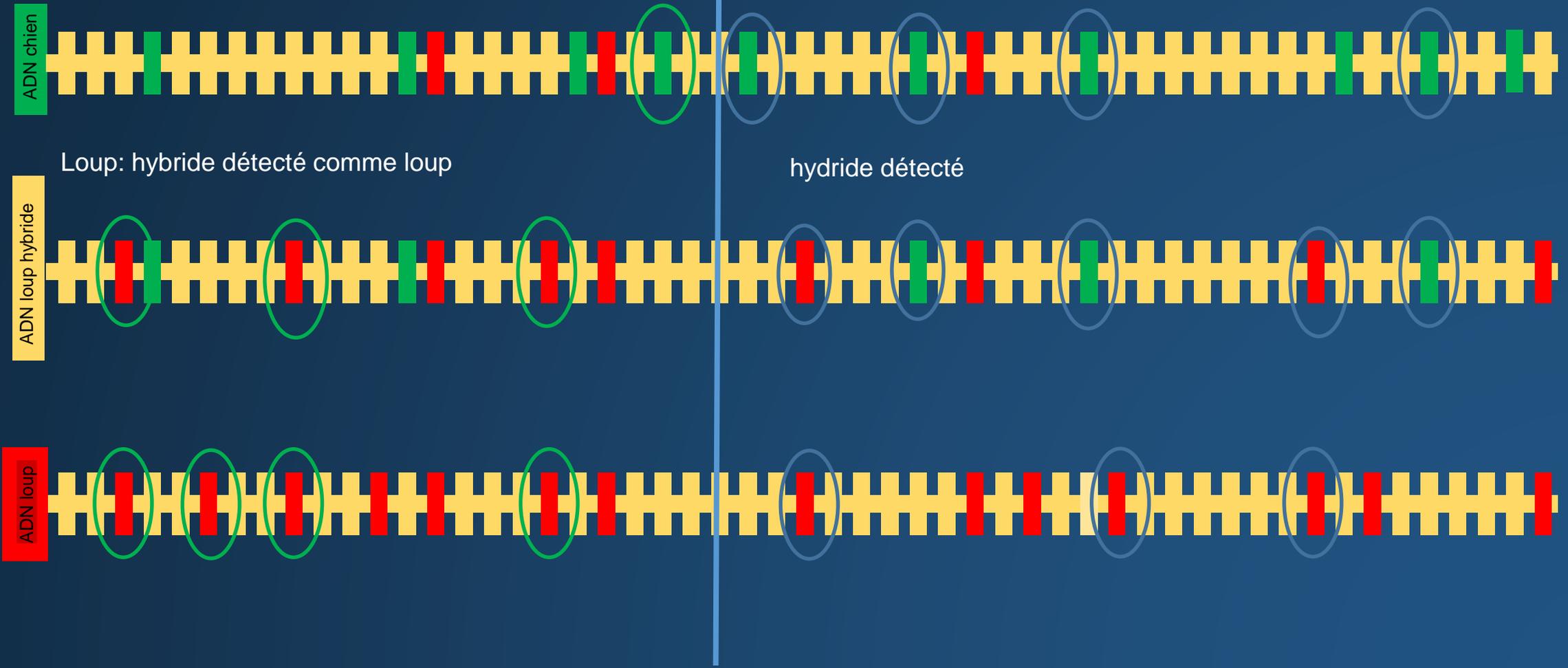


La chaîne d'ADN est composée de millions de marqueurs et de différents allèles par marqueur. Pour les canidés, 99% des marqueurs (en jaune) sont identiques entre un chien et un loup. Il reste un faible pourcentage de marqueurs spécifiques, c'est cela qui différencie un chien d'un loup (rouge et vert). Sachant que le chien vient du loup, il y a quelques marqueurs spécifiques de loups chez les chiens, c'est normal. Par contre, il ne doit pas y avoir de marqueurs spécifiques des chiens dans les loups car les marqueurs spécifiques des chiens sont dus à la domestication. S'il y en a, ça devient des loups hybrides.



○ Marqueur spécifique recherché par les laboratoires qui ne trouvent pas d'hybride

○ Marqueur spécifique recherché par ForGen, qui cherche les marqueurs de loup et de chien





Procédure et déroulement des analyses génétiques

Détecter des fragments spécifiques

Incertitude et certitude sur l'allèle

- Dûes au matériel :
 - l'incertitude de la machine (1 ou 2 points sur l'allèle) (comme l'incertitude d'une balance)
 - Problème de standard de mesure entre laboratoires. (comme par exemple mesure d'une surface d'une maison, qui peut être la mesure intérieur, extérieur, ou sous avant toit) Un standard mondial de mesure doit être créé dans les mois à venir



Procédure et déroulement des analyses génétiques

Détecter des fragments spécifiques

Incertitude et certitude sur le **choix des marqueurs**

Les marqueurs sont des morceaux d'ADN qui caractérisent la morphologie de l'animal. Il y en a des millions. Entre les chiens et les loups, il y a 99 % de gènes identiques. Il faut donc analyser les différences entre gènes dans les 1 % qui restent, mais qui représentent encore des milliers de marqueurs, plus ou moins pertinents.

Le choix des marqueurs est essentiel. Grâce au séquençage du génome des loups et des chiens, il est possible de détecter les marqueurs constants chez les loups et chez les chiens. C'est un travail fastidieux, et délicat.

Le laboratoire ForGen a travaillé en collaboration avec d'autres scientifiques pour trouver des marqueurs pertinents, qui caractérisent les chiens de diverses races, et les sous-espèces de loups de divers pays.

10 Marqueurs ont été choisis avec soin par ForGen et d'autres scientifiques pour déterminer les différentes races de chiens, et différents types de loups.

On peut en choisir 30, mais s'ils ne définissent pas un caractère particulier, ils ne sont pas décisifs dans la détermination de l'espèce loup ou chien. (voir schéma précédant)



Procédure et déroulement des analyses génétiques

Détecter des fragments spécifiques

Incertitude et certitude

- sur la **base de données** génétiques **des espèces de chiens** :

ForGen a une base de données de 700 chiens sur 100 races différentes, essentiellement sur l'Europe. (minimum 5 par races)

Cette base de données est analysée avec les marqueurs identiques à ceux qui ont été utilisés pour les loups.

L



Procédure et déroulement des analyses génétiques

Détecter des fragments spécifiques

Incertitude et certitude

- sur la **base de données** génétiques des **espèces de loup** :

ForGen a une base de données de 120 loups de différentes origines géographiques, avec 4 sous espèces.

ForGen travaille avec des scientifiques internationaux pour ces références de loups.

Par contre, ForGen n'a pas la référence du loup « model » et pur italien
(*hybridation reconnue a partir des années 70*)



Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

27.09.2017	bis	09.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1311-17	2 Abstriche, Forensic Swab	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1312-17	Gewebeprobe, mit hellen und dunklen Haaren Es wird ein Stück des Gewebes (Haut) abgeschnitten und aufgearbeitet.	Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 3	1313-17	2 Abstriche, Copan 1 Abstrich, Forensic swab	Siehe Spur 1
Spur 4	1314-17	3 Abstriche, Copan	s.o.



Photos des échantillons envoyés.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

Type de document que l'on reçoit.



Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1311-17	negativ
1313-17	negativ
1314-17	negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1311-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1312-17 (Spur 2)	13 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 119 FHC2054: 143/151 FHC2010: 226 PEZ5: (92)/103 PEZ12: 269 PEZ3: 111 PEZ6: 177/181 PEZ8: 211/228 FHC2079: 273 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Schäferhund) Wolf (40±2 %, lettische Population)	Hund oder Wolfmischling. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen
1313-17 (Spur 3)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: PEZ5: 92/116 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da zu wenig STR-Systeme nachweisbar. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen.
1314-17 (Spur 4)	Vollprofil: PEZ1: 97/134 FHC2054: 155/170 FHC2010: 234/249 PEZ5: 106/119 PEZ20: 176 PEZ12: 262/268/296 PEZ3: 109/129/137/146 PEZ6: 183/187 PEZ8: 212/232/252 FHC2079: 266/269 SRY-Test: (schwach positiv)	Nicht zu empfehlen	Mischprofil von mindestens zwei verschiedenen Tieren, möglich Hund, Wolf oder Mischling aus beiden. Keine wolfsspezifischen Allele nachweisbar.

Tableau des résultats d'analyses (allemand)

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); [H]Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom



Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1311-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1312-17 (Spur 2)	13 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 119 FHC2054: 143/151 FHC2010: 226 PEZ5: (92)/103 PEZ12: 269 PEZ3: 111 PEZ6: 177/181 PEZ8: 211/228 FHC2079: 273 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehund (55±2,75 %, z.B. Schäferhund) Wolf (40±2 %, lettische Population)	Hund oder Wolfmischling. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen
1313-17 (Spur 3)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: PEZ5: 92/116 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da zu wenig STR-Systeme nachweisbar. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen.
1314-17	Vollprofil: PEZ1: 97/134 FHC2054: 155/170 FHC2010: 234/249 PEZ5: 106/119 PEZ20: 176	Nicht zu empfehlen	Mischprofil von mindestens zwei verschiedenen Tieren, möglich Hund, Wolf oder Mischling aus beiden.

N° échantillon

Liste des 10 marqueurs

Résultat des espèces d'individu (si suffisamment de marqueurs)

Resumé

Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

13 Merkmale in 9 von 11 Systemen:

Systemen:

PEZ1: 119

FHC2054: 143/151

FHC2010: 226

PEZ5: (92)/103

PEZ12: 269

PEZ3: 111

PEZ6: 177/181

PEZ8: 211/228

FHC2079: 273

SRY-Test: negativ

Allèles toujours par deux
(1 apport père et 1 apport mère)

Parenthèse = faible quantité

si un Allèle, c'est deux fois le même
(exemple : 111= 111/111)

Si négatif: femelle
si positif : Mâle

liste des 10 marqueurs

Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

1313-17 (Spur 3)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: PEZ5: 92/116 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da zu wenig STR-Systeme nachweisbar. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen.
1314-17 (Spur 4)	Vollprofil: PEZ1: 97/134 FHC2054: 155/170 FHC2010: 234/249 PEZ5: 106/119 PEZ20: 176 PEZ12: 262/268/296 PEZ3: 109/129/137/146 PEZ6: 183/187 PEZ8: 212/232/252 FHC2079: 266/269 SRY-Test: (schwach positiv)	Nicht zu empfehlen	Mischprofil von mindestens zwei verschiedenen Tieren, möglich Hund, Wolf oder Mischling aus beiden. Keine wolffspezifischen Allele nachweisbar.

Impossibilité (pas assez de marqueurs)

1 marqueur sur 10 analysés

3 allèles

4 allèles

- 2 allèles = 1 individu
- 3 allèles = 2 individus donc association impossible
- 4 allèles = 2 individus donc association impossible
- 5 allèles = 3 individus donc association impossible

Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

Explication du pourcentage

FCI-1-Hütehund

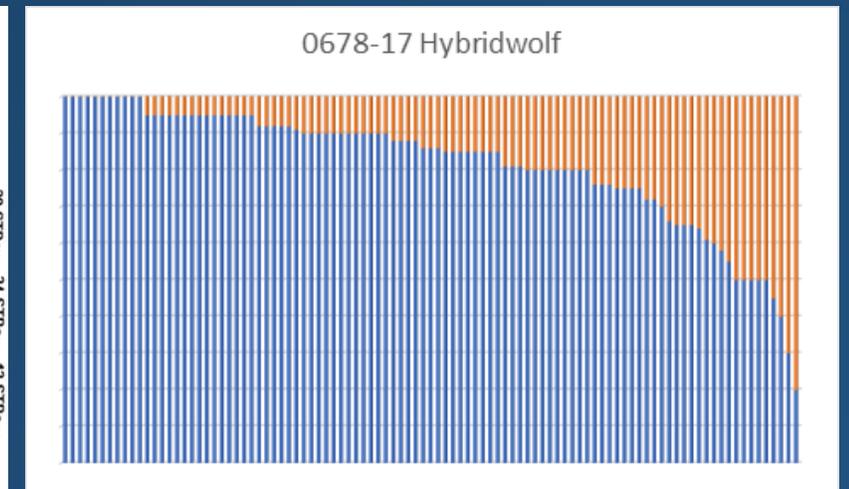
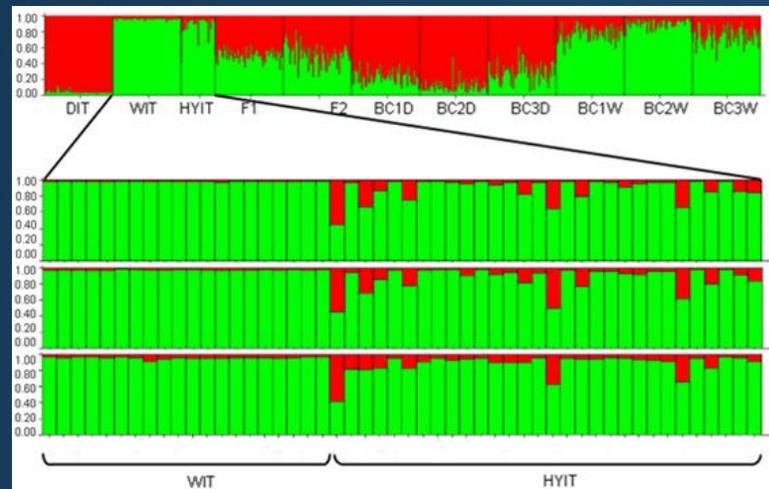
($55 \pm 2,75$ %, z.B. Schäferhund)

Wolf

(40 ± 2 %, lettische Population)

ForGen recherche les 10 marqueurs spécifiques choisis. Le résultat d'une analyse donne le schéma ci dessous.

Pour avoir une meilleure compréhension, le laboratoire convertit les résultats « histogrammes » en résultats « pourcentages » de loup et/ou chien.



Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

SU0130-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1 (1311-17)** ließ sich kein genetischer Fingerabdruck erstellen. Aus der **Spur 2 (1312-17)** und **Spur 3 (1313-17)** konnte ein genetisches Teilprofil erstellt werden. Aus der **Spur 4 (1314-17)** ließ sich ein Vollprofil generieren.

Ad II+III: Bei **Spur 1 (1311-17)** und **Spur 3 (1313-17)** war eine genetische Assoziationsanalyse nicht möglich, da keine oder zu wenig STR-Merkmale nachweisbar waren. Das Allel „92“ im System PEZ bei **Spur 3** konnte bisher nur bei Wölfen der russischen Population und keinem anderem Canidae (n>1000) nachgewiesen werden. Der positive SRY-Test bei **Spur 3** weist außerdem auf ein männliches Tier hin.

Aus **Spur 2 (1312-17, Haar/Gewebe)** ließ sich ein genetisches Teilprofil erstellen. Die Assoziationsanalyse weist hier auf einen Hund oder Mischling der Kategorie FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Schäferhund) mit einem erhöhten genetischen Anteil Wolf hin. Bei dieser Spur ist kein sicheres Signal SRY nachweisbar, so dass es sich hier durchaus um die DNA eines weiblichen Tieres handeln könnte. Das spezifische Signal könnte aufgrund der schlechten DNA-Qualität auch ausgefallen sein (allelic drop out), so dass hier keine sichere Geschlechtsbestimmung durchgeführt werden kann. Es kann sich hier also sehr wohl um ein weibliches Tier handeln, wobei ein wolfsähnlicher Hund, der nicht in unserer Datenbank vorhanden ist, nicht ausgeschlossen werden kann. Die uns zur Verfügung stehenden Rassen (u.a. Wolfspitz, Tschechischer Wolfshund) weisen sämtlich keine derart hohen Ähnlichkeiten zum wolfstypischen Muster auf.

Aus **Spur 4 (1314-17, Abstriche)** ließen sich in allen Genorten spezifische Merkmale nachweisen. Dabei zeigen sich häufig mehrere Allele, die auf eine Mischspur von mindestens zwei Tieren verursacht, hindeuten. Es können nicht alle Merkmale sicher einem einzigen Tier zugeordnet werden. Eine Assoziationsanalyse ist daher nicht empfehlenswert.

Die Allelkombinationen weisen allerdings sämtlich auf einen stark erhöhten Wolfsanteil hin. Entsprechend könnte hier geschlussfolgert werden, dass an den untersuchten Abstrichen mindestens zwei Tiere nachweisbar sind. Eine genaue Aussage (Hund und Wolf, Mischling und Hund, Mischling und Mischling) kann nicht gemacht werden. Da der Nachweis des Y-spezifischen Merkmals nur sehr schwach ausfällt, könnte dies darauf hinweisen, dass die

Interprétation des résultats de l'analyse écrit en allemand.

Explication de la méthode d'analyse .

SU0130-17

Hauptspur von einem weiblichen Tier und die zusätzlichen Merkmale von einem Rüden verursacht worden sind.


PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.


Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurensuche eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonucleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülsträngen spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischheredität sind zwei unterschiedliche Fragmente (Allele) nachweisbar. Bei Reinheredität liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 22 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Durch den Einsatz spezifischer, fluoreszenzmarkierter Primer können diese relativ kurzen DNA-Fragmente in einem Polymerase-Ketten-Verfahren (PCR) vervielfältigt und in einer automatischen Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion in z.B. einem ABI3130 (f.a. Applied Biosystems) bestimmt werden.

(11) Hundespezifische Analysen (SAA_023), nicht aktuell akkreditiert:

In zwei verschiedenen kommerziell erhältlichen Multiplex-Kits können STR-Merkmale amplifiziert werden, die spezifisch für die Familie der Canidae sind. In diesem Gutachten wird der Stockmarks Canine for Dogs Kit von Thermo Fisher eingesetzt, mit dem 10 dieser Merkmale nachgewiesen werden können. Auch diese Merkmale kommen in unterschiedlichen Häufigkeiten

Les résultats

Description d'un exemple de résultat d'analyse ADN

SU0130-17

vor, so dass ebenfalls einfache Identitätsuntersuchungen und Abstammungsanalysen durchgeführt werden können. Die benötigten Frequenzdaten hierzu sind einer naturwissenschaftlichen Doktorarbeit (Modrow, 2014, Kiel) entnommen und werden laufend aufgestockt. Ähnlich wie beim Menschen, gibt es auch bei Hunden spezifische Häufigkeitsverteilungen, die hier für die verschiedenen Rassen spezifisch sind. Daher kann über eine Assoziationsanalyse mit den erhaltenen Daten eine Zuordnung zu einer bestimmten Hunderasse durchgeführt werden. Hierzu müssen Daten für die entsprechende Rasse in der Datenbank vorliegen. Rassen, die hier nicht untersucht wurden, können durch diese Analyse nicht bestimmt bzw. zugeordnet werden. Zusätzlich wird eine PCR-gestützte Geschlechtsbestimmung durchgeführt.

(15) Hinweise zur forensisch-genetischen Rissanalyse (nicht akkreditiert):

Unsere Gesamtbeurteilung bzgl. der genetischen Übereinstimmung mit dem Wolf richtet sich nach dem Washingtoner Artenschutzabkommen Artikel II und den Mendel'schen Vererbungsregeln wie folgt:

- >75 % es handelt sich mit großer Wahrscheinlichkeit um einen „reinrassigen“ Wolf.
- <75 % und >25 %: es handelt sich mit großer Wahrscheinlichkeit um einen Wolf-Hund-Hybriden der F1, F2, F3 oder F4 Generation bzw. deren Rückkreuzungen (B1-B4) oder einem der Hunderassen mit hoher Wolfsähnlichkeit (Sallus Wolfshund und Wolfs-/Großspitz) bzw. eines Mischlings desselben bei den niedrigeren Werten.
- <25 %: es handelt sich mit großer Wahrscheinlichkeit nicht um einen direkten Wolfsabkömmling, sondern um einen Hund der zusätzlich angegebenen Rassen.

Gerechnet wird ab dem Nachweis von Merkmalen in 6 Genorten. Bei einem Nachweis von Merkmalen in 6 bis 7 Genorten wird ein Korrekturfaktor von 15 % einberechnet, der das eigentliche Ergebnis korrigiert; bei einem Nachweis von Merkmalen in 8 bis 9 Genorten beträgt er 5 %. Dies dient dem Vermeiden falsch-positiver bzw. negativer Spezieszuordnungen. Angegeben wird der Mittelwert.

- Die Interpretation bezüglich einer möglichen Zugehörigkeit zum Wolf bezieht sich dabei auf die Untersuchung von mehr als 700 Hunden aus über 100 Rassen, bei denen in keinem Fall mehr als 35 % genetische Ähnlichkeit zum Wolf festgestellt werden konnte. Dabei werden die spezifischen Merkmalsmuster der Hunde mit denen der Wölfe im Rahmen einer Assoziationsstudie verglichen. Die Merkmalsmuster entstammen eigenen Untersuchungen und Literaturangaben (n=737, Broad Institute, 2014, Broad Institute, broadinstitute.com: <http://www.broadinstitute.org/scientific-community/data>, Ganco, L., et al. Genetic diversity analysis of 10 STR's loci used for forensic identification in canine hair samples. Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2. 2009, S. 288-289.)
- Zusätzlich beinhaltet die Analyse den Abgleich mit Merkmalen, die für den Fuchs typisch sind. Auch hierzu wurden eigene Daten erstellt und zusätzlich auf die aus der Literatur zurückgegriffen (n=68, A Multiplex PCR assay to differentiate between dog and red fox: Forensic Sci Int Genet 2011 Nov 29;5(5):411-4. Epub 2010 Dec 29, M Weissenberger, W Reichert, R Mattern/A marker set for construction of a genetic map of the silver fox (Vulpes vulpes): J Hered 2004 May-Jun;95(3):185-94, A V Kukekova, L N Trut, I N Oskina, A V Kharlamova, S G Shikhevich, E F Kirkness, G D Aguirre, G M Acland /Variation of short tandem repeats within and between species belonging to the Canidae family: Mamm Genome 1995 Jan;6(1):11-8 M Fredholm, A K Winterø).

Alle von uns untersuchten Proben werden in eine von ForGen entwickelte und geführte Datenbank eingespeist. Alle Rissproben werden als Gruppe „Risse“ geführt; alle Wolfsproben als Gruppe „Wölfe“. Letztere wird weiter unterteilt in „Baltische“ und „russische“ und „lettische“ Population. Im Rahmen einer Identitätsüberprüfung und Assoziationsanalyse werden neue Daten mit den in der Datenbank vorhandenen Merkmalsmustern abgeglichen und Ähnlichkeitswerte bestimmt. Dies ermöglicht eine Zuordnung zu den Gruppen Riss, Wolf (mit Untergruppen), Hund (mit Untergruppen) bzw. eine Zuordnung zu einer einzelnen Probe („Match“) bei einer vollständigen Übereinstimmung. Im letzteren Fall wäre auch über die Bestimmung der Genotyphäufigkeit eine statistische Würdigung einer Probenzugehörigkeit möglich. Stimmt ein Teilmuster mit einem Tier überein, kann auch dieses biostatistisch berechnet werden. Da allerdings die Verwandtschaftsgrade insbesondere bei den Wolfsgruppen nicht bestimmbar sind, können derartige Analysen nur als Annäherungswerte angesehen werden.

SAA: Standardarbeitsanweisung

Le laboratoire a synthétisé le traité de CITES (traité de Washington) précisant les pourcentages.

Conf. 10.17 (Rev. CoP14) Animal hybrids

RECALLS Resolution Conf. 2.13 on the problem of hybrids, adopted by the Conference of the Parties at its second meeting (San José, 1979):

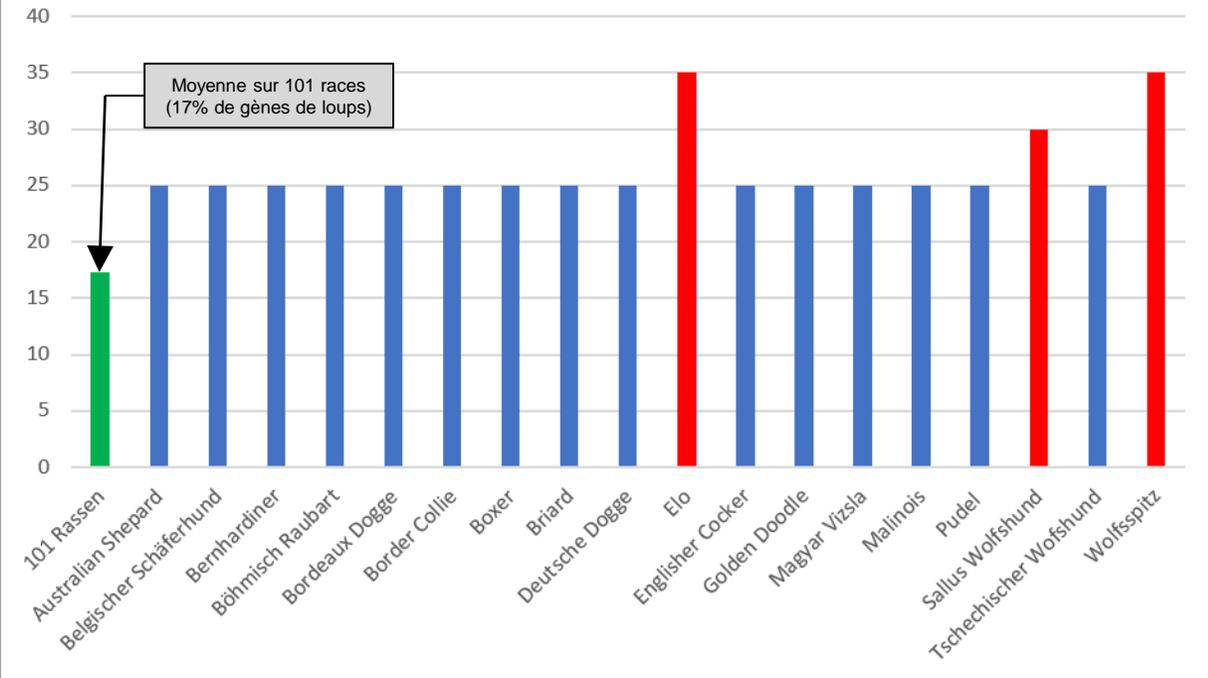
CONCERNED that trade in hybrids of species included in the Appendices should be controlled in order to support the controls on trade in the species included in Appendices I and II,

THE CONFERENCE OF THE PARTIES TO THE CONVENTION

1. DECIDES that:

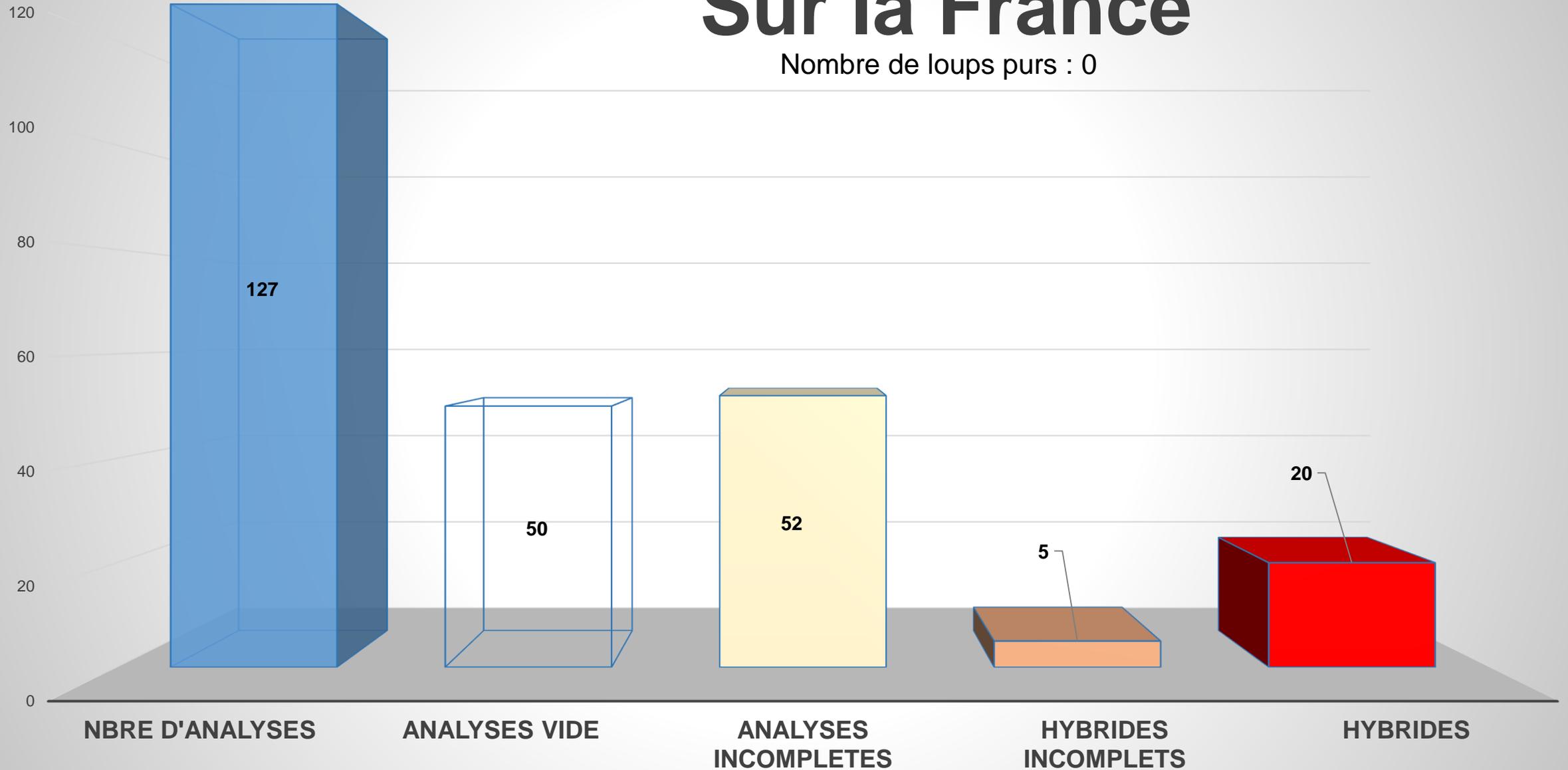
- hybrid animals that have in their recent lineage one or more specimens of species included in Appendix I or II shall be subject to the provisions of the Convention just as if they were full species, even if the hybrid concerned is not specifically included in the Appendices;
 - if at least one of the animals in the recent lineage is of a species included in Appendix I, the hybrids shall be treated as specimens of species included in Appendix I (and shall be eligible for the exemptions of Article VII when applicable);
 - if at least one of the animals in the recent lineage is of a species included in Appendix II, and there are no specimens of an Appendix I species in such lineage, the hybrids shall be treated as specimens of species included in Appendix II; and
 - as a guideline, the words "recent lineage", as used in this Resolution, shall generally be interpreted to refer to the previous four generations of the lineage.
2. RECOMMENDS that, when Parties are considering the making of non-detriment findings, in accordance with Article III, paragraph 2 (a), or Article IV, paragraph 2 (a), for specimens of hybrids that are subject to the provisions of the Convention, they take into account any potential detriment to the survival of the listed species; and
3. REPEALS Resolution Conf. 2.13 (San José, 1979) - Problem of Hybrids.

% de gènes de loups dans les différentes races de chiens

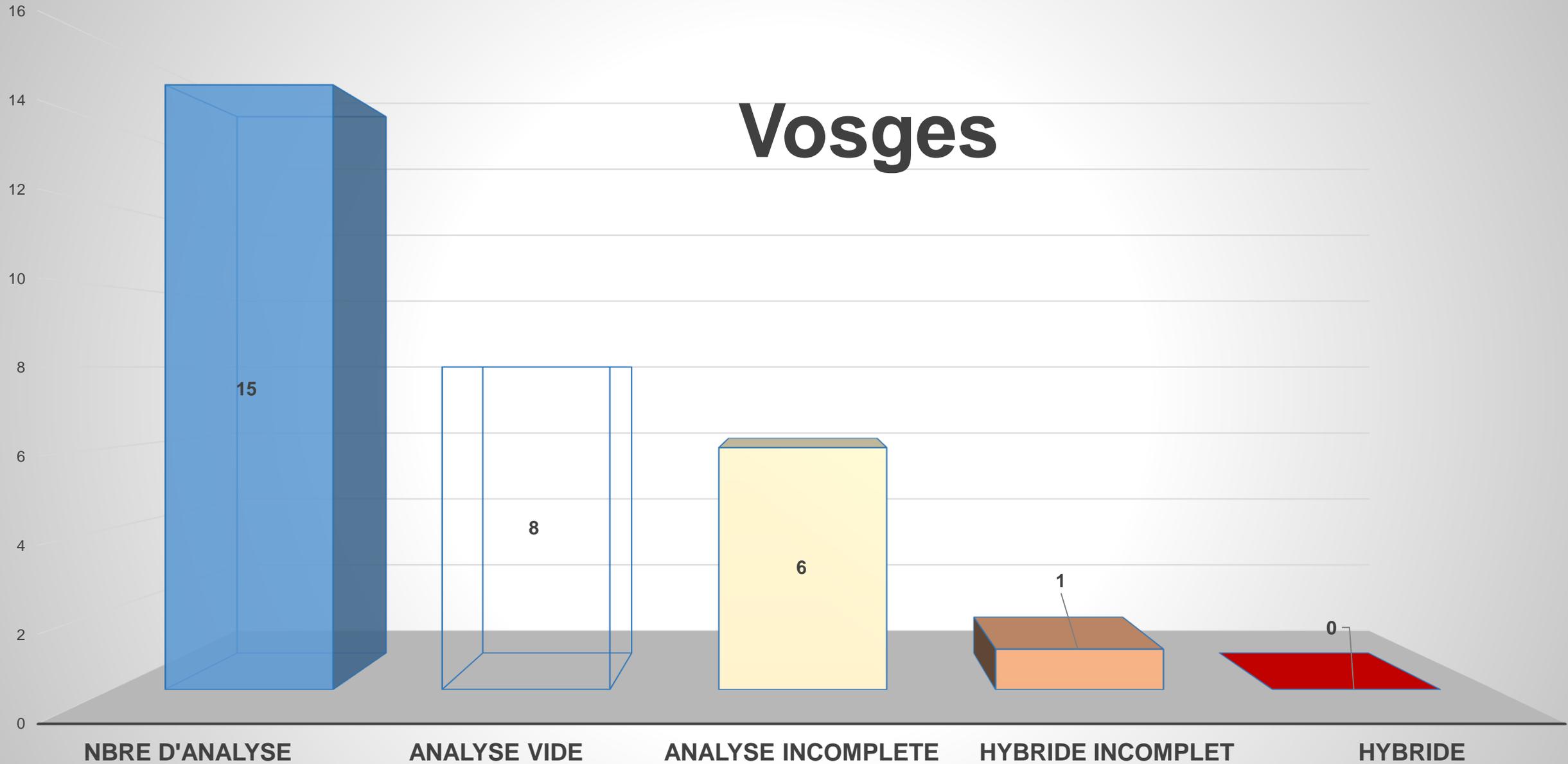


Sur la France

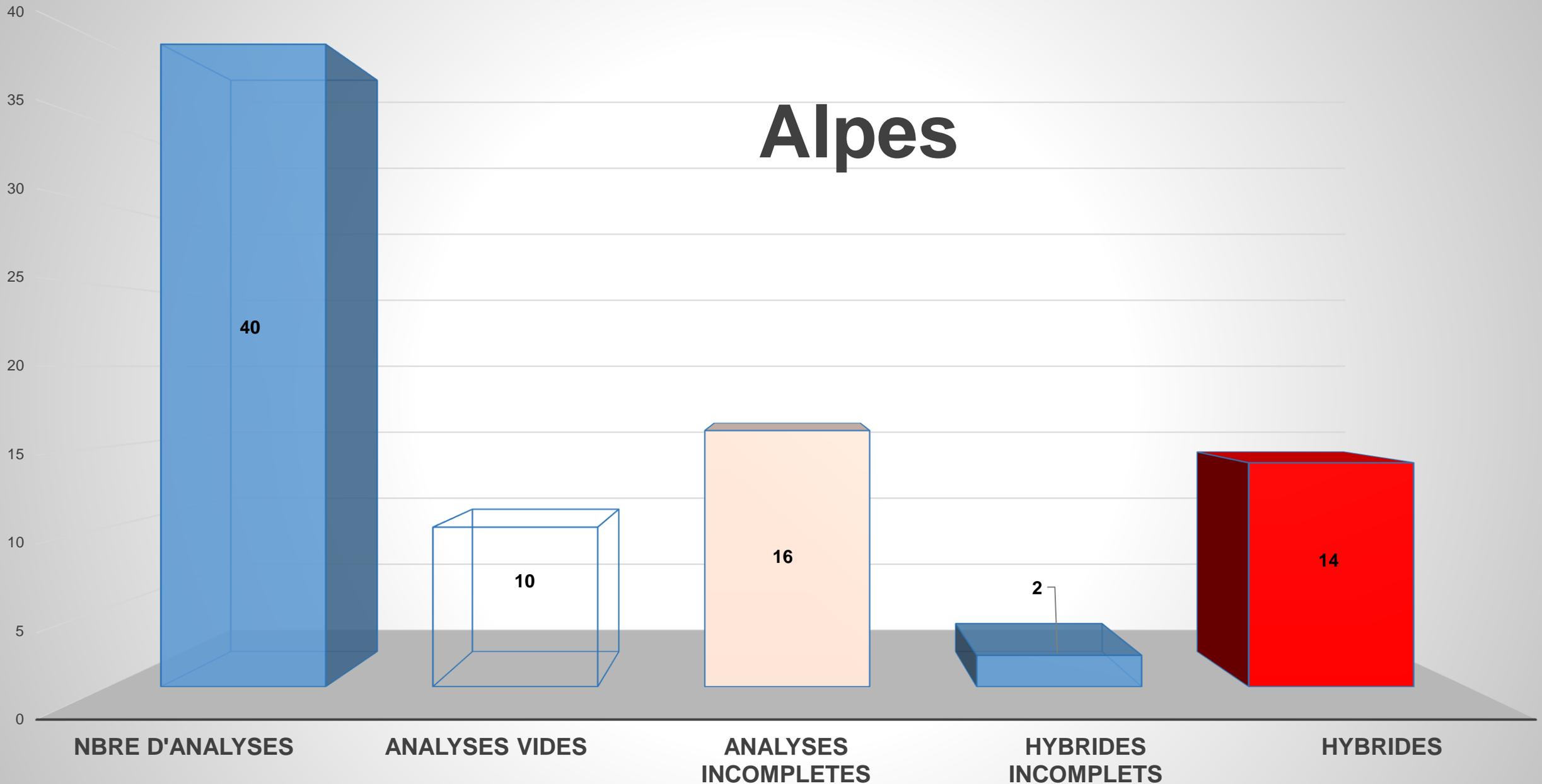
Nombre de loups purs : 0



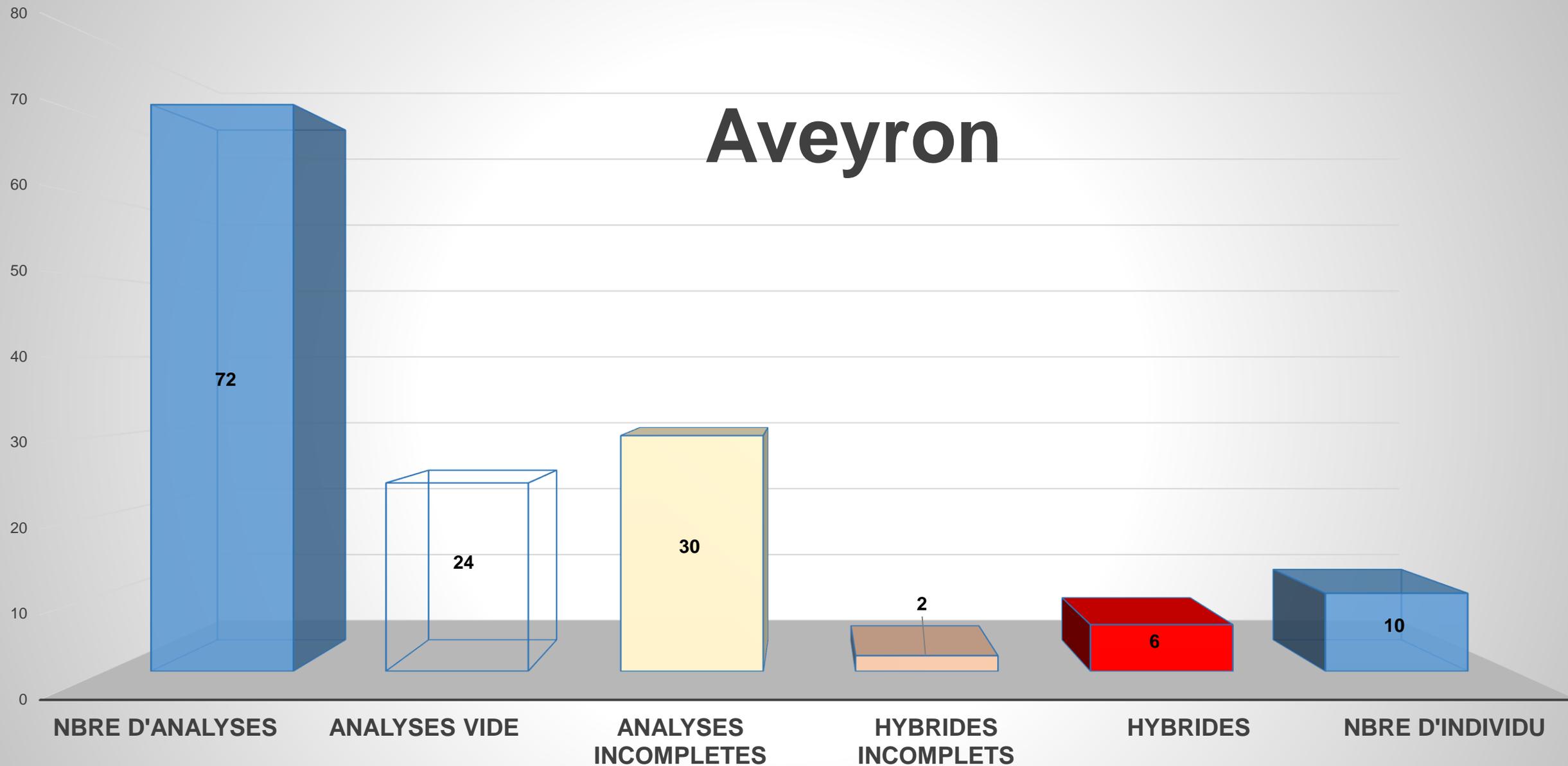
Vosges



Alpes



Aveyron



Les résultats : Pourquoi sont-ils différents avec Antagene?

Laboratoire de l'ONCFS

FORGEN

1 / l'origine des échantillons

Région et matière de l'échantillon non indiqués
(aucune idée de l'origine des échantillons)

Pas de biais de sélection des échantillons.
Lieu, matière et date indiqués lors du prélèvement

2/ le choix des marqueurs

12 suffisent pour l'identification (mais dont 6
historiques de l'ONCFS qui ne trouvent pas
l'hybridation)

10 marqueurs spécifiques choisis en
collaboration avec d'autres scientifiques
"spécificité" de recherche de race de chiens

3/ la base de données loups

Base de données de loups hybrides ?
Loup italien est déjà fortement hybridé

- N'a pas de modèle de base de loup italien pur.
- Possède des bases de données de loups de différentes
origines et de pays dont des purs

4/ analyses mitochondriales/nucléaires

Le rapport parle d'analyse mitochondriale dans les
conclusions page 9/18. Analyse mitochondriale ne
repère pas tous les hybrides. Peut être une erreur
d'explication?

N'effectue que des analyses nucléaires. Résultat
et publication clairs.

5/ base de données de race de chiens

Pas d'indication sur la base de données race de chiens,
nombre d'individus/ avec les marqueurs utilisés dans les
analyses .

ForGen indique le nombre de race/ individu de
chiens analysés avec les 10 marqueurs utilisés
dans ces analyses.

L'hybridation peut être prouvée par l'analyse génétique et/ou par l'étude de la morphologie

comme l'explique "CONVENTION ON THE CONSERVATION OF EUROPEAN WILDLIFE AND NATURAL HABITATS" à Strasbourg, 2-5 Décembre 2014 avec l'aide de Luigi Boitani, Eladio Fernández-Galiano, Floor Fleurke, John Linnell and Jonathan Verschuuren

*".... Il serait probablement plus approprié, en accord avec l'évolution des connaissances scientifiques, d'adopter une définition ad hoc **des hybrides incorporant la génétique et la morphologie**, de sorte que tout loup animal qui peut être prouvé (génétiquement) avoir certains gènes de chien et / ou (morphologiquement) avoir certaines caractéristiques physiques de chien, soit considéré comme un "hybride loup-chien". ..."*



Strasbourg, 16 October 2014
[Inf15e_2014.doc]

T-PVS/Inf (2014) 15

CONVENTION ON THE CONSERVATION OF EUROPEAN WILDLIFE
AND NATURAL HABITATS

Standing Committee

34th meeting
Strasbourg, 2-5 December 2014

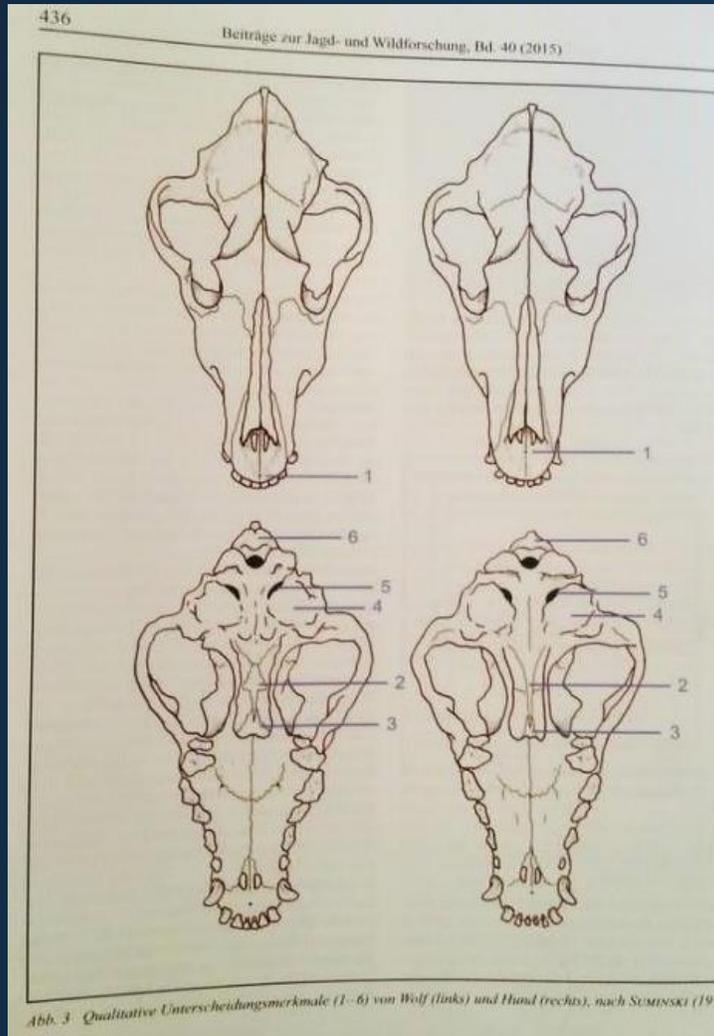
APPLYING THE BERN CONVENTION ON THE CONSERVATION
OF EUROPEAN WILDLIFE AND NATURAL HABITATS TO THE
PROBLEM OF HYBRIDISATION BETWEEN
WOLVES (*CANIS LUPUS*) AND DOMESTIC DOGS

- An Analysis and a Proposal for a
Standing Committee's Recommendation -

Prepared by
Mr. Arie Trouwborst, Tilburg Law School

Source: CONVENTION ON THE CONSERVATION OF
EUROPEAN WILDLIFE AND NATURAL HABITATS" à
Strasbourg, 2-5 Décembre 2014

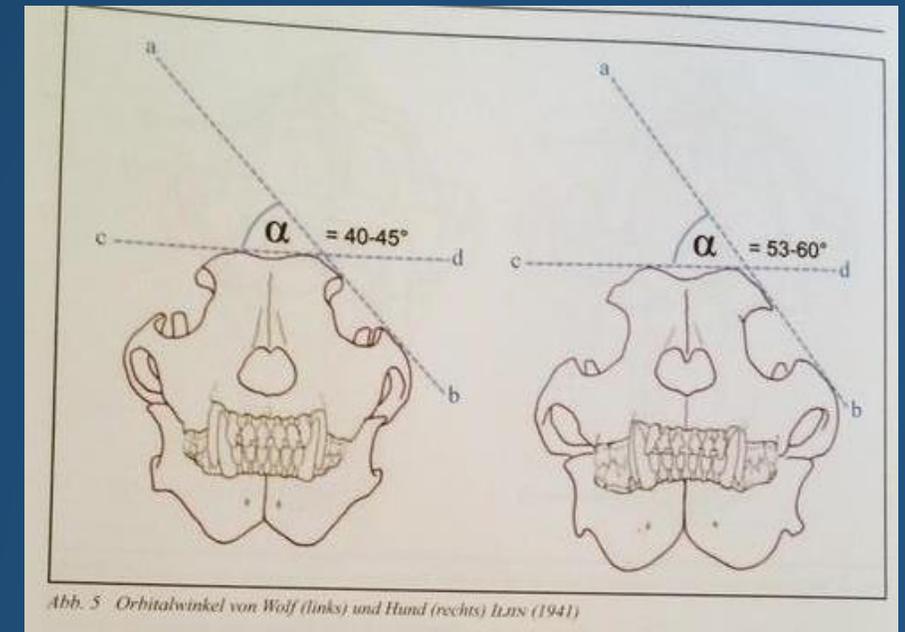
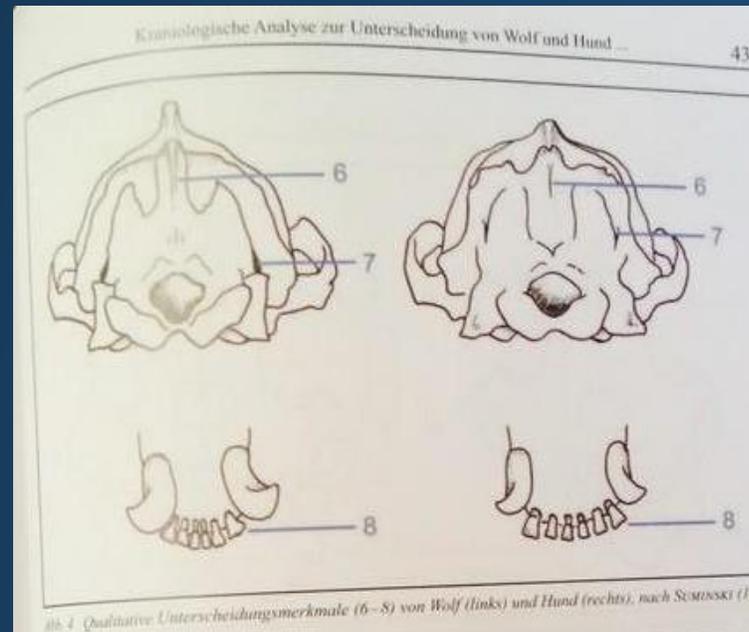
L'analyse du crâne pour la détermination chien / loup / hybride



L'étude scientifique montre divers points de détail différents entre l'espèce *canis lupus lupus* (loup) et *canis* (chien)

Source : *Contributions scientifiques annuelles pour la recherche sur la chasse et la faune* > Volume 40 Éditeur: Professor dr. Dr. Michael STUBBE

Auteur de l'article: Professeur Dr. Hermann Ansorge (musée Senckenberg Görlitz)
Dr. Maria Jähde (Musée Senckenberg Görlitz)



L'analyse du crâne pour la détermination chien / loup / hybride

Analyse d'un crâne ramassé au sol en zone loup. (Var)

4.0 vue d'ensemble:

source d'image: ForGen - Hamburg



i Légende:	
 loup	 Significatif
 chien	 sans jugement
 De manière significative point fixe	

Manteau et infos papier	© Wernher Gerhards	Status:	 +zoom PDF
date: 07.07.2017	07.07.2017	Doku	
page: 2 von 13	Meißen		



Wernher GERHARDS
freier Wissenschaftsjournalist & Fachautor - v.i.S.d.P. -

Fabrikstraße 29 · D- 01662 Meißen
D1-mobil: 0171 - 70 800 50 · phone: 03521 - 717 92 76
e-mail: presse-bionikcenter@web.de

© Bionik Pressecenter Meißen
+++ Redaktion +++ Eigenverlag +++ ePrint +++

Ressort: - bionic behavior biology research -

évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 03 von 13

A1

Kraniometrischer Vergleichskatalog von Canidenschädel: (Wolf + Mischlingswolf + Wolfshund + Hund +)

wiss. Anthologie

nach von den Driesch 1976 und erweitert von Gerhards

Fiche de mesure des données:

Schläfenbeinbreite (LB) **43mm**
Scheitelbeinbreite (MB) **60mm**

Schädelbreite (ZyB) **125mm**

Stirnform (FHS) flach
Orbitaler Augenhöhlenwinkel 50°

Schädellänge (ToL) **246mm**
Schädellänge (CbL) **246mm**
Schädellänge (BaL) **230mm**
Schädelhöhe (SH) **97mm**

Gesichtsschädellänge (FaL) **62,6 % 132mm 53,6 %**
Hirnschädellänge (Nel) **37,4 % 114mm 46,4 %**

Hirnkapselvolumen =

Basaler Eckzahn Fortsatz (43)

Eckzahnabstand (C1B) Oberkiefer (19) = **51mm**

Eckzahnabstand (C1B) Unterkiefer (20) =

Eckzahnlänge (0-m) **30mm**

Eckzahnbreite (w-x) **08mm**

Eckzahntiefe (n1 - n2) **15mm**

Prämolarenanzahl / Unterkiefer = **4x**

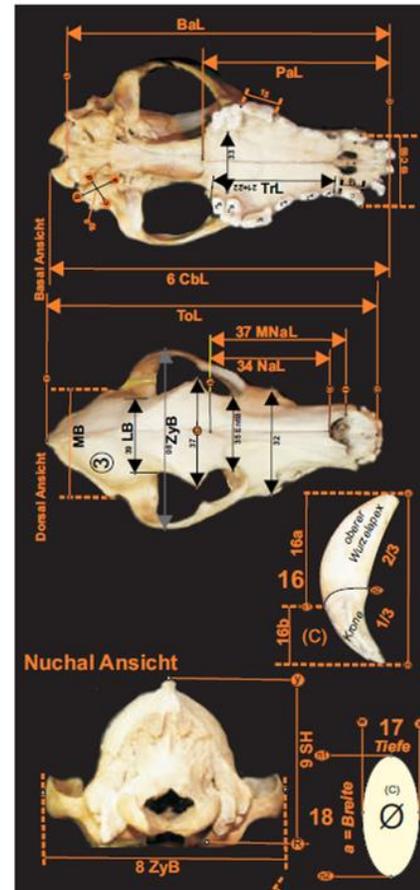
Schneidezähne / Okklusion

Zahnreihenlänge sinister (li) (TRL)

Zahnreihenlänge dexter (re) (TRL)

 Point de déclenchement pour le dimensionnement

mit Stoß **7mm**



Légende:



loup



Significatif



chien



sans jugement



De manière significative point fixe

L'analyse du crâne pour la détermination chien / loup / hybride

- Flügelbeinfortsatz: wolfstypisch hundetypisch
 Quadrantenschema: quadratisch / rechteckig
 Pauken Ohrenblasen: groß klein
 (a nach b) =
 (c nach d) =
 Narbenloch unten: wolfstypisch hundetypisch
 Narbenloch hinten: wolfstypisch hundetypisch
 Nasen Alveolenloch: wolfstypisch hundetypisch
 Nasenbeinlänge (NaL) **54mm**
 Nasenbein Proportionslinie (NaP): kurz lang **170mm**
 Maximale Nasenbeinlänge (MNaL) **66mm**
 Keilbein: wolfstypisch hundetypisch
 Mittelfurche: wolfstypisch hundetypisch
 Pflugscharbein: wolfstypisch hundetypisch
 Sagitaler Schädelkamm: ausgeprägt wenig **< 10mm**
 Gaumenbein / Choane: wolfstypisch hundetypisch
 Siebbein - Ala: wolfstypisch hundetypisch
 transverse glenoid fossa (TF): wolfstypisch hundetypisch
 alisphenoid canal (AC): wolfstypisch hundetypisch

- Unterkieferlänge (MdL) **185mm**
 Unterkieferhöhe (MdH)
 Unterkiefer Molar1 sinister - Länge **25mm** dexter - Länge **25mm**
 - Breite **11mm** - Breite **11mm**
 Unterkiefer Molar2 sinister - Länge **10mm** dexter - Länge **10mm**
 - Breite **9mm** - Breite **9mm**

Info:
 eine exakte Messpunktfixierung ist mit einem Laser - Rotpunkt durchführbar !



Légende:

- | | | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | loup | <input checked="" type="checkbox"/> | Significatif |
| <input type="checkbox"/> | chien | <input type="checkbox"/> | sans jugement |
| <input checked="" type="checkbox"/> | De manière significative point fixe | | |

Les résultats

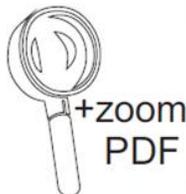
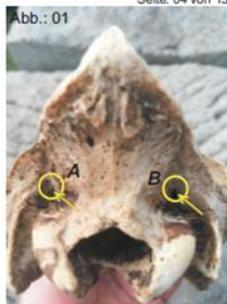
Les résultats / hybridation / crâne

évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 04 von 13

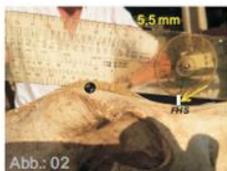
1.0 trous cicatrices arrières: (foramen supramastoideum)

- > Les trous arrières cicatrices (A + B) sont relativement grandes, irrégulières, présente circulaire des deux côtés.
- > Résultats = loup



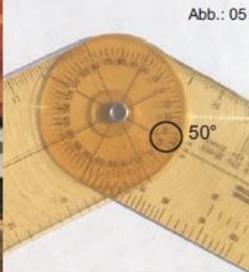
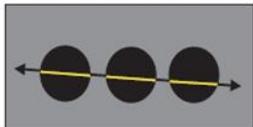
2.0 pente Fore de tête (FHS):

- > La distance FHS est = 5,5 mm.
- > Résultats = loup



3.0 canal alisphénoïde: AC

- > Les trois trous ouverts (1 + 2 + 3) ne sont pas connectés au canal AC reliés entre eux.
- > = Chien Trouver



4.0 Orbital temporelle - coin de l'œil:

- > L'angle de l'oeil orbital est sur les deux côtés de 50°
- > = Chien Trouver



évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 05 von 13

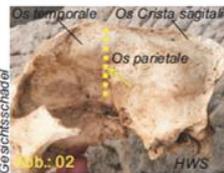
5.0 cran de cran de nez:

- > L'encoche encoche du nez V est clairement en forme. Cependant
- > dans la paroi osseuse nasale gauche est une importante ONU de reconnaître la régularité qui zuzuord- chien à la mode nen est.
- > Résultats = tendance loup vers chien



6.0 Knochenfuge: (pariétal / os temporal)

- > La Knochenfuge entre pariétal (pariétal) et Os temporal (os temporal) n'existe pas et est sclérosé.
- > Parce que c'est l'âge sclérosé Knochenfuge pour déterminer les canidés bien au-dessus de 24 mois de la vie.



7.0 Sagitalcrete: (Christa sagistalis)

- > Le Sagitalcrete: est par l'âge de 24 mois de la vie très faible et est donc contre-forte exigeant une identification wolfish.
- > = Chien Trouver



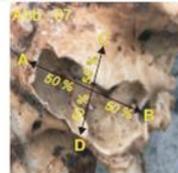
8.0 extension de la jambe de l'aile: (processus ptérygoïde du maxillaire)

- > L'extension de la jambe de l'aile (A + B) se trouve sur les deux côtés du mandrin en forme de Trouvées.
- > Résultats = loup



9.0 vessie oreilles (Bulla tymenica)

- > Les deux oreilles sont de forme ovale et les bulles bds. Smashed, mais ni de mesurer encore utile dans la forme de base.
- > Proportionnels à ces deux oreilles bulles ovale et la taille relativement peu caractéristique petit pour un loup, mais mais visiblement trop grand pour un chien.
- > A > B = 30 mm
- > C > D = 20 mm
- > Résultats = loup



Légende:

	loup		Significatif
	chien		sans jugement
	De manière significative point fixe		

Les résultats

Les résultats / hybridation / crâne

évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 06 von 13

10,0 Lapiniachse:

- > La Lapiniachse dans la mâchoire supérieure se prolonge bien derrière et choane.
- > Résultats = loup



11,0 ligne proportion de nez (PNA):

- > L'axe de l'os nasal (Tr > G) est sensiblement court.
- > = Chien Trouver



12,0 crâne longueurs en%:

- > Skull longueurs en% = Nel crâne = 11,4 cm = 46,4%
- Fal = = 13,2 cm FACIALE = 53,6%
- CBL = longueur totale = 24,6 cm
- > De manière significative le loup est toujours un Nel de 37,4%
- > = Chien Trouver



13,0 schéma Quadrant:

- > Le diagramme de quart de cercle (voir rectangle jaune) est clairement en forme carrée.
- > Dans le chien ce quadrant serait carré =
- > Résultats = loup



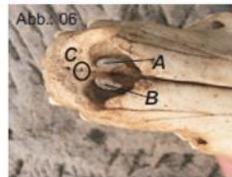
14,0 colonne pétreux: (petrabasialis de fissure)

- > La colonne de l'os temporal est longue, en forme de fente, courbée, et aussi clairement 50% de la longueur de la vessie tympanique.
- > Résultats = loup



15,0 Alveolar hole at the nasael hol: (Canalis incisivus)

- > The alveolar hole (C) lies clearly in front of the two nasal holes (A + B)
- > Result = loup



évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 07 von 13

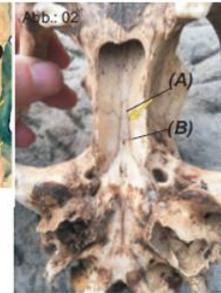
16,0 choane:

- > Le choane est prononcé avec une broche en forme de coeur.
- > = Chien Trouver



17,0 sphénoïde:

- > Le sphénoïde est en forme de coin significative (A) mais pas (B).
- > Lorsque loup l'os sphénoïde est la forme d'une hallebarde.
- > = Chien Trouver



18,0 couture sphénoïde: (sphénoïde)

- > Est clairement visible La couture sphénoïde (B) avant
- > Résultats = loup

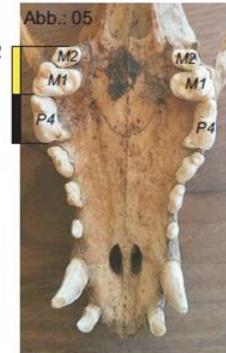
19,0 signifie rainure de crâne (occipital de squames)

- > La voûte en forme de lobe à l'arrière en haut de la tête est clairement prononcée.
- > Résultats = loup
- Rapport d'aspect de



20,0 à P4 M 1-2:

- > La longueur de P4 (21 mm) est supérieure à la longueur de M1-2 (23 mm)
- > = Chien Trouver



! Légende:

	loup		Significatif
	chien		sans jugement
	De manière significative point fixe		

Les résultats

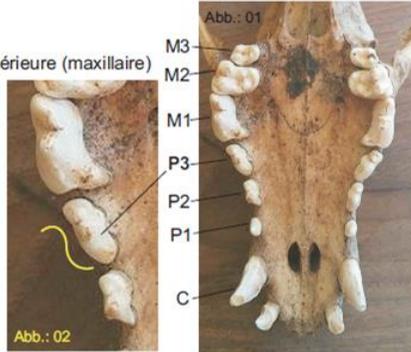
Les résultats / hybridation / crâne

évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 09 von 13

23,0 réglage de la position de P3:

- > La prémolaire 3 (P3) dans la mâchoire supérieure (maxillaire) montre une légère touche (jaune défrisage ungsverlauf) de la position de réglage représenté sur la Chien direction indiquée
- > L'ensemble du parcours de l'axe Kulissenligne est très trapu et énergique.
- > = Chien Trouver



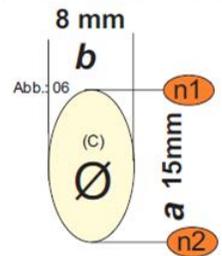
24.0 zygomatics feuilles: (Os jugale)

- > Les deux arcades zygomatiques, en dépit de leur corruption dans le conserve encore de la conception bien.
- > Les deux arcades zygomatiques sont cependant visibles dans la gorge étroite développée, à l'âge de plus de 24 mois est tout à fait anormal pour un vrai loup.
- > = Chien Trouver



25,0 usure des dents:

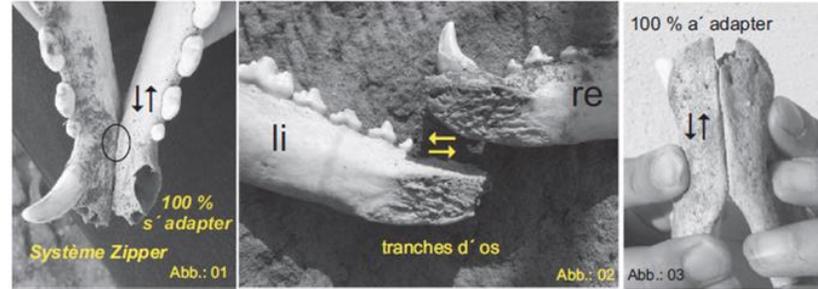
- > Toutes les dents sont sensiblement arrondies et pas nettes.
- > Elle concerne visibles, les dents sans erreur et blanc, pas classique, Dentinablagerungen liée à l'âge.
- > Il est également nulle part sur les dents appelées. Tartare.
- > Les crocs sont un loup classique relativement courte la dimension. C1 top = 30 mm de diamètre ovale par: a = 15 mm b = 8 mm x
- > En tant que Eckzahnfortsatz de base est (cinguhau) en haut Apex Root est très faible et pas en position à reconnaître.
- > = Chien Trouver
- > Note: La vue typique dentaire des dents extrêmement petites est très peu caractéristique du loup - pour le Hun, course aller- liés récemment encore compréhensible.



évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017

Seite: 10 von 13

26.0 Fit des arcs mandibulaires:



26,1 Une question clé est:

<Les deux arcs mandibulaires sont en fait de la même canine? >

26.2 Réponse:

<OUI> Oui, les deux arcs mandibulaires viennent de lui-même origine

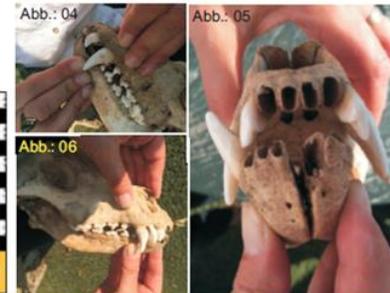
26,3 Raison:

- <Différent la décoloration des os des arcs mandibulaires étaient déjà sous le point 13.0 explique.
- <Résultat: La décoloration des os sont peu significatifs.
- <Dans la figure.: 02 vous voyez le point de rupture au cours de laquelle les deux arcs mandibulaires sont brisés.
- Ces deux tranches d'os superposées comprennent dans l'observation macro figures de profil régulières avec des rainures de terres positives et négatives qui correspondent exactement un correspondre le système de fermeture à glissière ensemble.
- <Dans la figure. 01 cette forme exactement à droite et à tenir au point.
- Un soi-disant. Changement Schlatter est pas possible dans cette position fixe.
- <À moins qu'il était ici deux arcs mandibulaires de différentes origines, exclurait 100% de cette forme exacte des cheveux.

La question de savoir si toute cette mâchoire inférieure est alors aussi de la même tête supérieure, a maintenant également par rapport aux positions d'anatomie importantes et reconstruite par exemple l'occlusion les rangées supérieure et inférieure de dents, diverses longueurs et la comparaison de la taille.

26,4 Résultat:

<Voici un ajustement précis de la mâchoire inférieure pour correspondre à la mâchoire supérieure avec 100% avant.



! Légende:

	loup		Significatif
	chien		sans jugement
	De manière significative point fixe		

Les résultats

Les résultats / hybridation / crâne

évaluation craniology un canidé e France 07.07.2017
Seite: 01 von 13

27.0 Résumé:

Il est dans ce Canidenschädel évidemment pas un long classique crâne, (dolichocéphale) comme cela est commun avec les vrais loups. Le squelette du visage est remarquablement court développement et les arcades zygomatiques ne sont significativement étroite propagation, donc une urgence, il est très probable que dans ce Canidenschädel est seulement qu'un Canidenschädel mésocéphale.

Avec plus de 11x caractéristiques du crâne à 11x caractéristiques louve crânienne canine est très allemande Lich déterminer qu'il est dans ce Canidenschädel à est un soi-disant. Loup hybride.

sont également tout à fait frappant plusieurs caractéristiques du crâne kranio-métrique que ni classique au chien (*Canis lupus familiaris*), ni au loup (*Canis lupus*) en forme, mais probablement pour le chacal (*Canis aureus*), qui appartient également au type taxonomique des canidés et donc pour un entrecroisement mélange génétique serait concevable. Plus précisément, l'interprétation décrit les points (7 + 9 + 12 + 16 + 17 + 18 + 20) pour demander un contrôle verticeferende de détail qui peut-être même une fois à une analyse de l'ADN génétique / Chacal est prolongée.

In der vorliegenden Schädelanalyse wurden folgende Analyseschwerpunkte untersucht:

11	Canidenschädel	= Wolf
12	Canidenschädel	= Wolf
13	Canidenschädel	= Hund
14	Canidenschädel	= Hund
15	Canidenschädel	= Wolf
16	Canidenschädel	= adult
17	Canidenschädel	= Hund
18	Canidenschädel	= Wolf
19	Canidenschädel	= Wolf
20	Canidenschädel	= Wolf
21	Canidenschädel	= Wolf
22	Canidenschädel	= Hund
23	Canidenschädel	= Hund
24	Canidenschädel	= Wolf
25	Canidenschädel	= Wolf
26	Canidenschädel	= Wolf
27	Canidenschädel	= Wolf
28	Canidenschädel	= Hund
29	Canidenschädel	= Hund
30	Canidenschädel	= Wolf
31	Canidenschädel	= Wolf
32	Canidenschädel	= Familie
33	Canidenschädel	= Passung
34	Canidenschädel	= Hund
35	Canidenschädel	= Hund
36	Canidenschädel	= Hund
37	Canidenschädel	= Hund
38	Canidenschädel	= Hund
39	Canidenschädel	= Hund
40	Canidenschädel	= Hund
41	Canidenschädel	= Hund
42	Canidenschädel	= Hund
43	Canidenschädel	= Hund
44	Canidenschädel	= Hund
45	Canidenschädel	= Hund
46	Canidenschädel	= Hund
47	Canidenschädel	= Hund
48	Canidenschädel	= Hund
49	Canidenschädel	= Hund
50	Canidenschädel	= Hund
51	Canidenschädel	= Hund
52	Canidenschädel	= Hund
53	Canidenschädel	= Hund
54	Canidenschädel	= Hund
55	Canidenschädel	= Hund
56	Canidenschädel	= Hund
57	Canidenschädel	= Hund
58	Canidenschädel	= Hund
59	Canidenschädel	= Hund
60	Canidenschädel	= Hund
61	Canidenschädel	= Hund
62	Canidenschädel	= Hund
63	Canidenschädel	= Hund
64	Canidenschädel	= Hund
65	Canidenschädel	= Hund
66	Canidenschädel	= Hund
67	Canidenschädel	= Hund
68	Canidenschädel	= Hund
69	Canidenschädel	= Hund
70	Canidenschädel	= Hund
71	Canidenschädel	= Hund
72	Canidenschädel	= Hund
73	Canidenschädel	= Hund
74	Canidenschädel	= Hund
75	Canidenschädel	= Hund
76	Canidenschädel	= Hund
77	Canidenschädel	= Hund
78	Canidenschädel	= Hund
79	Canidenschädel	= Hund
80	Canidenschädel	= Hund
81	Canidenschädel	= Hund
82	Canidenschädel	= Hund
83	Canidenschädel	= Hund
84	Canidenschädel	= Hund
85	Canidenschädel	= Hund
86	Canidenschädel	= Hund
87	Canidenschädel	= Hund
88	Canidenschädel	= Hund
89	Canidenschädel	= Hund
90	Canidenschädel	= Hund
91	Canidenschädel	= Hund
92	Canidenschädel	= Hund
93	Canidenschädel	= Hund
94	Canidenschädel	= Hund
95	Canidenschädel	= Hund
96	Canidenschädel	= Hund
97	Canidenschädel	= Hund
98	Canidenschädel	= Hund
99	Canidenschädel	= Hund
100	Canidenschädel	= Hund



28.0 Ergebnis:

Match \sum **Hund 11 : 11 Wolf**

29.0 Conclusion:

En notant que déjà un facteur de différenciation pour le chien la pureté de la race d'un vrai loup exclu, dans cette analyse du crâne 11 chiens différenciateurs typiques été détectés.

Internationale connaît la littérature Wolfskranologie
36 + 5 = 41 différenciateurs kranio-logische

L'analyse morphologique a été rendue indépendamment de l'analyse génétique.

**Conclusion identique:
Crâne de loup hybride**

Etude morphologique de Wernher confirmée par Kaj Granlund, scientifique international.

cher Wernher,

Vous avez fait un bon travail et il montre bien thattthis est pas un loup. Tous les petits détails que vous avez remarqués ont raison. Il y a, cependant, trois caractéristiques importantes dans votre document ne sont assez pour me le dire est une bâtarde.

1 L'angle orbital (Fig. 04 / page 4) est atypique des loups. la photo (Figure 04 / page 4) dit presque tout.

2 La crête saggital (Figure 02 et Figure 03 à la page 5) et la petite zygomatique (figure 03 à la page 9) sont la preuve d'une faible force de morsure. Definitely pas un loup.

3. Les orbitales Figure 04 à la page 9 semble être circulaire. loups sont elliptiques orbitals.

Nous pouvons donc d'accord que vous avez raison dans votre évaluation!

Soit dit en passant. Avez-vous des autres faits au sujet de cette bâtarde. Est-ce vivant sauvage comme des loups font ou ce qu'il a capturé ou tout simplement un domestiquée un chien-loup.

Passez une bonne journée, Kaj



Kaj Granlund

Kaj Granlund



Vollprofil:

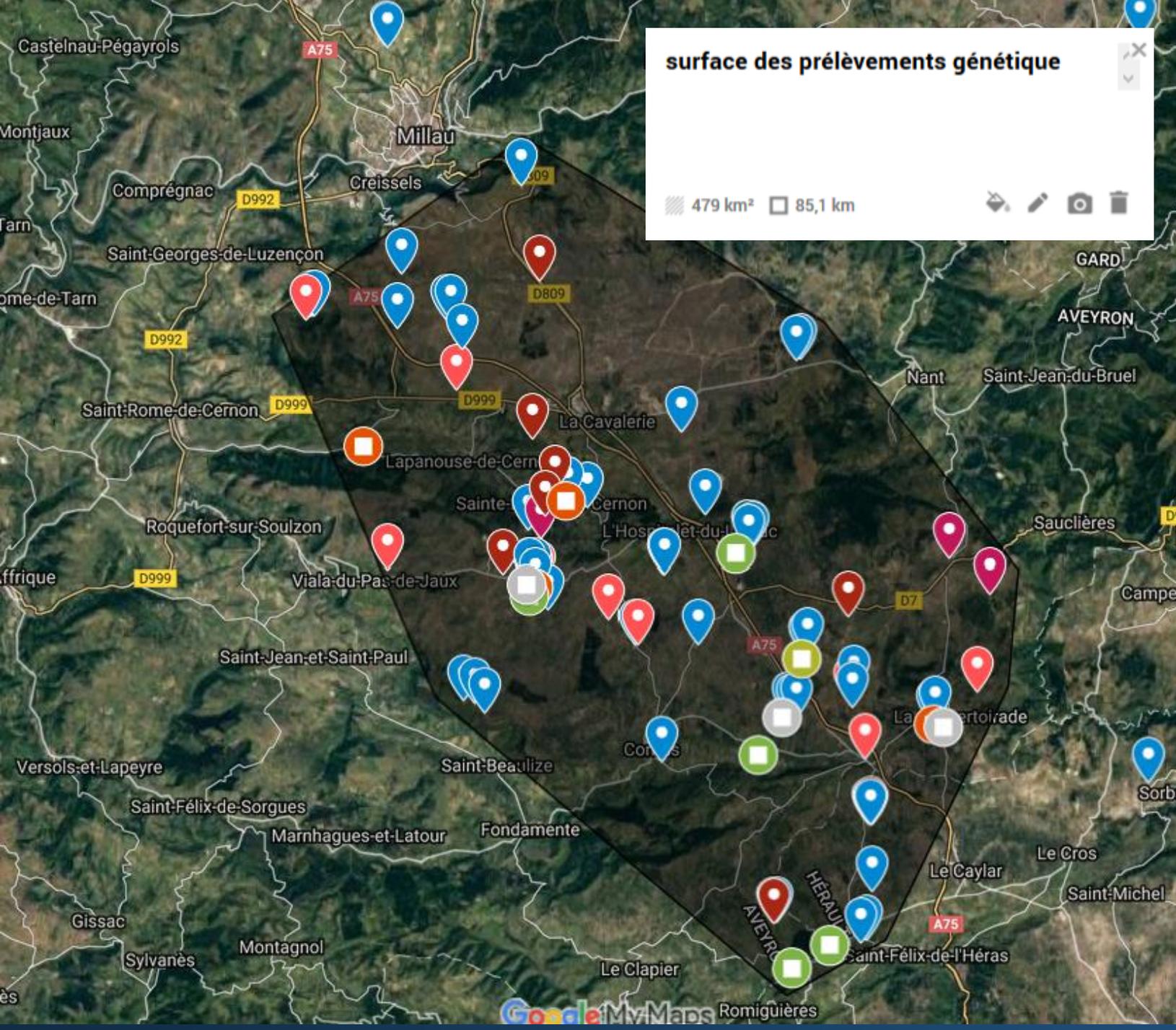
PEZ1: 107/129
FHC2054: 147/170
FHC2010: 230/234
PEZ5: 107/116
PEZ20: 163
PEZ12: 264
PEZ3: 94/98
PEZ6: 149/172
PEZ8: 217/221
FHC2079: 297/305
SRV: positiv

FCI-1-Hütehund:
55 ± 2,75 %
(z.B. Schäferhund),

Wolf, let. Population:
40±2 %,

Wolf, rus. Population:
25±1,25 %,

Kaj Granlund et Eirik Granqvist (Finlande), Prof. Dr. Valerius Geist (Canada), Prof.Dr. Will Graves (USA) ont confirmé aussi d'autres analyses morphologique de Wernher Gerhards



ANALYSE SECTEUR LARZAC (Aveyron-Hérault)

La zone de récolte des analyses ADN représente une surface de 479 km² (voir carte)

L'ONCFS annonce que le territoire d'une meute de loups est de 150 à 300 km²

source : <http://www.oncfs.gouv.fr/>

La surface analysée est supérieure à celle d'une seule meute. Il n'est pas impossible d'avoir plusieurs meutes sur ce secteur.

Les résultats

Les résultats / nombre de loups sur l'Aveyron-Hérault

Le tableau récapitulatif :

- Le nombre de loups hybrides est de 6 confirmés.

- deux individus hybrides non confirmés

- les analyses génétiques incomplètes peuvent donner des informations pour déterminer un nombre d'individus différents, avec un minimum de certitude.

Avec l'analyse du tableau de résultat , le docteur Nicole von Wurmb-Schwark peut affirmer avec certitude qu'il y a 10 individus différents.

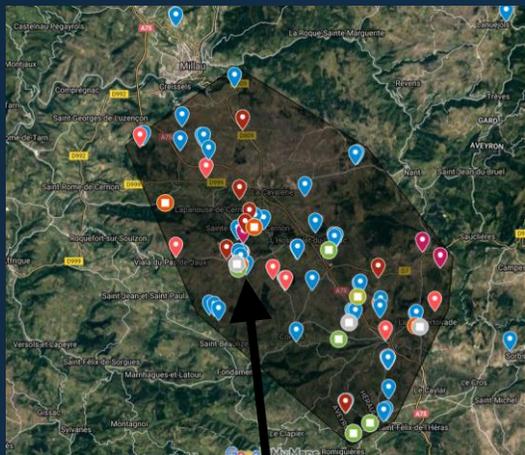
 Ce nombre important de loups sur une surface de 479 km² pourrait expliquer la présence de deux meutes ?

 L'ONCFS annonce la présence d'un seul individu...!!! ???

					PEZ 1	PEZ 3	PEZ 5	PEZ 6	PEZ 8	PEZ 12	PEZ 20	FHC2010	FHC2054	FHC2079	SRF	Test hybrid
LARZAC	42795	PREUSS	Baumescur	CHEVRE		117/158	74/92		234						+Mâle	
LARZAC	42870	BUIL Gaby	Ste Eulalie	LAMA	127	116/125	96	159							- Femelle	
LARZAC	42882	MURET	Combefère	Brebis	124/132				228	251/(263)/28	(178)	233/237	180/(184)	283	+Mâle	Briard 45+/-6,75 Labrador30+/-4,5
LARZAC	42889	VIDAL	Tapies	Brebis	99	124/129/135	(92/96)/109	(167)	243	(264/271)		223/226/(229)/	159/168	271/289	+Mâle 2 individus ?	
LARZAC	42892	VIDAL	Tapies	Brebis		117/158	74/92		234				159		+Mâle	
LARZAC	42910	SCOQUAR	Bengouzal	Brebis												
LARZAC	42911	LE CUN		Brebis		(107)/119	96						(160)		+Mâle	
LARZAC	42912	CALAZEL	La Surjal	Brebis	105	(107)	(96)						160		+Mâle	
LARZAC	42917	SCOQU	Bengouz	Brebis											+Mâle	
LARZAC	42918	NONIER	Bengouz	Brebis	105	(101/107)/119	96/102		(253)				160		+Mâle	
LARZAC	42919	SCOQU	Bengouz	Brebis	105	(107)/119	96						160		+Mâle	
LARZAC	42919	DOLINE	Hospitalet	Brebis		(107)	96						160		+Mâle	
LARZAC	42930	FABRE	Causseuue	Brebis		96/104/127/113	92/(96)/101	178/186/193	247/249/254	264/(276)	173/179/193	222/232	(162/177)	264/267/274	+ faible plusieurs X+Y ?	
LARZAC	42931	LE CUN		Brebis	106	173	(83)	208	(226)						+Mâle	
LARZAC	42934	LE CUN		Brebis		113	(101/112)	208	271			224	143/144		+Mâle	
LARZAC	42938	MENUDES	Berthomieu	Brebis	96	102	(102/110)	182	230	265/271	177/181	224	167	271/275	+Mâle	Loup 70+/-3 Balte Hovawart 40+/- 2
LARZAC	42938	CROUZETS	Bernat	CHEVAL	(121)	(104/118)	92	(203)			176	(232)		(267/293)	+Mâle	
LARZAC	42940	SCOQUAR	Bengouzal	Brebis	102	135	96				173/177	(224)	(167)	263/266	+Mâle	
LARZAC	42942	LA DOLINE	Hospitalet	Brebis	(117/121)	118/139	92	185/208	226/237	265	173/176	(232)/224	(144)	271/275	+Mâle	Loup 50+/-7,5 russe Drahthaar 40+/- 6
LARZAC	42944	LE CUN		Brebis	(129)	102/117	96								+Mâle	
LARZAC	42948	TAPIES		Chevreuil	113/117	103/153	92/105	179/193	226/258	(265/271)	173/199)			271	+Mâle	Loup 50+/-2,5 Hovawart 60+/-3
LARZAC	42957	HOPITAL		Brebis	112/121		(96)	163/168	230/237	(261/265)	173/177			267/275	-Femelle	Loup 35+/-3,5 Schaferhund 50+/- 7,5
LARZAC	42971	LES RIVES	CROTTE			(99)148						215/233			+Mâle	
LARZAC	42979	Cavalerie	PAGES	Brebis		101/128						254			+Mâle	
LOZERE	42988	Margerides	V. GRAS	Brebis	(103)	(117)	(105)			(264/292)	175/183	230/232			+Mâle	
LARZAC	42998	MENUDES	Berthomieu	Brebis			100/112			(265/286)					- Femelle	
	42998	Id.			(124)		100/(113)		226			(230)	(181)		+Mâle	
	42998	Id.			108/129	152	100	(161)	220/224	282		230		286/294	-Femelle	Loup 25+/-3,75 Berg.belg45+/-6,75 Hybrid partielle
	42998	Id.			97/129	135	100				176		170	266/269	-Femelle	Loup 40+/-6 russe Berg.belg50+/-7,5
LARZAC	42998	MENUDES	Berthomieu	SUITE...											+ Mâle	
		Id.													+ faible	schwach
		Id.			97/124/129	135	92/100								+Mâle	
LARZAC	43004	Mas. TRINV.	brebis		(123/127)		110/111			(303)		(228/232)	(184)	284	-Femelle	B.Owtsch40+/-6 B.Schaffer
LARZAC	43004	Id.			(129)	107/114	101/114			(270/287)		230/234			+ faible	
LARZAC	43006	COUVERTO	SERCLERA	Brebis	133/137	95/114/144/15	100/109/112		229/234	255/295	142/152	217/227	165/173	(287)	+ faible	
LARZAC	43012	LA BAUME	Chauchard	Brebis	128/133	105	100/117		(229)	254/(307)	170/174	221/231	169	294	-Femelle	Loup 35+/-1,75 russe B.Belge 50+/-2,5

Les résultats

Les résultats / attaque non reconnu par l'ONCFS Recours avec les analyses ADN



CONCLUSION ONCFS : « LOUP EXCLU »

- attaque sur lama 15/05 (rubio) Ste Eulalie de Cernon
- attaque sur chèvre 03/05 (preuss) 01/03 La Bastide Pradines
- attaque sur brebis du 24/06 au 01/07 sur Bengouzal (scoquart,3)
- attaque sur brebis du 24/06 au 01/07 La Couvertoirade (calazel,1)
- attaque sur brebis bengouzal(scoquart) du 24/07
- attaque du 22/07 cheval marques de crocs sur la croupe

ANALYSE ADN: Présence de gènes de loups spécifiques

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0675-17 (Spur 1)	5 Merkmale in 4 von 11 Merkmalsystemen: PEZ1: 127, PEZ5:96, PEZ3: 116/125, PEZ6: 159, SRY: negativ	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar. Das Allel 96 in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen.
0900-17 (Spur 1)	6 Merkmale in 5 von 11 Systemen: FHC2054: 159, PEZ5: 74/96, PEZ3: 117/158 PEZ8: 234, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da in weniger als 5 autosomalen Systemen reproduzierbar detektierbare Signale. Das Allel 96 würde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen, das Allel 74 wurde bisher bei keinem in der Datenbank hinterlegten Individuum detektiert.
0970-17 (Spur 2)	5 Merkmale in 5 von 11 Merkmalsystemen: PEZ1: 105, FHC2054: 160, PEZ5: (96), PEZ3: (107), SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
0971-17 (Spur 3)	6 Merkmale in 5 von 11 Merkmalsystemen: PEZ1: 105, FHC2054: 160, PEZ5: 96, PEZ3: (107)/119, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
0972-17 (Spur 4)	1 Merkmal in 1 von 11 Merkmalsystemen: SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da keine autosomalen Merkmalsysteme nachweisbar.
0973-17 (Spur 5)	5 Merkmale in 4 von 11 Merkmalsystemen: FHC2054: (160), PEZ5: 96, PEZ3: (107)/119, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
1073-17 (Spur 2)	10 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 102, FHC2054: (167), FHC2010: (224), PEZ5: 96, PEZ20: 173/177, PEZ3: 135, FHC2079: 263/266, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da in nur 5 autosomalen Merkmalsystemen die Allele reproduzierbar detektierbar waren. Das Allel 96 in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen
1080-17 (Spur 2)	10 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: (121), FHC2010: (232), PEZ5: 92, PEZ20: 176, PEZ3: (104/118), PEZ6: (203), FHC2079: (267/293), SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da in nur 5 autosomalen Merkmalsystemen die Allele reproduzierbar detektierbar waren. Das Allel 92 in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen

Exemple de conclusion de « loup exclu » :

Commentaires :
Constat réalisé sur un agneau mort, en partie consommé au niveau de l'arrière-train. L'animal ne présente aucune marque au niveau du cou. Seules des perforations sont observées au niveau de la zone consommée, la peau est en mauvais état et les perforations ne sont pas clairement associées à un pourtour hémorragique autour de la zone lésée. Ces perforations sont selon toute vraisemblance postmortem. De plus, le tableau de consommation ne correspond pas à celui d'un loup sur ce type de victime de faible corpulence.

L'acte de prédation n'est pas caractérisé, et selon les termes de la circulaire N° DEVL120787C, la mortalité est d'origine indéterminée pour ce dommage.

DATE	NOM	SIGNATURE
31/07/2017	Julien STEINMETZ	

Les résultats : conséquence comportementale

**La LCIE (Large Carnivores in Europe) déclare en 2008 :
(cosigné de Mr Marboutin qui est en même temps employé à l'ONCFS)**

“ La LCIE reconnaît qu'il sera probablement impossible d'assurer que les populations de loups soient 100% exempt de gènes de chiens domestiques »

Les effets néfastes de l'hybridation sont doubles:

La génétique : pendant le millénaire depuis lequel les chiens ont été domestiqués parmi les loups, ils ont été reproduits de manière sélective pour une large gamme de caractéristiques que les humains considèrent comme désirables. Ceux-ci comprennent une maturité sexuelle précoce, deux cycles de reproduction par an (comme pour la plupart des espèces), une maturité du comportement retardée, un large éventail de traits physiques, incluant la taille, le pelage, et des modifications d'ossature, ainsi que de domestication. Tous ces traits réduiront l'aptitude d'un individu dans la nature.

Le comportement : nous manquons de données concrètes concernant l'attitude des chiens-loups hybrides sauvages, mais il y a des raisons de penser qu'ils présenteront plus d'effets indésirables que les loups « purs » en raison de leur adaptation de qualité inférieure.”

Sources : Guidelines for Population Level Management Plans for Large Carnivores

https://drive.google.com/open?id=1wQI9mkMscbWrz5MdcBLix14JOc7a-_GY

extrait de cette étude traduite en français

<https://drive.google.com/open?id=15egMnryrAqnLtVasFZUnsilFr5byhQR3>

With the contribution of

Henrik Andrén, Alistair Bath, Juan Carlos Blanco, Urs Breitenmoser, Djuro Huber, Ovidiu Ionescu, Arild Landa, Eric Marboutin, Yorgos Mertzanis, Henryk Okarma, Agnieszka Olszanska, Janis Ozolins, Ilka Reinhardt, Lotta Samuelson, Beate Striebel, Jon Swenson, Manuela von Arx.

FINAL Version 1st July 2008

**Large Carnivore
Initiative for Europe**



IUCN/SSC WORKING GROUP

Les résultats : conséquence comportementale

Conséquence comportementale : suite

« On peut aussi imaginer des circonstances où un hybride serait éliminé principalement en raison de son comportement problématique. Comme le rapporte la déclaration de support de stratégie LCIE , il y a des raisons de croire que les hybrides en liberté "montreront plus de comportements indésirables que les loups purs à cause de leur adaptation ", y compris une " plus grande tendance que les loups purs à attaquer le bétail et à avoir un comportement audacieux". Dans de tels cas, la dérogation pourrait être fondée plutôt sur l'évitement de graves dommages au bétail, ou l'intérêt de la « sécurité publique ».

Source: loup recommandations hybrides Conseil de l'Europe 2dec2014



Strasbourg, 16 October 2014
[Inf15e_2014.doc]

T-PVS/Inf (2014) 15

CONVENTION ON THE CONSERVATION OF EUROPEAN WILDLIFE
AND NATURAL HABITATS

Standing Committee

34th meeting
Strasbourg, 2-5 December 2014

**APPLYING THE BERN CONVENTION ON THE CONSERVATION
OF EUROPEAN WILDLIFE AND NATURAL HABITATS TO THE
PROBLEM OF HYBRIDISATION BETWEEN
WOLVES (*CANIS LUPUS*) AND DOMESTIC DOGS**

**- An Analysis and a Proposal for a
Standing Committee's Recommendation -**

Les résultats / "Origines"

Les résultats des origines géographiques:

Quand le nombre de marqueurs est suffisant, la plupart des analyses expliquent que les loups analysés possèdent des gènes similaires à ceux des loups actuellement sur la zone Balte, Lettonie, et Russie.

Ces gènes ont une absence totale dans 700 chiens, sur 100 races européennes.

Sur 20 loups hybrides, 11 ont des gènes 92 ou 96 (marqueurs de loup jusqu'à présent retrouvés seulement en Russie Lettonie et autres régions Baltiques)

Sur 79 analyses, 37 ont des gènes 92 ou 96 (marqueurs de loup jusqu'à présent retrouvés seulement en Russie Lettonie et autres régions Baltiques)

Exemples de résultats

1312-17 (Spur 2)	13 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 119 FHC2054: 143/151 FHC2010: 226 PEZ5: (92)/103 PEZ12: 269 PEZ3: 111 PEZ6: 177/181 PEZ8: 211/228 FHC2079: 273 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehund (55±2,75 %, z.B. Schäferhund)	Hund oder Wolfmischling. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen
	Wolf (40±2 %, lettische Population)		

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1070-17 / 1071-17 (Spur 1)	Vollprofil: PEZ1: 118, FHC2054: 144, FHC2010: 224, PEZ5: 92/101, PEZ20: 191, PEZ12: 265, PEZ3: 135, PEZ6: 172/179, PEZ8: 209/227, FHC2079: 259/271, SRY-Test: positiv	Wolf 75±3,75% (russische Population) FCI-1-Hütehund 40±2% (z.B. Berner Sennenhund)	Wolf oder Wolfmischling. Es zeigt sich eine erhöhte genetische Übereinstimmung mit Wölfen der russischen Population (>70%) Das Allel 92 wurde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population detektiert.

1048-17 (Spur 4)	11 Merkmale in 7 von 11 Systemen: PEZ1: (102), FHC2054: (151/162), PEZ5: 82/92, PEZ20: 176, PEZ3: 132/142, PEZ6: 178, PEZ8: 225/226	FCI-7-Vorstehhunde (60±9%, z.B. Deutsch-Drahthaar) Wolf, baltische Population (40±6 %)	Es zeigt sich die größte Ähnlichkeit zu der Gruppe der Vorstehhunde, wobei sich hier als erster Treffer der angegebene Hund zeigt. Das Tier weist jedoch einen erhöhten Wolfsanteil >30 % sowie das Allel „92“ in PEZ5 auf, welches bisher nur bei Wölfen aus der baltischen Population nachgewiesen werden konnte. Das Merkmal „82“ in PEZ5 wurde bisher bei keinem untersuchten Canidae in unserer Datenbank detektiert. Hier wird weiter untersucht, ob es sich um ein echtes Allel handelt.
---------------------	---	--	--

Les résultats / "Origines"

Les résultats des origines géographiques:

Analyses au
laboratoire
ForGen

10 échantillons de crottes
de loup des Abruzzes (4 photos sur 10)



Résultats

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1112-17 (Spur 4)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ1: 125/135 PEZ5: 80/96 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1113-17 (Spur 5)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1114-17 (Spur 6)	Kein Ergebnis SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	s.o.
1115-17 (Spur 7)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ5: 80/100 PEZ3: 96 SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1116-17 (Spur 8)	10 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 105/113 PEZ5: (80) PEZ3: 111/118 PEZ6: 171/186 FHC2079:267/271 SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar dargestellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1117-17 (Spur 9)	Kein Ergebnis SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1118-17 (Spur 10)	5 Merkmale in 4 von 11 Systemen: PEZ1: 105 PEZ5: 80/101 PEZ20: 169 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1119-17 (Spur 11)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: FHC2079: (167/275) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1120-17 (Spur 12)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1121-17 (Spur 13)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	s.o.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (j) Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalsäure sehr gering; SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

- Les analyses sur les crottes de loups italiens ont été incomplètes, voir « vides ».
- Elles ont révélé comme en France des allèles spécifiques de loups russes.
- Les analyses ont détecté un allèle « 80 » inconnu pour le laboratoire, et absent dans les analyses faites en France. C'est peut être la spécificités du loup italien présent dans les Abruzzes ?

Plusieurs questions:

- Comment expliquer les gènes russes dans les Abruzzes ?
- Si le gène 80 est la spécificité du loup italien, pourquoi n'est t'il pas en France ?
- Nous continuons nos recherches de manière indépendante (nous ne pouvons pas faire pas confiance aux centres d'études détenus par Mr Boitani)



Loup ITALIEN

Photo du Musée de Civitella Alfedena
Parc National des Abruzzes

Les résultats

Les résultats / "Origines"



Quelles sont les différences entre un chien et un loup? L'ONCFS nous informe!

1) Le liseré



2) Le masque facial



3) Les couleurs



4) Oreilles et queue



Photo référence loup ONCFS



source: photo ONCFS <http://www.nievre.gouv.fr/le-prefet-de-la-nievre-met-en-place-les-premieres-a2547.html>

Les résultats

Les résultats / "Origines"



*Photo de : Vadim Sidorovich Naust Eco Station - Экасядзіба Наеусьць
AUTEUR RUSSE qui travail en Biélorussie*

Loup RUSSE



Source : Photo J.C Mangin suite a un tir ONCFS sur ALPES

Loup FRANCE (Alpes)

Loup hybride – aspect juridique.

La protection accordée par le droit de l'environnement à certaines espèces sauvages ne concerne que les espèces dites « pures » présentant un intérêt au titre de la conservation de la biodiversité. (Article L411-1 Code de l'environnement)

L'hybride chien-loup, non seulement n'a aucun intérêt en terme d'espèce, mais encore risque de « polluer » l'espèce sauvage *canis lupus* en lui faisant perdre ses caractéristiques génétiques. (Arrêté ministériel du 23 avril 2007 fixant la liste des mammifères protégés sur le territoire français, article 2, *Canis lupus*)

L'hybridation cause des dommages identiques à ceux des espèces exotiques envahissantes que les conventions internationales cherchent à éliminer ou contrôler.

Ni domestique – sauf s'il est issu d'un élevage – ni espèce sauvage, l'hybride n'a aucune reconnaissance par le droit qui n'est pas intervenu pour le réglementer, alors que sa dangerosité l'exigerait. (*le règlement UE N°1143 relatif à la prévention et à la gestion de l'introduction et de la propagation des espèces exotiques envahissantes du 22 octobre 2014*)

Il est anormal que des animaux domestiques, d'élevage ou familiers, reconnus et protégés par la loi, soient massacrés dans des conditions indignes du bien-être animal par des hybrides qu'il revient aux pouvoirs publics de neutraliser.

RAPPEL: le pastoralisme, par sa contribution à la protection des paysages et au développement de la biodiversité, est reconnu d'intérêt général par la loi (Art L.113-1 du code rural)

Pièces jointe : ANALYSES

Un résultat d'analyse comporte entre 5 à 7 pages dont 4 pages de renseignements invariables (procédure, l'explication du traité de Ceres, les conditions.)

Voici donc des captures d'écran des analyses reçues depuis ce printemps.

Des personnes ont voulu garder leur anonymat c'est pourquoi, quelques informations sont masquées.

Des analyses sont toujours en cours en ce moment.



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdickstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>

Bruno Leconte

Hamburg, den 19.05.2017

Betreff: Untersuchung von Abstrich und Gewebematerial (SU0042-17)

Bezug:	Speziesbestimmung
Beschluss/Auftrag vom:	15.05.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	15.05.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	15.05.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

15.05.2017	bis	19.05.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuern-Nr.: 41/720/03074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiemann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE81 200505501002238830
 BIC: HASPDE33HAN

SU0042-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	0675-17	3 Q-tips: blutig mit Schmutzantragungen	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	0676-17	1 Q-tip: blutig mit Schmutzantragungen	Siehe oben (s.o.)
Spur 3	0677-17	4 Q-tips: blutig mit Schmutzantragungen	s.o.
Spur 4	0678-17	Gewebematerial, vakuumiert und bereits fäulnisverändert	s.o.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

I. nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

-keine durchgeführt-

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0675-17 (Spur 1)	5 Merkmale in 4 von 11 Merkmalsystemen: PEZ1: 127, PEZ5:96, PEZ3: 116/125, PEZ6: 159, SRY: negativ	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar. Das Allel 96 in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen.
0676-17 (Spur 2)	5 Merkmale in 4 von 11 Merkmalsystemen: PEZ1: 118, PEZ5: 100/105, PEZ3: 130, SRY: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar.
0677-17 (Spur 3)	4 Merkmale in 4 von 11 Merkmalsystemen: PEZ5: 80, PEZ20: (180), PEZ6: 169,	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar. Das Merkmal "80" im System PEZ5

SU0042-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
	SRY: positiv		wurde bisher bei keinem Canidae in der Datenbank nachgewiesen.
0678-17 (Spur 4)	Vollprofil: PEZ1: 118, FHC2054: 174/182, FHC2010: 228, PEZ5: 100, PEZ20: 174/182, PEZ12: 268/274, PEZ3: 110/112, PEZ6: 175, PEZ8: 229, FHC2079: 274 SRY: positiv	FCI-1-Hütehunde: 55 % (z.B. Schäferhund), Wolf, balt. Population: 35 %, FCI-8-Apportierhunde: 22 % (z.B. Retriever)	Mischung oder Wolfsmischung. Es zeigt sich ein stark erhöhter Wolfsanteil von > 30 % genetischer Übereinstimmung.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Aufzählung in einem ABI3130 Geneti-Analyzator; (M)Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalschwäche sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Probe Spur 1, Spur 2 und Spur 3 ließen sich Teilprofile, aus Spur 4 ein Vollprofil caniden Ursprungs erstellen

Ad II +III: Das Teilprofil (5 Merkmale in 4 von 11 Systemen) aus der Spur 1 (0675-17) lässt keine eindeutige Zuordnung zu Hund oder Wolf zu. Der negative SRY-Test in der Probe weist auf ein weibliches Tier hin, allerdings kann der Test auch bei geringer DNA Quantität negativ ausfallen. Das Merkmal „96“ im Markersystem PEZ5 wurde dabei von uns bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum und bei keinem der von uns untersuchten Hunde (>700 Tiere) nachgewiesen.

Entsprechend könnte hier die DNA-Spur eines weiblichen Wolfes oder eines Mischlings vorliegen.

Das Teilprofil (5 Merkmale in 4 von 11 Systemen) aus der Spur 2 (0676-17) lässt ebenfalls keine eindeutige Zuordnung zu Hund oder Wolf zu. Der positive SRY-Test in der Probe weist auf ein männliches Tier hin. Hier zeigt sich kein wolfstypisches Merkmal, so dass sich entsprechend kein deutlicher Hinweis auf einen Wolf, wie er sich in unserer Datenbank befindet, ergibt.

Auch das Teilprofil (4 Merkmale in 4 von 11 Systemen) aus der Spur 3 (0677-17) lässt keine eindeutige Zuordnung zu Hund oder Wolf zu. Der positive SRY-Test in der Probe weist auf ein männliches Tier hin. Das Merkmal „80“ im Markersystem PEZ5 wurde dabei von uns bisher

SU0042-17

bei keinem der von uns untersuchten Tiere nachgewiesen und kann entsprechend von uns nicht eingeordnet werden.

Das **Vollprofil** aus der **Spur 4 (0678-17)** eignet sich für eine Assoziationsanalyse. Hierbei konnten genetische Übereinstimmungen mit der FCI Kategorie 1 - Hütehunde (z.B. Schäferhund) von 55 %, mit Wölfen der baltischen Population von 35 % und der FCI Kategorie 8 – Apportierhunde von 22 % (z.B. Retriever) festgestellt werden. Ein wolfstypisches Merkmal, wie es in den von uns untersuchten Tieren vorkommt, konnte nicht nachgewiesen werden. Entsprechend kann von uns keine sichere Zuordnung durchgeführt werden.

Es scheint sich am ehesten um einen Mischlingshund zu handeln, wobei allerdings der sehr hohe Anteil genetischer Ähnlichkeit zu unseren Wolfspopulationen von >30 % auffällt.

. Diesen Schwellenwert überschreitet keiner, der von uns untersuchten Hundemischlinge. Der positive SRY-Test weist außerdem auf ein männliches Tier hin.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Stratec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
Nachweis polymorpher Merkmale spezifisch für die Familie der Hunde (siehe 11)

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH

Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fangdieckstr. 75a, 22547 Hamburg

Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
Mail: info@forensik-nh.de
URL: <http://www.forensik-nh.de>

Hamburg, den 08.06.2017

Betreff: Molekulargenetische Untersuchung einer Abstrichprobe (SU0045-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	15.05.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	15.05.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	15.05.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

17.05.2017	bis	08.06.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
Steuer-Nr.: 41/720/03074
Geschäftsführer:
Prof. Dr. K. Tiemann
Dr. T. Schwark
Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
IBAN: DE61200505501002239630
BIC: HASE3333

SU0045-17

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	ffd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	0702-17	Abstrichputfer, blutig mit Schmutzantragungen	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

3.2 Vergleichsmateriale (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

keine durchgeführt-

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spurenr- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

ffd. Nummer	Typisierungserfolg	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0702-17 (Spur 1)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ5: 80/94, PEZ8: 229 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar. Die Merkmalskombination "80/94" im System PEZ5 wurde bisher bei keinem Canidae in der Datenbank nachgewiesen.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Geneti Analyzer; [M]Merkmale, die eine geringe Amplifikation aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltäre sehr gering; SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Probe Spur 1 ließ sich ein sehr schwaches Teilprofil caniden Ursprungs erstellen

Ad II+III: Das Teilprofil (4 Merkmale in 3 von 11 Systemen) aus der Spur 1 (0702-17) lässt keine eindeutige Zuordnung zu Hund oder Wolf zu. Der positive SRY-Test in der Probe weist auf ein männliches Tier hin.

Die Merkmalskombination „80/94“ im Markersystem PEZ5 wurde dabei von uns bisher bei keinem der von uns untersuchten Tiere nachgewiesen und kann entsprechend von uns nicht

SU0045-17

eingordnet werden. Das Einzelallel „80“ konnte allerdings bereits bei der Spur 3 (0677-17) in Gutachten SU0042-17 nachgewiesen werden.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenruntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenrproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10))

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Betreff: Untersuchung von Abstrich und Knochen- /Gewebematerial (SU0054-17)

Bezug:	Speziesbestimmung
Beschluss/Auftrag vom:	12.06.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	18.06.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	18.06.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0054-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

18.06.2017	bis	03.04.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 (27.05.2017: Schaf, Brigitte Muret)	0933-17	4 Abstriche, blutig feucht, ggf. Bakterien-besetzt	Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 (17.05.2017: Schaf, J. Alexis)	0934-17	4 Abstriche, blutig, feucht, ggf. Bakterien-besetzt	s.o.
Spur 3	0935-17	Fang- und Schneidezahn aus linkem Unterkiefer, siehe Abb. 1, 2	Extraktion von Minimal Spuren aus geschreddertem Zahnmateriale und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 4	0936-17	Getrocknetes Gewebe vom Schädel (Abb. 1), aus Halswirbelsäulenansatz, siehe Abb. 2	Siehe Spur 1



Abb. 1: Skeletteile, wie sie zur Untersuchung vorlagen. Übersicht. Es wurde der Fangzahn aus dem unteren Kiefer entnommen, geschreddert und aufgearbeitet (lfd. Nr. 935/17).

SU0054-17



Abb. 2: Schädel eines Canidae, wie er zur Untersuchung vorlag. Sicht von unten in den Schädel hinein. Hier wurde am HWS-Ansatz Gewebe entfernt und aufgearbeitet (lfd. Nr. 936/17). Zusätzlich Seitenansicht der Unterkiefer.



Abb. 3: Unterkiefer, wie sie zur Untersuchung vorlagen. Seitenansicht. Kiefer nach Entnahme des Fangzahns (lfd. Nr. 935/17).

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

I. nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

-keine durchgeführt-

SU0054-17

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0933-17 (Spur 1)	12 Merkmale in 8 von 10 STR-Systemen: PEZ1: 124/132 FHC2054: 180/(184) FHC2010: 233/237 PEZ20: (178) PEZ12: (251/(263)/284) PEZ8: 228 FHC2079: 283 SRY: positiv	FCI-1 Hütehunde: 45 ±6,75% (z.B. Briard) FCI-8 Apportierhunde: 30 ± 4,5% (z.B. Labrador Retriever, Golden Retriever)	Es zeigen sich genetische Übereinstimmungen mit den aufgeführten Hunderassen. Daher ist davon auszugehen, dass es sich beim Verursacher um einen Mischling der beiden Rassen handelt.
0934-17 (Spur 2)	2 Merkmale in 2 von 10 STR-Systemen: PEZ1: 122 FHC2079: 283 SRY: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar.
0935-17 (Spur 3)	10 Merkmale in 8 von 10 STR-Systemen: PEZ1: 98/124 FHC2010: 220 PEZ5: 80 PEZ20: (179) PEZ12: (279/287) PEZ3: 121 PEZ8: (229/233) SRY: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da 5 oder weniger als 5 reproduzierbare autosomale Merkmale nachweisbar. Das Allel „80“ in PEZ5 wurde bisher bei keinem der von uns untersuchten Hunde nachgewiesen (n>700).
0936-17 (Spur 4)	Vollprofil: PEZ1: 107/129 FHC2054: 147/170 FHC2010: 230/234 PEZ5: 107/116 PEZ20: 163 PEZ12: 264 PEZ3: 94/98 PEZ6: 149/172 PEZ8: 217/221 FHC2079: 297/305 SRY: positiv	FCI-1-Hütehunde: 55 ± 2,75 % (z.B. Schäferhund), Wolf, let. Population: 40±2 %, Wolf, rus. Population: 25±1,25 %,	Mischling oder Wolfsmischling. Es zeigt sich ein stark erhöhter Wolfsanteil von > 30 % genetischer Übereinstimmung.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Klammern (Brennpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (=Merkmale, die eine geringe Amplifunde aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0054-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Probe Spur 1, Spur 2 und Spur 3 ließen sich Teilprofile, aus Spur 4 ein Vollprofil caniden Ursprungs erstellen

Ad II +III:

Zu den Rissproben:

Aus dem Riss, **Spur 1 (0933-17)**, konnte ein sehr schwaches Teilprofil (12 Merkmale in 8 von 10 Systemen) dargestellt werden. Dieses eignet sich für eine Assoziationsanalyse und zeigt genetische Übereinstimmungen von 45 ±6,75 % mit Hunden der FCI Gruppe 1: **Hütehunde** (z.B. Briard) sowie 30 ± 4,5 % mit der FCI Gruppe 8 **Apportierhunde** (z.B. Labrador Retriever). Daher ist davon auszugehen, dass es sich bei den asservierten Spuren um Spuren eines Mischlings der genannten Rassen handeln könnte bzw. eine sogenannte Nachnutzung durch diesen stattgefunden hat. Der positive SRY-Test weist auf ein männliches Tier hin. Es zeigt sich kein wolfstypisches Merkmal und auch keine relevante genetische Ähnlichkeit zum wolfstypischen Muster, so dass sich entsprechend kein Hinweis auf einen Wolf, wie er sich in unserer Datenbank befindet, ergibt.

Aus der **Spur 2 (0934-17)** konnten lediglich einzelne Signale nachgewiesen werden, die auf einen männlichen Caniden hindeuten, aber keine Zuordnung zu Hund oder Wolf erlauben.

Zum Schädel bzw. den Skeletteilen:

Die beiden mitgesandten **Unterkiefer** gehören mit größter Wahrscheinlichkeit nicht zu einem einzigen Tier, siehe hier auch Abb. 3. Sowohl die unterschiedliche Abnutzung der Zähne, sowohl die Verfärbung der Knochen- und Zahnschubstanz als auch der Vergleich der Muskelansätze und der Gelenkflächen lassen diesen Schluss zu.

Aus dem entnommenen **Zahn, Spur 3 (0935-17)** konnte nur ein Teilprofil erstellt werden. Dieses weist auf ein männliches Tier hin. Da weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar nachweisbar waren, ist hier keine Assoziationsanalyse möglich. Das Merkmal „80“ in PEZ 5 wurde dabei bisher noch bei keinem in der Datenbank hinterlegten Tiere (Hunde und Wölfe) und bisher nur bei dem Riss 0702-17 aus SU0045-17 nachgewiesen.

SU0054-17

Aus dem **Schädel** wurde Gewebe, **Spur 4 (0936-17)**, abgekratzt und dieses aufgearbeitet, wobei sich ein Vollprofil ergab.

Hierbei konnten genetische Übereinstimmungen mit der FCI Gruppe 1: **Hütehunde** von 55 ± 2,75 % (z.B. Schäferhund) sowie Wölfen aus der lettischen (40±2 %) und russischen Population nachgewiesen werden. Ein wolfstypisches Merkmal, wie es in den von uns untersuchten Tieren vorkommt, konnte nicht nachgewiesen werden. Entsprechend kann von uns keine sichere Zuordnung durchgeführt werden. Die genaue Assoziationsanalyse weist hauptsächlich auf den **belgischen Schäferhund** hin.

Es scheint sich am ehesten um einen Mischlingshund zu handeln, wobei der sehr hohe Anteil genetischer Ähnlichkeit zu unseren Wolfspopulationen von >30 % auffällt. Diesen Schwellenwert überschreitet keiner, der von uns untersuchten Hunde, während keiner der von uns untersuchten Wölfe eine derartig geringe Wolfsähnlichkeit zeigt. Der positive SRY-Test weist außerdem auf ein männliches Tier hin.


PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige

Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.


Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13) Nachweis polymorpher Merkmale spezifisch für die Familie der Hunde (siehe 11)

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

Bruno Lecomte

Betreff: Molekulargenetische Schädeluntersuchung (SU0063-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	28.06.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	28.06.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	28.06.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

28.06.2017	bis	12.07.2017
------------	-----	------------

SU0063-17

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur1	0979-17	Schädel ohne Unterkiefer, Fangzähne und Backenzahn	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

I. nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

-keine durchgeführt-

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spurenr- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0979-17 (Spur 1)	11 Merkmale in 7 von 11 Systemen: PEZ1: (99/102) FHC2054: 160/164 PEZ5: 96/105 PEZ3: 118 PEZ6: 170/182, PEZ8: (245/253) SRY-Test: positiv	FCI-1 Hühelhunde (45+/-6,75 %, z.B. Tschechischer Wolfshund) Wolf (30+/-4,5 %, russ. Population)	Es zeigt sich die größte Ähnlichkeit zu der Gruppe der Hühelhunde, wobei sich hier als erster Treffer der angegebene Hund zeigt.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (=Merkmal, die eine geringe Ampelgröße aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom)

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Probe ließ sich ein Teilprofil caniden Ursprungs erstellen.

Ad II: Das Teilprofil (11 Merkmale in 7 von 11 Systemen) aus Spur 1 (0979-17) wurde in die Assoziationsanalyse eingegeben. Es ergibt sich eine große Ähnlichkeit zur Gruppe der Hühelhunde, am ehestem dem Tschechischen Wolfshund. Der errechnete „Wolfsanteil“ kann durchaus zu einem „normalen“ Hund passen.

Allerdings wurde die Analyse nur mit einem Teilprofil durchgeführt (7 ausgesuchte Merkmale), so dass sich hier sowohl nach oben als auch nach unten Abweichungen ergeben könnten,

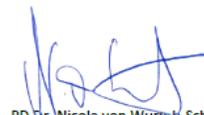
SU0063-17

würde man ein vollständiges Merkmalsmuster analysieren. In unserer Bestimmung wurde ein Faktor von +/- 15 % angegeben, um dieser Unsicherheit entgegen zu kommen.

Das Merkmal „96“ im Markersystem PEZ5 von uns bisher nur bei Wölfen und bei keinem der von uns untersuchten Hunderassen (>700 Hunde) nachgewiesen.

Der positive Nachweis des SRY-Merkmals weist zudem auf ein männliches Tier hin.

Das Teilprofil eignet sich für einen Abgleich mit unserer Datenbank vorheriger Risse. Das detektierte Profil ist keinem Riss und keinem Tier in unserer Datenbank zuzuordnen.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenruntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Stratagene. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenrproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XL Genetic Analyzers (siehe 10)

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen aus langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen



Ginette Marchive



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdickstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-ihm.de
 URL: <http://www.forensik-ihm.de>

Hamburg, den 13.07.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0067-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	05.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	10.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	10.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

10.07.2017	bis	13.07.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuer-Nr.: 41/720/03074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tietmann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE6 1200505501002238630
 BIC: HASPDEHXXXX

SU0067-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Schafriß vom 24.05.2017 Bengouzal	0969-17	2 Abstriche	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Schafriß vom 26.06.2017 Galazel	0970-17	2 Abstriche	s.o.
Spur 3 Schafriß vom 03.07.2017 Scoquart, Jean Paul	0971-17	2 Abstriche	s.o.
Spur 4 Schafriß vom 01.07.2017 Scoquart, Jean Paul	0972-17	2 Abstriche	s.o.
Spur 5 Schafriß vom 25.05.2017 Gaec du con Rousseau	0973-17	5 Abstriche	s.o.
Spur 6 Schafriß vom 02.06.2017 Bengouzal	0974-17	8 Abstriche	s.o.
Spur 7 Schafriß vom 03.07.2017 Gaec dela Doline	0975-17	6 Abstriche	s.o.

Pro Spur wurden zwei bis drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Alle Proben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
0969-17	negativ
0970-17	schwach positiv
0971-17	positiv
0972-17	schwach positiv
0973-17	positiv
0974-17	positiv
0975-17	schwach positiv

SU0067-17

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0969-17 (Spur 1)	k.E.	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da keine Markersysteme nachweisbar.
0970-17 (Spur 2)	5 Merkmale in 5 von 11 Markersystemen: PEZ1: 105, FHC2054: 160, PEZ5: (96), PEZ3: (107), SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
0971-17 (Spur 3)	6 Merkmale in 5 von 11 Markersystemen: PEZ1: 105, FHC2054: 160, PEZ5: 96, PEZ3: (107)/119, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
0972-17 (Spur 4)	1 Merkmal in 1 von 11 Markersystemen: SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da keine autosomalen Markersysteme nachweisbar.
0973-17 (Spur 5)	5 Merkmale in 4 von 11 Markersystemen: FHC2054: (160), PEZ5: 96, PEZ3: (107)/119, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
0974-17 (Spur 6)	9 Merkmale in 6 von 11 Markersystemen: PEZ1: 105, FHC2054: 160, PEZ5: 96/102, PEZ3: (101/107/119), PEZ8: (253), SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden. Hier wird ein zusätzliches Merkmal detektiert, das auf eine Mischspur von mindestens zwei Tieren hindeuten kann.
0975-17 (Spur 7)	3 Merkmale in 3 von 11 Markersystemen: FHC2054: 160, PEZ5: 96, PEZ3: (107), SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (k)=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering; SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0067-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

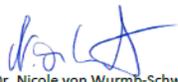
Ad I: Aus allen Spuren, mit Ausnahme von Spur 1 (0969-17) konnte ein Teilprofil caniden Ursprungs erstellt werden. Aus Spur 4 (0972-17) konnte nur das geschlechts-bestimmte Merkmal dargestellt werden.

Ad II+III: Aus Spur 1 (0969-17) konnte kein genetisches Profil dargestellt werden, der Amylasevortest verlief hier ebenfalls negativ.

Aus Spur 2 bis Spur 7 (0970-17 bis 0975-17) konnten canide Teilprofile erstellt werden, der Amylasetest verlief jeweils positiv bzw. schwach positiv. Aufgrund der wenigen nachweisbaren Marker ist hier jedoch keine Assoziationsanalyse möglich.

Das Allel „96“ in PEZ5 wurde dabei bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population und bei keinem Hund (n>700) aus 100 verschiedenen Rassen nachgewiesen. Der SRY – Test verlief bei allen Spuren positiv, was auf ein männliches Tier hindeutet.

Alle nachgewiesenen Teilprofile sind sich sehr ähnlich, d.h. es könnte sich bei dem Verursacher um das gleiche Individuum bzw. um eng verwandte Tiere handeln.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.


Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10))
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.



ForGen – Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH | Fangdieckstr. 75a | 22547 Hamburg

Bruno Lecomte



Deutsche Akkreditierungsstelle
D-PL-20545-01-00



Fachabstammungsgutachterin
geprüft durch die KfG
nr. 118/2013 www.kfg.de

ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH

Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark

Fangdieckstr. 75a, 22547 Hamburg

Tel: +49 (0) 40 524 72 38-600

Fax: +49 (0) 40 524 72 38-610

E-Mail: info@forensik-hh.de

URL: <http://www.forensik-hh.de>

Hamburg, den 21.07.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0068-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	05.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	10.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	10.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.

II. Befindet sich an den Spurenlägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?

III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

10.07.2017	bis	20.07.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
Steuernr.: 41/720/03074
Geschäftsführer:
Prof. Dr. K. Tiemann
Dr. T. Schwark
Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
IBAN: DE81200505501002238630
BIC: HASPDEHXXXX

SU0068-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenläger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Riss vom 06.06.2017 k.a.	0976-17	2 Wattetücher, dreckig mit Haaren (eher Schaf o.Ä.)	Vortest auf Amylase. Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 k.a. Vosges	0977-17	3 Abstriche, stark blutig, FL medical	s.o.
Spur 3 k.a. k.a.	0980-17 0981-17	2 Q-tips, blutig Gewebe material, stark fäulnisverändert	s.o. eingesetzt wurden etwa 100 mg Gewebe
Spur 4 Schädel	1048-17	Backenzähne aus dem Oberkiefer eines Schädels, stark verwittert	s.o. eingesetzt wurde die Hälfte eines zerstörten Zahns

Pro Spur wurden zwei bis drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Alle Proben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
0976-17	schwach positiv
0977-17	schwach positiv
0980-17	negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0976-17 (Spur 1)	4 Merkmale in 4 von 11 Markersystemen: PEZ1: 95, FHC2054: 160, PEZ5: 96, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da 5 oder weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "96" im System PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus dem russischen Raum nachgewiesen werden.
0977-17 (Spur 2)	2 Merkmale in 2 von 11 Markersystemen: PEZ5: (96), SRY-Test: positiv	nicht möglich	s.o.

SU0068-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
0980-17/ 0981-17 (Spur 3)	4 Merkmale in 3 von 11 Markersystemen: FHC2054: 160, PEZ5: (67/96), SRY-Test: positiv	nicht möglich	s.o. Das Merkmal „67“ in PEZ5 wurde bisher bei keinem untersuchten Canidae in unserer Datenbank detektiert. Hier wird weiter untersucht, ob es sich um ein echtes Allel handelt.
1048-17 (Spur 4)	11 Merkmale in 7 von 11 Systemen: PEZ1: (102), FHC2054: (151/162), PEZ5: 82/92, PEZ20: 176, PEZ3: 132/142, PEZ6: 178, PEZ8: 225/226	FCI-7-Vorstehende (60±9%, z.B. Deutsch-Drahthaar) Wolf, baltische Population (40±6 %)	Es zeigt sich die größte Ähnlichkeit zu der Gruppe der Vorstehende, wobei sich hier als erster Treffer der angegebene Hund zeigt. Das Tier weist jedoch einen erhöhten Wolfsanteil >30 % sowie das Allel „92“ in PEZ5 auf, welches bisher nur bei Wölfen aus der baltischen Population nachgewiesen werden konnte. Das Merkmal „82“ in PEZ5 wurde bisher bei keinem untersuchten Canidae in unserer Datenbank detektiert. Hier wird weiter untersucht, ob es sich um ein echtes Allel handelt.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basepaare) nach Aufzählung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (±)Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus allen Spuren konnte ein -schwaches- Teilprofil caniden Ursprungs, bestehend aus den kürzeren DNA-Fragmenten erstellt werden. Dies deutet auf Degradierungsprozesse (z.B. durch Fäulnis und Alter) hin.

Ad II+III: Aus Spur 1 bis Spur 3 (0976-17, 0977-17, 0980-17/0981-17) konnten canide Teilprofile erstellt werden, der Amylasetest verlief jeweils schwach positiv bzw. negativ. Aufgrund der wenigen nachweisbaren Marker ist hier keine Assoziationsanalyse möglich.

Das Allel „96“ in PEZ5 wurde dabei bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population und bei keinem Hund (n>700) aus 100 verschiedenen Rassen nachgewiesen. Der SRY – Test verlief bei allen Spuren positiv, was auf ein männliches Tier hindeutet. Das Allel „67“ in den Proben 0980-17/0981-17 wurde bisher noch bei keinem untersuchten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen. Hier muss überprüft werden, ob es sich um ein echtes Merkmal handeln kann.

Das Teilprofil (11 Merkmale in 7 von 11 Systemen) aus dem Schädel, Spur 4 (1048-17), wurde in die Assoziationsanalyse eingegeben. Es ergibt sich eine große Ähnlichkeit zur Gruppe der Vorstehende, am ehestem dem Deutsch-Drahthaar. Allerdings ergab die Analyse nur mit einem Teilprofil durchgeführt (7 ausgesuchte Merkmale, die am stärksten ausgeprägt waren), so dass sich hier sowohl nach oben als auch nach unten Abweichungen ergeben könnten, würde man ein vollständiges Merkmalsmuster analysieren. In unserer Bestimmung wurde daher ein Faktor von +/- 15 % angegeben, um dieser Unsicherheit entgegen zu kommen. Das Merkmal „92“ im Markersystem PEZ5 in dieser Spur

SU0068-17

wurde von uns bisher nur bei Wölfen aus dem baltischen Raum und bei keinem der von uns untersuchten Hunderassen (>700 Hunde) nachgewiesen.

Auffallend ist des Weiteren die hohe genetische Ähnlichkeit zum Wolf, die bei keinem der von uns untersuchten Hunde bisher gefunden wurde. Dabei muss auch hier das Teilprofil als Unsicherheitsfaktor angesehen werden. Auch dieser Wert kann sich bei Analyse eines Vollprofils nach oben oder unten verändern.

Der negative SRY-Test weist auf ein weibliches Tier hin, allerdings kann der Test auch bei schlechter DNA-Qualität/Quantität negativ ausfallen, wodurch ein falsch-negatives Ergebnis entstehen würde.

Das Allel „82“ in der Probe 1048-17 wurde bisher noch bei keinem untersuchten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen. Hier muss in weiteren Untersuchungen überprüft werden, ob es sich um ein echtes Signal handelt.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10)
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Würmb-Schwark
 Fangdielestr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>
 Hamburg, den 21.07.2017

Ginette Marchive

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0075-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	14.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	18.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	18.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

18.07.2017	bis	21.07.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuer-Nr.: 41720/03074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiemann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Würmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE81 20050550 1002236630
 BIC: HASPDE33XXX

SU0075-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Riss vom 14.07.2017 Cornus	1046-17	9 Abstrichupfer, stark blutig, Copan	Vortest auf Amylase. Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Kotprobe vom 17.02. Sainte-Eulalie de Cernon	1047-17	Kotprobe, getrocknet	Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

Pro Spur wurden drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet, bzw. etwa 100 mg Masse.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1046-17	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1046-17 (Spur 1)	27 Merkmale in 10 von 11 Systemen: FHC2054: (162/177) FHC2010: 222/232, PEZ5: 92/(96)/101, PEZ20: 173/179/193, PEZ12: 264/(276), PEZ3: 96/104/127/137, PEZ6: (172)/178/186/192/199, PEZ8: 247/249/256, FHC2079: 264/267/276 SRY: positiv (schwach)	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da es sich um eine Mischspur von mindestens 2, auch möglich 3 Individuen handelt. Das Allel "92" und "96" im System PEZ5 konnten dabei bisher nur bei Wölfen aus dem baltischen bzw. russischem Raum nachgewiesen werden.
1047-17 (Spur 2)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Klänge (Basenpaare) nach Auftretens in einem ABI3130 Genetic Analyzer; [M=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering; SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0075-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus Spur 1 (1046-17) konnte ein Mischprofil caniden Ursprungs erstellt werden. Aus der Kotprobe (1047-17) ließ sich kein genetischer Fingerabdruck erstellen.

Ad II+III: Aus Spur 1 (1046-17) konnte ein canides Mischprofil von mindestens zwei, gut möglich auch drei Individuen erstellt werden. Der Amylasetest verlief schwach positiv. Aufgrund der Mischung von zwei bis drei Individuen, ohne eine Hauptsur, lässt sich keine Assoziationsanalyse durchführen.

Das Allel „92“ und „96“ in PEZ5 wurden bisher nur bei Wölfen und bei keinem Hund (n>700) aus 100 verschiedenen Rassen nachgewiesen. Der SRY – Test verlief bei Spur 1 schwach positiv, was auf mindestens ein männliches Tier hindeutet.

Aus dem getrockneten Kot aus Spur 2 (1047-17) konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden.

PD Dr. Nicole von Würmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
 Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10))
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):
 Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wumb-Schwark
 Fangdelestr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-800
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-810
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>
 Hamburg, den 27.07.2017

Bruno Lecomte

Betreff: Molekulargenetische Analyse eines Haarbüschels (SU0080-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	19.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	19.07.2017
Eingang des Spurenmateri als an unserem Institut:	19.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenlägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

19.07.2017	bis	27.07.2017
------------	-----	------------

SU0080-17

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurenläger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1055-17	Haarbüschel, blutige Antrugungen	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
	1068-17	5 Haare mit Wurzel	

3.2 Vergleichsmateriale (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

- positiver Peroxtesmo Vortest auf okkultes Blut

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spurenl- u. Vergleichsmateriale, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1055-17 (Spur 1)	negativ	nicht möglich	Nicht möglich.
1068-17 (Spur 1)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: PEZ1: 102/105, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (D)=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalsäure sehr gering, SRY= Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Spur konnte ein Teilprofil caniden Ursprungs erstellt werden.

Ad II +III: Aus Spur 1 (1055-17/1068-17) konnte ein canides Teilprofil erstellt werden, der Peroxtesmo-Test verlief schwach positiv. Eine Assoziationsanalyse ist nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Merkmale detektierbar waren. Das Allel „70“ in PEZ5 wurde dabei bisher bei keinem Canidae in unserer Datenbank (n>700) aus >100 verschiedenen Rassen

SU0080-17

nachgewiesen. Der positive SRY-Test weist zudem auf ein männliches Tier hin. Das detektierte genetische Profil eignet sich nicht für einen Abgleich mit der Rissdatenbank.

PD Dr. Nicole von Wumb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige

Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer. nat. Jan-Hendrik Mödrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenluntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell -wenn vorhanden - Vergleichsmateriale unabhängig von Spurenlproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10)
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratech.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über



Ginette Marchive

ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdieleckstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>
 Hamburg, den 27.07.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0082-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	20.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	20.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	20.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

20.07.2017	bis	26.07.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuer-Nr.: 41720/03074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiemann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE81200505501002238630
 BIC: HASPDE33XXX

SU0082-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Schafriß vom 15.07.2017 La Couvertoirade	1052-17	3 Abstriche	Vortest auf Amylase. Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Kotprobe vom 15.07.2017 La Couvertoirade	1053-17	Kotprobe, getrocknet	Extraktion von Minimalspuren aus Kotpuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 3 Kotprobe vom 17.01.2017 St. Evlauer de German	1054-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.

Pro Spur wurden zwei bis drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Alle Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1052-17	negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1052-17 (Spur 2)	6 Merkmale in 6 von 11 Markersystemen: PEZ1: 106, PEZ5: (83), PEZ3: 173, PEZ6: 208, PEZ8: (226) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar. Das Allel "83" im System PEZ5 konnte dabei bisher noch bei keinem Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen werden.
1053-17 (Spur 1)	k.E. SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da keine Markersysteme nachweisbar. Der positive SRY-Test weist auf ein männliches Tier hin.
1054-17 (Spur 3)	3 Merkmale in 3 von 11 Markersystemen: PEZ3: 102, FHC2079: (273) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Bakeraars) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer. [J]=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering. STR: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0082-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus allen Spuren, mit Ausnahme von Spur 1 (1053-17) konnte ein Teilprofil caniden Ursprungs erstellt werden. Aus Spur 1 (1053-17) konnte nur das geschlechts-bestimmte Merkmal dargestellt werden.

Ad II-III: Aus Spur 1 (1053-17) konnte kein genetisches Profil dargestellt werden.

Aus Spur 2 und Spur 3 (1052-17 und 1054-17) konnten canide Teilprofile erstellt werden. Aufgrund der wenigen nachweisbaren Marker ist hier jedoch keine Assoziationsanalyse möglich.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
 Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Madrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Stratoc. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10)
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010): Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.
 (8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung: Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.



Ginette Marchive

ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark

Fangdleckstr. 75a, 22547 Hamburg

Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>

Hamburg, den 27.07.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0083-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	20.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	21.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	21.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenlägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

21.07.2017	bis	27.07.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuernr.: 41720/03074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiemann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE51200505501002238630
 BIC: HASPDE33XXX

SU0083-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenläger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Kotprobe vom 19.07.2017 Larzac	1056-17	Kotprobe, getrocknet	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Schafriß vom 18.07.2017 La Couvertolradle	1057-17	3 Abstrichputzfer, stark blutig, Copan	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

Pro Spur wurden drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1057-17	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1056-17 (Spur 1)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1057-17 (Spur 2)	9 Merkmale in 7 von 11 Systemen: FHC2054: 143/144, FHC2010: 224, PEZ5: (101/112), PEZ3: 113, PEZ6: 208, PEZ8: 271 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da in weniger als 5 autosomalen Markersystemen die Allele reproduzierbar detektierbar waren.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (I)=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0083-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus **Spur 2 (1057-17)** konnte ein Teilprofil caniden Ursprungs erstellt werden. Aus der **Kotprobe (1056-17)** zeigten sich keine Signale.

Ad II+III: Aus **Spur 2 (1057-17)** konnte ein canides Teilprofil erstellt werden, der Amylasetest verlief schwach positiv. Da weniger als 5 autosomale Systeme reproduzierbar detektiert werden konnten, ist eine Assoziationsanalyse nicht möglich. Der SRY – Test verlief bei Spur 2 positiv, was auf mindestens ein männliches Tier hindeutet.

Aus dem getrockneten Kot aus **Spur 1 (1056-17)** konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige

Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
 Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 7)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10))
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:



Ginette Marchive

ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdielestr. 75a, 22547 Hamburg

Tel: +49 (0) 40 524 72 36-800
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-910
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>

Hamburg, den 01.08.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0086-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	27.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	27.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	27.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.

II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?

III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

27.07.2017	bis	01.08.2017
------------	-----	------------

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuer-Nr.: 41/720/3074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiemann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE61 200505501002238630
 BIC: HASPDE33XXX

SU0086-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht, es werden jeweils 3

Abstriche zusammen als eine Probe aufgearbeitet:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Schafriß vom 22.07.2017 Cornus	1072-17	5 Abstrichtupfer, stark blutig, Copan getrocknet	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 1 Schafriß vom 24.07.2017 Scoquart	1073-17	3 Abstrichtupfer, stark blutig, Copan	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 1 Schafriß vom 24.07.2017 Rousseau	1074-17	7 Abstrichtupfer, stark blutig, Copan	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

Pro Spur wurden drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1072-17	positiv
1073-17	positiv
1074-17	negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziations-analyse	Beurteilung/Bemerkung
1072-17 (Spur 1)	Vollprofil: PEZ1: 96, FHC2054: 167, FHC2010: 224, PEZ5: (102/110), PEZ20: 177/181, PEZ12: 265/271, PEZ3: 102, PEZ6: 182, PEZ8: 230, FHC2079: 271/275, SRY-Test: positiv	Wolf 70±3% (baltische Population) FCI-1-Hütehund 40±2% (z.B. Hovawart)	Wolf oder Wolfsmischung. Es zeigt sich eine erhöhte genetische Übereinstimmung mit Wölfen der baltischen Population (>30%)

SU0086-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziations-analyse	Beurteilung/Bemerkung
1073-17 (Spur 2)	10 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 102, FHC2054: (167), FHC2010: (224), PEZ5: 96, PEZ20: 173/177, PEZ3: 135, FHC2079: 263/266, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da in nur 5 autosomalen Markersystemen die Allele reproduzierbar detektierbar waren. Das Allel 96 in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen
1074-17 (Spur 3)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck aus der Spur 3 erstellt werden.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; [n]-Merkmale, die eine geringe Ampelstärke aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus **Spur 1 (1072-17)** ließ sich ein Vollprofil erstellen, aus **Spur 2 (1073-17)** konnte ein schwaches Teilprofil caniden Ursprungs erstellt werden. Aus der **Spur 3 (1073-17)** ließ sich kein genetischer Fingerabdruck erstellen.

Ad II+III: Aus **Spur 1 (1072-17)** ließ sich ein Vollprofil darstellen. Es zeigen sich genetische Übereinstimmungen mit dem **Wolf 70±3%** (baltische Population) sowie Hunden der **FCI-Gruppe-1 Hütehunde 40±2%** (z.B. Hovawart). Der positive SRY-Test in der Probe weist auf ein männliches Tier hin. Das Profil zeigt **75 %** Übereinstimmung mit Rissen aus Frankreich.

Aus **Spur 2 (1073-17)** konnte nur ein schwaches canides Teilprofil erstellt werden. Da nur 5 autosomale Systeme reproduzierbar detektiert werden konnten, ist eine Assoziationsanalyse nicht möglich. Der SRY – Test verlief bei Spur 2 ebenfalls positiv, was auf mindestens ein männliches Tier hindeutet. Das Allel 96 wurde bisher nur bei Wölfen der lettischen Population und bei keinem Hund (n>700) aus 100 Rassen nachgewiesen.

Aus der **Spur 3 (1073-17)** konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdeckstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-nh.de
 URL: <http://www.forensik-nh.de>
 Hamburg, den 02.08.2017

Betreff: Molekulargenetische Analyse einer Gewebeprobe (SU0087-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	25.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	27.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	27.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

27.07.2017	bis	01.08.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenträger wurden untersucht:

Amtsgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuer-Nr.: 41/72053074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiemann
 Dr. T. Schwark
 Priv. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE6120050551002238630
 BIC: HASPDE33XXX

SU0087-17

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1070-17	Gewebestück, ca. 1x1 cm, Inkubation: 48 h	Extraktion aus Gewebe und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
	1071-17	Gewebestück, ca. 1x1 cm, Inkubation: 10 min	

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Keine durchgeführt

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1070-17 / 1071-17 (Spur 1)	Vollprofil: PEZ1: 118, FHC2054: 144, FHC2010: 224, PEZ5: 92/101, PEZ20: 191, PEZ12: 265, PEZ3: 135, PEZ6: 172/179, PEZ8:209/227, FHC2079: 259/271, SRY-Test: positiv	Wolf 75±3,75% (russische Population) FCI-1-Hütehunde 40±2% (z.B. Berner Sennenhund)	Wolf oder Wolfsmischung. Es zeigt sich eine erhöhte genetische Übereinstimmung mit Wölfen der russischen Population (>70%) Das Allel 92 wurde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population detektiert.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (=Merkmale, die eine geringe Ampfunde aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom)

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Aus **Spur 1 (1070-17/1071-17)** ließ sich ein Vollprofil spezifisch für einen Caniden nachweisen.

Dabei zeigen sich genetische Übereinstimmungen mit dem **Wolf, 75±3,75% (russische Population)** sowie **Hunden der FCI-Gruppe-1 Hütehunde 40±2% (z.B. Berner Sennenhund)**.

Der positive SRY-Test in der Probe weist auf ein männliches Tier hin. Das Merkmal "92" im System PEZ 5 wurde bisher ausschließlich bei Wölfen der russischen Population und bei keinem in der Datenbank untersuchten Hunderrassen (n>700 aus >100 Rassen) nachgewiesen.

Damit ist das hier untersuchte Tier durch den Vergleich mit den in unserer Datenbank vorhandenen Tiere tatsächlich am ehesten einem Wolf aus der russischen Population zuzuordnen.

SU0087-17

Dabei muss bemerkt werden, dass die Analyse mit einer sogenannten **Rissprobe** durchgeführt wurde. D.h., dass die DNA-Qualität und -Quantität aus solchen Quellen i.d.R. nicht optimal ist. Dies kann zu Allelverlusten und so zu möglicherweise falsch-homozygoten Bestimmungen führen, was wiederum möglicherweise zu geringen Veränderungen des Ergebnisses führen könnte.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenanalyse eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Stratec. Dabei werden generell -wenn vorhanden - Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XL Genetic Analyzers (siehe 10))
- Speichelnachweis mit dem Amylastest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungszahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischbarkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Gen Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur



Bruno Lecomte



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdieleckstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: http://www.forensik-hh.de
 Hamburg, den 02.08.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0090-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	31.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	31.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	31.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

31.07.2017	bis	02.08.2017
------------	-----	------------

Amstgericht Hamburg, HRB 139130
 Steuer-Nr.: 41720/03074
 Geschäftsführer:
 Prof. Dr. K. Tiersmann
 Dr. T. Schwark
 Dr. N. von Wurmb-Schwark



Hamburger Sparkasse
 IBAN: DE81200505501002238630
 BIC: HASPDE33XXX

SU0090-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht, es werden jeweils 3 Abstriche zusammen als eine Probe aufgearbeitet:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Schafrriss vom 17.07.2017 Brette	1081-17	4 Abstrichtupfer, stark blutig, Copan getrocknet	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

Pro Spur wurden drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1081-17-	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1081-17 (Spur 1)	16 Merkmale in 10 von 11 Systemen: PEZ1: 96/101/106/121, FHC2054: 167, FHC2010: 232, PEZ20:173/177, PEZ12: 265, PEZ3: 110/117/127/133/151, PEZ6: 173/179/199/205, PEZ8: 226, FHC2079: 259/267/271/275, SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es handelt sich um eine Mischspur von mindestens 3 Individuen, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; [-]=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltäre sehr gering. SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0090-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus Spur 1 (1081-17) konnte ein genetisches Mischprofil caniden Ursprungs erstellt werden. Der Amylasevortest zeigte ein schwach positives Ergebnis.

Ad II+III: Aus Spur 1 (1081-17) ließ sich ein Mischprofil darstellen. Es zeigten sich Merkmale von mindestens drei verschiedenen Individuen, eine Assoziationsanalyse ist daher leider nicht möglich. Der positive SRY-Test in der Probe weist auf mindestens ein männliches Tier hin.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10)
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdickstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-ht.de
 URL: <http://www.forensik-ht.de>

Hamburg, den 02.08.2017

Bruno Lecomte

Betreff: Molekulargenetische Analyse von Kotproben (SU0091-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	31.07.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	31.07.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	31.07.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

31.07.2017	bis	02.08.2017
------------	-----	------------

SU0091-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht, es werden jeweils 3 Abstriche zusammen als eine Probe aufgearbeitet:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Kotprobe	1083-17	Kotprobe, Stabilizer Tube	Extraktion von schwierigen Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Kotprobe „Italien“	1084-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.

Pro Spur wurden drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Nicht durchgeführt

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1083-17 (Spur 1)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnte kein genetisches Profil erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1084-17 (Spur 2)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnte kein genetisches Profil erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.

*Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Geneti Analyzer; D=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, STR: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus Spur 1 (1083-17) und Spur 2 (1084-17) konnte kein genetisches Profil erstellt werden.

Ad II+III: Aus beiden Spuren ließ sich kein genetisches Profil darstellen, eine Assoziationsanalyse ist daher leider nicht möglich.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.



ForGen - Forensische Genetik und Rechtsmedizin am Institut für Hämatopathologie GmbH
 Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fangdieckstr. 75a, 22547 Hamburg
 Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
 Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
 Mail: info@forensik-hh.de
 URL: <http://www.forensik-hh.de>
 Hamburg, den 10.08.2017

Ginette Marchive

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0093-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	08.08.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	08.08.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	08.08.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

08.08.2017	bis	10.08.2017
------------	-----	------------



SU0093-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Schafriß vom 28.07.2017 „Le Cun“	1100-17	6 Abstriche, blutig, Copan	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Schafriß vom 30.07.2017 Cruzeize	1101-17	3 Abstrichupfer, stark blutig, Copan	s.o.
Spur 3 Pferderiße vom 01.08.2017 Taples	1102-17	6 Abstriche, blutig, Copan	s.o.
Spur 4 Schafriß vom 31.07.2017 Taples/Vidal	1103-17	4 Abstriche, blutig, Copan	s.o.
Spur 5 Schafriß vom 01.08.2017 Bengouzal	1104-17	2 Abstriche, blutig, Copan	s.o.

Pro Spur wurden zwei bis drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1100-17	schwach positiv
1101-17	schwach positiv
1102-17	schwach positiv
1103-17	schwach positiv
1104-17	schwach positiv

SU0093-17

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziations-analyse	Beurteilung/Bemerkung
1100-17 (Spur 1)	5 Merkmale in 4 von 11 Systemen: PEZ1: (129) FHC2054: k.E. FHC2010: k.E. PEZ5: 96 PEZ20: k.E. PEZ12: k.E. PEZ3: 102/117 PEZ6: k.E. PEZ8: k.E. FHC2079: k.E. SRY-test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale nachgewiesen werden konnten, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel 96 in PEZ5 wurde dabei bisher in unserer Datenbank nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen.
1101-17 (Spur 2)	Kein Ergebnis SRY-Test: negativ	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden konnte.
1102-17 (Spur 3)	16 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 113/117 FHC2054: k.E. FHC2010: k.E. PEZ5: 92/105 PEZ20: 173/199 PEZ12: (265/271) PEZ3: 103/153 PEZ6: 179/193 PEZ8: 226/258 FHC2079: 271 SRY-Test: positiv	FCI-2-Molloser 60±3 % (z.B. Hovawart) Wolf 50±2,5 % (baltische Population)	Hund oder Wolfsmischung. Es zeigt sich ein erhöhter Wolfsanteil von >40%. Das Allel 92 in PEZ5 konnte dabei bisher nur bei Wölfen aus der baltischen Population nachgewiesen werden.
1103-17 (Spur 4)	Kein Ergebnis SRY-Test: negativ	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden konnte.
1104-17 (Spur 5)	Kein Ergebnis SRY-Test: negativ	nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden konnte.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Basenpaarlänge in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (k)=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltärke sehr gering. SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom, k.E.: kein Ergebnis

SU0093-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus den Spuren 1 (1100-17) und 3 (1102-17) konnten Teilprofile caniden Ursprungs erstellt werden. Die Spuren 2 (1101-17), 4 (1103-17) und 5 (1104-17) blieben ohne Ergebnis. Alle Proben zeigten ein schwach positives Ergebnis im Amylase-Vortest.

Ad II+III: Das canide Teilprofil aus Spur 1 (1100-17) zeigt 4 autosomale Merkmale in 3 von 10 Systemen. Eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel 96 im System PE25 wurde bisher ausschließlich bei Wölfen aus der baltischen Population nachgewiesen und bei keinem Hund (n>700, mehr als 100 Rassen) in unserer Datenbank. Der positive SRY-Test weist auf mindestens ein männliches Tier hin.

Das Teilprofil aus Spur 3 (1102-17) zeigt eine hohe genetische Übereinstimmung mit Hunden der Gruppe FCI-2-Mollosser (60±3 %, z.B. Hovawart) sowie dem Wolf (50±2,5 %, baltische Population).

Es zeigt sich eine erhöhte genetische Übereinstimmung von >40 % zum Wolf sowie das Allel 92, welches bisher ausschließlich Wölfe in unserer Datenbank aus der baltischen Population aufwiesen und keiner der von uns untersuchten Hunde (n>700, mehr als 100 Rassen). Andererseits zeigt keiner der Wölfe in unserer Datenbank eine derart niedrige genetische Ähnlichkeit zum Wolf.

Es könnte sich daher durchaus um einen Mischling zwischen Hund und Wolf handeln oder aber um den Vertreter einer Hunderasse, die uns bisher unbekannt ist und die eine extrem hohe, genetische Ähnlichkeit zum Wolf aufweist. Der SRY-Test ist positiv, was auf einen männlichen Canidae hinweist. Das gefundene genetische Profil zeigt außerdem eine 80 %ige Übereinstimmung mit den bereits aus Frankreich untersuchten Rissen. Da diese Analyse aus DNA mit schlechterer Qualität und Quantität (=Rissprobe) durchgeführt wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich Veränderungen zum Originalprofil ergeben haben, die möglicherweise zu geringen Veränderungen des Ergebnisses führen könnten.

Aus den Spuren 2 (1101-17), 4 (1103-17) und 5 (1104-17) konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden. Der SRY-Test verlief ebenfalls negativ.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

Bruno Lecomte

Betreff: Molekulargenetische Analyse von Riss- und Kotproben (SU0097-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	14.08.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	14.08.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	14.08.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenlägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

14.08.2017	bis	17.08.2017
------------	-----	------------

SU0097-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenläger wurden untersucht, es werden jeweils 3 Abstriche zusammen als eine Probe aufgearbeitet:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 Schafriess vom 21.07.2017 Vosges – Gilbert Habémont	1109-17	Abstrichtupfer, Copan, blutig mit Schmutzantragungen	Vortest auf Amylase, Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 Schafriess vom 28.07.2017 Vosges – Gilbert Habémont	1110-17	Abstrichtupfer, Copan, blutig mit Schmutzantragungen	s.o.
Spur 3 Riss vom 06.08.2017 Saint Agrou en Vercons	1111-17	Abstrichtupfer, Copan, blutig mit Schmutzantragungen	s.o.
Spur 4 Kotprobe vom 24.07.2017 Monte Capraro	1112-17	Kotprobe, getrocknet	Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 5 Kotprobe vom 24.07.2017 Lampazzo-Cicerana	1113-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 6 Kotprobe vom 26.07.2017 Lampazzo-Le Selere	1114-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 7 Kotprobe vom 29.07.2017 Monte Atesa	1115-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 8 Kotprobe vom 31.07.2017 Monte Turchio-Micicola	1116-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 9 Kotprobe vom 31.07.2017 Valle Piana- Lampazzo	1117-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 10 Kotprobe vom 30.07.2017 Forcella-Javuttero	1118-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 11 Kotprobe vom 30.07.2017 Monte Forcella	1119-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 12 Kotprobe vom 31.07.2017 Valle Fredda	1120-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.
Spur 13 Kotprobe vom 31.07.2017 Valle Fredda	1121-17	Kotprobe, getrocknet	s.o.

Pro Spur wurden drei Abstriche gemeinsam bzw. 400 mg der Kotproben aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. –daten (VD)

- nicht untersucht

SU0097-17

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1109-17	schwach positiv
1110-17	positiv
1111-17	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1109-17 (Spur 1)	8 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 106 FHC2010: 225 PEZ5: (88)/96 PEZ20: 176 FHC2079: 267/275 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder wenige autosomale Genorte reproduzierbar dargestellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „96“ im System PEZ5 wurde bisher ausschließlich bei Wölfen der russischen Population nachgewiesen. Das Allel „88“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1110-17 (Spur2)	8 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 106 FHC2010: 241 PEZ5: 88 PEZ20: 176 PEZ3: 111 PEZ6: 170 FHC2079: 267 SRY-Test: positiv	FCI-7- Vorstehhunde (25±3,75 %) z.B. Deutsch- Drahthaar /Böhmisch Raubart Wolf (10±0,5 %) gepoolte Population	Hund oder Hundemischung. Das Allel „88“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1111-17 (Spur3)	7 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: (106) PEZ5: 88 PEZ20: 176 PEZ3: 117 FHC2079: 267/275 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Genorte reproduzierbar dargestellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „88“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.

SU0097-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1112-17 (Spur 4)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ1: 125/135 PEZ5: 80/(96) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1113-17 (Spur 5)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1114-17 (Spur 6)	Kein Ergebnis SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	s.o.
1115-17 (Spur 7)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ5: 80/100 PEZ3: 96 SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1116-17 (Spur 8)	10 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 105/113 PEZ5: (80) PEZ3: 111/118 PEZ6: 171/186 FHC2079:267/271 SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar dargestellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1117-17 (Spur 9)	Kein Ergebnis SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1118-17 (Spur 10)	5 Merkmale in 4 von 11 Systemen: PEZ1: 105 PEZ5: 80/101 PEZ20: 169 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1119-17 (Spur 11)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: FHC2079: (167/275) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1120-17 (Spur 12)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1121-17 (Spur 13)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	s.o.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom)

SU0097-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus den Spuren 1 -4 (1109-17 bis 1112-17) sowie den Spuren 6-11 (1114-17 bis 1119-17) konnten genetische Teilprofile erstellt werden. Aus den Proben 1112-17 (Spur 5) sowie den Spuren 12 (1120-17) und 13 (1121-17) ließ sich kein genetisches Profil erstellen. Der Amylasevortest für die drei Abstrichproben (1109-17 bis 1111-17) verlief positiv bzw. schwach positiv.

Ad II/III: Die Teilprofile aus Spur 1 (1109-17) und Spur 3 (1111-17) ermöglichen keine Assoziationsanalyse, da hier zu wenig Markersysteme reproduzierbar dargestellt werden konnten. In beiden Proben lässt sich das Allel „88“ in PEZ 5 darstellen, welches bisher noch bei keinem Canidae (n>1000) in unserer Datenbank zeigte. Die Spur 1 (1109-17) zeigt hier außerdem das Allel „96“, welches bisher ausschließlich bei Wölfen der russischen Population und bei keinem anderem Canidae (n>700, >100 Hunderassen) nachgewiesen wurde. Der SRY-Test verläuft ebenfalls bei beiden Spuren positiv, was auf ein männliches Tier hinweist.

Das Teilprofil aus Spur 2 (1110-17) zeigt die höchste genetische Übereinstimmung mit der Gruppe FCI-7-Vorstehhunde (25±3,75 %, z.B. Deutsch-Drahthaar /Böhmisch Raubart) sowie dem Wolf (10±0,5 %, gepoolte Population). Es handelt sich daher am Ehesten um einen Hund oder Hundemischling. Allerdings kann hier die Rasse nicht genauer eingegrenzt werden, weshalb auch denkbar wäre, dass es sich um ein Tier einer Rasse handelt, die nicht in unserer Datenbank aus >100 Rassen vorliegt. Auch hier zeigt sich das Allel „88“ in PEZ 5 und der SRY-Test ist positiv.

Bei dieser Beurteilung muss bemerkt werden, dass es sich hier um ein Merkmalsmuster aus einer sogenannten Minimalspur handelt, in der sowohl DNA-Qualität als auch –Quantität nicht optimal sind. Dies kann zu Phänomenen wie z.B. dem allelic drop out oder drop in führen. Entsprechend könnten diese zu geringen Veränderungen in der Beurteilung führen.

Die Teilprofile aus Spur 4 (1112-17) und Spur 10 (1118-17) ermöglichen keine Assoziationsanalyse, da hier weniger als 5 autosomale Merkmalsysteme darstellbar sind. Beide Spuren zeigen das Allel „80“ in PEZ5, welches bisher noch bei keinem anderen Canidae (n>1000) in unserer Datenbank nachweisbar war. Beide Spuren zeigen einen positiven SRY-Test, was auf ein männliches Tier hinweist.

Die Teilprofile aus Spur 7 (1115-17) und Spur 8 (1116-17) erlauben ebenfalls keine Assoziationsanalyse, da hier weniger als 5 autosomale Merkmalsysteme darstellbar sind.

SU0097-17

Beide Spuren zeigen ebenfalls das Allel „80“ in PEZ5, welches bisher noch bei keinem anderen Canidae (n>1000) in unserer Datenbank nachweisbar war und einen positiven SRY-Test, was auf ein männliches Tier hinweist.

Aus der Spur 6 (1114-17), Spur 9 (1117-17) und Spur 11 (1119-17) ließ sich lediglich das männlich spezifische SRY-Merkmal nachweisen. Autosomale Systeme waren hier nicht nachweisbar.

Die Spuren 5 (1113-17), 12 (1120-17) sowie 13 (1121-17) führten zu keinem Ergebnis, hier konnten weder autosomale, noch Y-spezifische Merkmale detektiert werden.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10)
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

SU0097-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1112-17 (Spur 4)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ1: 125/135 PEZ5: 80/(96) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1113-17 (Spur 5)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1114-17 (Spur 6)	Kein Ergebnis SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	s.o.
1115-17 (Spur 7)	4 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ5: 80/100 PEZ3: 96 SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1116-17 (Spur 8)	10 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 105/113 PEZ5: (80) PEZ3: 111/118 PEZ6: 171/186 FHC2079:267/271 SRY-Test: (positiv)	nicht möglich	Es konnten lediglich 5 oder weniger autosomale Merkmale reproduzierbar dargestellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1117-17 (Spur 9)	Kein Ergebnis SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1118-17 (Spur 10)	5 Merkmale in 4 von 11 Systemen: PEZ1: 105 PEZ5: 80/101 PEZ20: 169 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich. Das Allel „80“ im System PEZ5 wurde bisher bei keinem bekannten Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen.
1119-17 (Spur 11)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: FHC2079: (167/275) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1120-17 (Spur 12)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	Es konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.
1121-17 (Spur 13)	kein Ergebnis SRY-test: negativ	nicht möglich	s.o.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom)

SU0097-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus den Spuren 1 -4 (1109-17 bis 1112-17) sowie den Spuren 6-11 (1114-17 bis 1119-17) konnten genetische Teilprofile erstellt werden. Aus den Proben 1112-17 (Spur 5) sowie den Spuren 12 (1120-17) und 13 (1121-17) ließ sich kein genetisches Profil erstellen. Der Amylasevortest für die drei Abstrichproben (1109-17 bis 1111-17) verlief positiv bzw. schwach positiv.

Ad II/III: Die Teilprofile aus Spur 1 (1109-17) und Spur 3 (1111-17) ermöglichen keine Assoziationsanalyse, da hier zu wenig Markersysteme reproduzierbar dargestellt werden konnten. In beiden Proben lässt sich das Allel „88“ in PEZ 5 darstellen, welches bisher noch bei keinem Canidae (n>1000) in unserer Datenbank zeigte. Die Spur 1 (1109-17) zeigt hier außerdem das Allel „96“, welches bisher ausschließlich bei Wölfen der russischen Population und bei keinem anderem Canidae (n>700, >100 Hunderassen) nachgewiesen wurde. Der SRY-Test verläuft ebenfalls bei beiden Spuren positiv, was auf ein männliches Tier hinweist.

Das Teilprofil aus Spur 2 (1110-17) zeigt die höchste genetische Übereinstimmung mit der Gruppe FCI-7-Vorstehhunde (25±3,75 %, z.B. Deutsch-Drahthaar /Böhmisch Raubart) sowie dem Wolf (10±0,5 %, gepoolte Population). Es handelt sich daher am Ehesten um einen Hund oder Hundemischling. Allerdings kann hier die Rasse nicht genauer eingegrenzt werden, weshalb auch denkbar wäre, dass es sich um ein Tier einer Rasse handelt, die nicht in unserer Datenbank aus >100 Rassen vorliegt. Auch hier zeigt sich das Allel „88“ in PEZ 5 und der SRY-Test ist positiv.

Bei dieser Beurteilung muss bemerkt werden, dass es sich hier um ein Merkmalsmuster aus einer sogenannten Minimalspur handelt, in der sowohl DNA-Qualität als auch –Quantität nicht optimal sind. Dies kann zu Phänomenen wie z.B. dem allelic drop out oder drop in führen. Entsprechend könnten diese zu geringen Veränderungen in der Beurteilung führen.

Die Teilprofile aus Spur 4 (1112-17) und Spur 10 (1118-17) ermöglichen keine Assoziationsanalyse, da hier weniger als 5 autosomale Merkmalsysteme darstellbar sind. Beide Spuren zeigen das Allel „80“ in PEZ5, welches bisher noch bei keinem anderen Canidae (n>1000) in unserer Datenbank nachweisbar war. Beide Spuren zeigen einen positiven SRY-Test, was auf ein männliches Tier hinweist.

Die Teilprofile aus Spur 7 (1115-17) und Spur 8 (1116-17) erlauben ebenfalls keine Assoziationsanalyse, da hier weniger als 5 autosomale Merkmalsysteme darstellbar sind.

SU0097-17

Beide Spuren zeigen ebenfalls das Allel „80“ in PEZ5, welches bisher noch bei keinem anderen Canidae (n>1000) in unserer Datenbank nachweisbar war und einen positiven SRY-Test, was auf ein männliches Tier hinweist.

Aus der Spur 6 (1114-17), Spur 9 (1117-17) und Spur 11 (1119-17) ließ sich lediglich das männlich spezifische SRY-Merkmal nachweisen. Autosomale Systeme waren hier nicht nachweisbar.

Die Spuren 5 (1113-17), 12 (1120-17) sowie 13 (1121-17) führten zu keinem Ergebnis, hier konnten weder autosomale, noch Y-spezifische Merkmale detektiert werden.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet:

- Extraktion der DNA mit einem Kit der Firma Strattec. Dabei werden generell –wenn vorhanden – Vergleichsmaterialien unabhängig von Spurenproben aufgearbeitet (siehe 7)
- Quantifizierung der Gesamt-DNA in der Probe mit dem Nanodrop (Thermo Scientific) (siehe 13)
- Automatische Fragmentanalyse mit der Multicolour Fluorescent-Dye Technology der Firma Applied Biosystems unter Einsatz eines AbiPrism3130 bzw. 3130 XLGenetic Analyzers (siehe 10)
- Speichelnachweis mit dem Amylasetest von Seratec.

6.2 Theoretischer Hintergrund zu den verschiedenen Methoden mit Angabe der zugehörigen Arbeitsanweisungen

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

Bruno Lecomte

**ForGen - Forensische Genetik
und Rechtsmedizin am Institut
für Hämatopathologie GmbH**
Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fangdieckstr. 75a, 22547 Hamburg

Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
Mail: info@forensik-nh.de
URL: <http://www.forensik-nh.de>

Hamburg, den 08.09.2017

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0101-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	21.08.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	21.08.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

28.08.2017	bis	08.09.2017
------------	-----	------------

SU0101-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht, es werden jeweils 3 Abstriche zusammen als eine Probe aufgearbeitet:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1 03/07/2017/1	1205-17	5 Abstrichtupfer, blutig, Copan getrocknet	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren aus drei Abstrichen und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 11/08/2017/1	1206-17	s.o.	s.o.
Spur 3 190817 A	1207-17	Es handelt sich um ein Stück Fell, offensichtlich Schaf. Dieses wird großflächig und an den Rändern nach der „Double Swab Methode“ mit DNA freien Abstrichen, delta Lab abgerieben.	s.o. Extraktion von zwei Abstrichen

Hintergrundinformation zu den untersuchten Abstrichen:



Abb. 1: Spur 1, lfd. Nr. 1205/17.



Abb. 2.: Spur 2, lfd. Nr. 1206/17.

SU0101-17



Abb. 3: Spur 3, lfd. Nr. 1207/17.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1205-17	negativ
1206-17	schwach positiv
1207-17	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1205-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnten keine Merkmale dargestellt werden.
1206-17 (Spur 2)	11 Merkmale in 8 von 11 Systemen (7 STRs): PEZ1: 109 FHC2054: 147/151 FHC2010: 224/233 PEZ5: (96) PEZ20: k.E. PEZ12: k.E. PEZ3: k.E. PEZ6: (212) PEZ8: 224/(233) FHC2079: 267/271 SRY: positiv	nicht möglich	Es konnten nur 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden, daher ist eine Assoziationsanalyse nicht möglich.
1207-17 (Spur 3)	6 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 117 FHC2054: (147) FHC2010: k.E	nicht möglich	Es konnten nicht genügend Merkmale für eine Assoziationsanalyse dargestellt werden.

SU0101-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
	PEZ5: (96) PEZ20: k.E. PEZ12: k.E. PEZ3: 99 PEZ6: (215) PEZ8: (223) FHC2079: k.E. SRY-Test: negativ		

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer; [D]-Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1** ließ sich kein genetisches Profil erstellen, auch war hier keine Amylase nachweisbar. Schwach positiv hingegen verlief der Amylase-Test bei den **Spuren 2 und 3**. Hier ergaben sich zusätzlich caniden-spezifisches Merkmale.

Ad II+III: Aus der **Spur 1 (1205-17)** konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, s.o..

Aus **Spur 2 (1206-17)** ließ sich ein Teilprofil darstellen. Es konnten nur 5 autosomale Merkmale reproduzierbar nachgewiesen werden, weshalb eine Assoziationsanalyse nicht möglich bzw. verlässlich ist. Das SRY-Signal deutet auf ein männliches Tier hin. Das schwache Merkmal „96“ in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen der russischen Population und keinen anderen Canidae (n>1000) in unserer Datenbank nachgewiesen.

Auch aus der **Spur 3 (1207-17)** ließen sich lediglich wenige, spezifische Merkmale nachweisen, so dass hier ebenfalls keine weitere Zuordnung durchgeführt werden kann. Diese Merkmale sind nicht dem Muster aus der anderen Spur zuzuordnen.

Da diese Profile aus Minimal Spuren mit schlechter DNA-Qualität und –Quantität erarbeitet wurde, kann es zu Änderungen am eigentlichen STR-Muster kommen (sog. Allelic drop outs oder drop ins).



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

Ginette Marchive

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0104-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	24.08.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	24.08.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spureuträgern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

28.08.2017	bis	08.09.2017
------------	-----	------------

SU0104-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht, es werden jeweils 3 Abstriche zusammen als eine Probe aufgearbeitet:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1209-17	Abstrichtupfer, blutig, Copan getrocknet	Vortest auf Amylase. Extraktion von schwierigen Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2 220817 A	1210-17	s.o.	s.o.
Spur 3 190817 A	1211-17	s.o.	s.o.
Spur 4 210817 A	1212-17	s.o.	s.o.
Spur 5 100817A	1229-17	s.o.	s.o.

Hintergrundinformation zu den untersuchten Abstrichen:



Spur 1



Spur 2



Spur 3



Spur 4



Spur 5

SU0104-17

Pro Spur wurden (wenn möglich) drei Abstriche gemeinsam aufgearbeitet.

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

- nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1209-17	negativ
1210-17	negativ
1211-17	negativ
1212-17	negativ
1229/17	positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1209-17 (Spur 1)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnten keine Merkmale dargestellt werden.
1210-17 (Spur 2)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnten keine Merkmale dargestellt werden.
1211-17 (Spur 3)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnten keine Merkmale dargestellt werden.
1212-17 (Spur 4)	kein Ergebnis	nicht möglich	Es konnten keine Merkmale dargestellt werden.
1229-17 (Spur 5)	13 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 112/121 FHC2054: k.E. FHC2010: k.E. PEZ5: (96) PEZ20: 173/177 PEZ12: (261)/265 PEZ3: k.E. PEZ6: 163/168 PEZ8: 230/237 FHC2079: 267/275 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehunde (50±7,5 %, z.B. Schäferhund) Wolf (35±5,25 %, russische Population)	Hund oder Wolfmischung mit erhöhtem genetischen Wolfanteil >30 %. Das Allel 96 in PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftreten in einem ABI3130 Genetic Analyzer; (k)=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0104-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus den Spuren 1 bis 4 ließ sich kein genetisches Profil erstellen, auch war hier keine Amylase nachweisbar. Positiv hingegen verlief der Amylase-Test bei Spur 5 (1229-17). Hier ergab sich ein sicheres caniden-spezifisches Merkmalsmuster.

Ad II+III: Aus der Spur 1-4 konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden.

Für Spur 5 (1229-17) zeigen sich genetische Übereinstimmungen mit dem FCI-1-Hütehunden (50±7,5 %, z.B. Schäferhund) sowie dem Wolf (35±5,25 %, russische Population). Der negative SRY-Test in der Probe weist auf ein weibliches Tier hin, kann jedoch auch aufgrund der DNA Qualität/Quantität negativ ausfallen. Da dieses Profil aus einer Minimalspur mit schlechter DNA-Qualität und -Quantität erarbeitet wurde, kann es zu Änderungen am eigentlichen STR-Muster kommen (sog. Allelic drop outs oder drop ins). Diese könnten zu geringfügigen Änderungen in der Zuordnung führen.

Damit lässt sich zusammenfassen, dass hier sicher Signale eines Canidae nachgewiesen wurden, welches eher weiblichen Geschlechts ist. Die prozentuale Ähnlichkeit zum wolfstypischen Muster kann in der festgestellten Höhe auch bei bestimmten Hunderassen erreicht werden, so dass hier keine sichere, weitere Zuordnung bzw. Unterscheidung (Hund / Hund-Wolfsmischling) durchgeführt werden kann. Das schwach-ausgeprägte 96er-Merkmal wurde bisher allerdings nicht von uns in Haushunden nachgewiesen.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert und in einem laufenden

Betreff: Molekulargenetische Analyse von Kotproben (SU0110-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	31.08.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	31.08.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0110-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

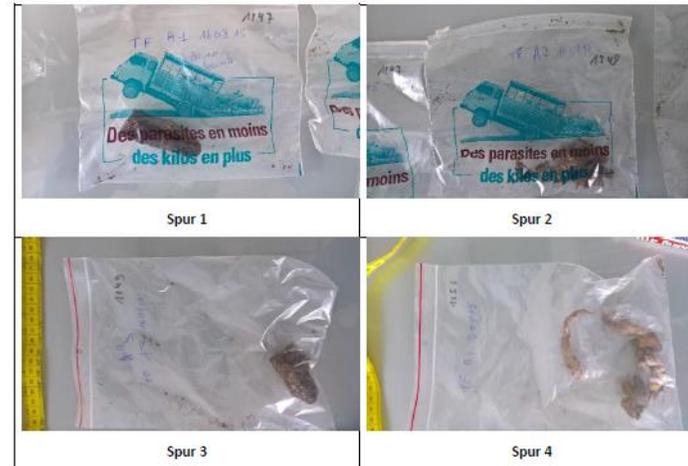
04.09.2017	bis	12.09.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1247-17	Kotprobe, getrocknet	Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1248-17	Kotprobe, getrocknet, hoher Anteil Insekten	s.o.
Spur 3	1249-17	Kotprobe, getrocknet, hoher Anteil Insekten	s.o.
Spur 4	1250-17	Kotprobe, getrocknet, hoher Anteil Nagerknochen	s.o.

Überblick zu den untersuchten Spuren/Proben/Spurentäger:



SU0110-17

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Nicht durchgeführt.

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1247-17 (Spur 1)	4 Merkmale in 2 von 11 Systemen: FHC2054: 152/(172) FHC2010: (217)/234 SRY-Test: k.E.	nicht möglich	Eine Assoziationsanalyse ist nicht möglich, da weniger als 5 autosomale Merkmale reproduzierbar detektiert werden konnten.
1248-17 Spur 2	kein Ergebnis	nicht möglich	s.o.
1249-17 Spur 3	kein Ergebnis	nicht möglich	s.o.
1250-17 Spur 4	kein Ergebnis	nicht möglich	s.o.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); (k) = Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signale für sehr geringe STR-Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Beantwortung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I:

Aus Spur 1 (1247-17) ließ sich ein canides Teilprofil darstellen. Aus den Proben Spur 2, 3 und 4 ließen sich keine genetischen Profile erstellen.

Dabei zeigen die Proben 2 (1248-17) und 3 (1249-17) hohe Anteile Insektenreste, was auf einen Insektenfresser (z.B. Dachs) als Verursacher der Spuren hinweist.

Die Probe 4 (1250-17) zeigt einen hohen Anteil an Nagerknochen, was auf die Ausscheidungen eines Raubvogels (z.B. Eule) oder andere hinweisen könnte, die hauptsächlich Nager fressen.

Ad II+III:

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0111-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	31.08.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	31.08.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0111-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

04.09.2017	bis	21.09.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1275-17	5 Abstriche, Copan, Schmutzantragungen	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1276-17	Küchentücher, blutig, dreckig	s.o.
Spur 3	1277-17	Taschentuch, blutig	s.o.
Spur 4	1278-17	Taschentuch, blutig, dreckig	s.o.
Spur 5	1279-17	Gewebestück, getrocknet, mit Fell, ein Stück von etwa 1 x 1 cm wird herausgeschnitten, 24 h inkubiert und aufgearbeitet	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung

Wenn möglich, werden drei Abstriche/Spur oder etwa 1 cm² Stücke aufgearbeitet.



SU0111-17



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1275-17	positiv
1276-17	schwach positiv
1277-17	schwach positiv
1278-17	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1275-17 (Spur 1)	9 Merkmale in 7 von 11 Systemen: PEZ1: 117 FHC2010: 246/256 PEZ12: (306) PEZ3: 101 PEZ8: 248 FHC2079: (284/290) SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es wurden 5 oder weniger Genorte reproduzierbar dargestellt. Daher ist keine weitere Eingrenzung möglich.
1276-17 Spur 2	12 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 103/(132) FHC2054: (172) FHC2010: 244 PEZ5: 111 PEZ3: 101/(119) PEZ6: (197) PEZ8: 240/244/248 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es handelt sich um ein Mischprofil von mindestens 2 Individuen, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.

SU0111-17

1277-17 Spur 3	12 Merkmale in 8 von 11 Systemen: FHC2054: 172 FHC2010: 248 PEZ12: 282/291 PEZ3: 101/(119) PEZ6: 197/203 PEZ8: 248 FHC2079: (290)/297 SRY-Test: positiv	FCI-2-Molloser (40± 6 %, z.B. Owtscharka) FCI-1-Hütehunde (20 ± 3 %, z.B. Deutscher Schäferhund) Wolf (15 %± 2,25 %)	Möglich Mischling der aufgeführten Rassen, oder unbekannte Rasse. Kein erhöhter Wolfsanteil nachweisbar.
1278-17 Spur 4	9 Merkmale in 7 von 11 Systemen: FHC2054: 170 FHC2010: 244/248 PEZ12: 290 PEZ3: 101 PEZ6: 197 PEZ8: 226/248 SRY-Test: positiv	FCI-2-Molloser (35± 5,25 %, z.B. Owtscharka) FCI-1-Hütehunde (25±3,75 %, z.B. Deutscher Schäferhund) Wolf (<15%)	s.o.
1279-17 Spur 5	17 Merkmale in 10 von 11 Systemen: PEZ1: 101/(135) FHC2054: 177/180 FHC2010: 219 PEZ5: 107/110 PEZ0: 174/201 PEZ12: 256/262 PEZ3: (112)/123 PEZ6: 170/(201) PEZ8: 234/256 FHC2079: (269/280) SRY-Test-positiv	Wolf (50±2,5 %, russische Population) FCI-2-Molloser (50±2,5 %, z.B. Owtscharka)	Wolf oder Wolfsmischung, der aufgeführten Rassen, bzw. eine in unserer Datenbank nicht vorkommende Rasse. Es zeigt sich ein erhöhter Wolfsanteil von >35 %.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern);
 ()=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus allen **Proben** ließen sich spezifische Merkmale darstellen, der Amylasevortest verlief bei den beiden Abstrichproben (schwach) positiv.

Ad II-III: Aus der **Spur 1 (1275-17)** konnte keine Assoziationsanalyse durchgeführt werden; die Probe scheint von einem männlichen Tier zu stammen.

Spur 2 (1276-17) zeigt ein **Mischprofil von mindestens zwei verschiedenen Tieren**, von denen mindestens eines wohl männlich ist. Dies ist daran zu erkennen, dass mehr als 2 Merkmale

SU0111-17

pro Genort nachweisbar sind und dass teilweise die Ausprägungen sehr unterschiedlich sind, was auf verschiedene DNA-Proben unterschiedlicher Menge hinweisen kann.

Die **Spur 3 (1277-17)** stammt ebenfalls eher von einem männlichen Tier. Hier weist die Assoziationsanalyse eher auf einen **Hund** der in der Tabelle aufgeführten Rassen hin.

Spur 4 (1278-17): Auch für diese Spur gilt, dass sie eher von einem (männlichen) Hund stammt.

Aus **Spur 5 (1279-17)** ließ sich nahezu ein genetisches Vollprofil erstellen, es wurden Signale in 9 von 10 STRs nachgewiesen. Die genetische Assoziationsanalyse lieferte das Ergebnis Wolf (50±2,5 %, russische Population) sowie FCI-2-Molloser (50±2,5 %, z.B. Owtscharka). Der positive SRY-Test weist zudem auf ein männliches Tier hin. Demnach kann es sich hier sehr wohl um einen Mischling von Wolf und Hund oder aber eine unbekannte, in unserer Datenbank nicht vorliegende Rasse handeln.

Zu allen Analysen muss festgestellt werden, dass diese aus DNA mangelnder Qualität und Quantität (Rissproben) durchgeführt wurden. Hier können Allelverluste und -gewinne (allelic drop out, drop in) stattfinden, die zu Änderungen im genetischen Muster führen könnten.

Es ist daher auch möglich, dass es sich um uns unbekanntes Tiere/Hunderasse oder aber um Wolfs-Mischlinge handelt.

Der Vergleich der Ergebnisse aus den unterschiedlichen Proben zeigt zudem eine große Ähnlichkeit der genetischen Profile aus den Spuren 1 bis 4 untereinander.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
 Abstammungsgutachten e.V.


 Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschstufen und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0114-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	06.09.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	06.09.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0114-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

06.09.2017	bis	22.09.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1272-17	Fellfragment, getrocknet	Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung. Es wird ein Teil herausgetrennt, 24 h inkubiert zum Aufschluss und aufgearbeitet.
Spur 2	1273-17	1 Abstrich, Copan, Schmutzantragungen, blutig	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung s.o.
Spur 3	1274-17	2 Abstriche, Copan und 2 Abstriche Sarstedt, blutig sowie ein Rippenfragment	Bemerkung: Von der Rippe wurden zusätzlich mittels Double-Swab-Methode zwei Abstriche entnommen und zusammen mit den beiden übrigen Abstrichen aufgearbeitet.



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

SU0114-17

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1273-17	schwach positiv
1274-17	schwach positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1272-17 (Spur 1)	13 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 104/121 FHC2054: 150 FHC2010: 222/236 PEZ20: 173/174 PEZ3: 136 PEZ6: 169 PEZ8: 259 FHC2079: (256)/ 272 SRY-Test: positiv	Wolf (45±2,25 %, russische Population) Wolf (40±2 %, lettische Population)	Wolf oder Wolfmischung oder unbekannte Art
1273-17 Spur 2	5 Merkmale in 5 von 11 Systemen: PEZ1: (96) PEZ5: (112) PEZ3: 101 PEZ6: 181 SRY-Test: positiv	nicht möglich	Es konnten nicht genügend STR Systeme reproduzierbar nachgewiesen werden. Eine Assoziationsanalyse ist entsprechend nicht möglich.
1274-17 Spur 3	6 Merkmale in 6 von 11 Systemen: FHC2010: (230) PEZ5: 112 PEZ3: 101 PEZ8: 248 FHC2079: 297 SRY-Test: positiv	nicht möglich	s.o.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyser sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); (h)Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaldichte sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus allen Proben ließen sich spezifische genetische Merkmale darstellen, der Amylasevortest verlief bei den Abstrichproben und dem Abstrich des Rippenfragments schwach positiv.

SU0114-17

Ad II+III: Aus der **Spur 1 (1272-17)** ließ sich ein genetisches Teilprofil erstellen. Die durchgeführte genetische Assoziationsanalyse zeigt zwei höhere Ähnlichkeiten zum Wolf zweier Populationen aus unserer Datenbank. Weitere Ähnlichkeiten gibt es nur in sehr geringen Ausmaßen, die in den Bereich der gemeinsamen Schnittmenge fallen (<20 %).

Der positive SRY-Test weist zudem auf ein männliches Tier hin. Angemerkt werden muss, dass sich nur ein sehr schwaches Muster ergeben hat, so dass sich in der Zuordnung durchaus Änderungen ergeben könnten, wenn ein vollständiges Muster vorliegen würde.

Aus den **Spuren 2 (1273-17)** und **3 (1274-17)** ließen sich schwache, spezifische Teilprofile erstellen. Es konnten nur wenige STR-Systeme detektiert werden, weshalb eine Assoziationsanalyse nicht möglich ist. Der (schwach) positive SRY-Test weist auf ein männliches Tier hin. Ob die Spuren 2 und 3 von verschiedenen Tieren stammen, kann nicht gesagt werden.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0124-17a)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	22.09.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	22.09.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0124-17 a

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

22.09.2017	bis	07.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1295-17	Haare, mit getrockneten Geweberesten, hellbraun-rötlich mit schwarzen Spitzen, es wird ein Stück des festeren Anteils herausgetrennt und zur Aufarbeitung eingesetzt	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1297-17 1298-17 1299-17	Hautfragment mit Haaren; graubraun mit schwarzen Spitzen hier werden drei einzelne Haare mit Wurzeln herausgesucht und jeweils für die Aufarbeitung vorbereitet	s.o. Die drei Haare werden einzeln aufgearbeitet und als gemeinsame Spur ausgewertet.

Zusammen mit den vorliegenden Spuren wurde ein Zahn übersandt (lfd. Nr. 1296/17). Dieser wird nachträglich untersucht und die Ergebnisse in einem weiteren Gutachten (124-17 b) dargestellt.



Spur 1, links (schwarz) - Spur 2, rechts (gelb)

SU0124-17 a



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

Nicht untersucht.

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Nicht durchgeführt.

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1295-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	nicht möglich	Zu wenig STR-Merkmale reproduzierbar nachweisbar. Assoziationsanalyse nicht möglich.
1297-17 1298-17 1299-17 Spur 2	Vollprofil: PEZ1: 118/127 FHC2054: (144)/154 FHC2010: 223/235 PEZ5: 100	FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Deutscher Schäferhund)	Hund der aufgeführten Kategorie bzw. Mischling

SU0124-17 a

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
	PEZ20: 170/180 PEZ12: (274) PEZ3: 110 PEZ6: 186 PEZ8: (234/241) FHC2079: 268	Wolf (25±1,25 %, lettische Population)	

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern);
 (=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in
 Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom)

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1 (1295-17)** ließ sich kein genetisches Profil erstellen, aus **Spur 2 (1297-17, 1298-17 und 1299-17)** ergibt sich ein Vollprofil.

Ad II-III: Zur **Spur 1** kann entsprechend keine weitere Aussage gemacht werden. Dieses negative Ergebnis kann auf inhibierende Substanzen innerhalb der untersuchten Spur hinweisen, die eine Analyse der DNA-Moleküle verhindern; oder aber auf DNA-degradierende Substanzen, die die DNA in der Probe zerstört haben.

Aus **Spur 2 (1297-17, 1298-17 und 1299-17)** ließ sich ein genetisches Vollprofil erstellen. Die Assoziationsanalyse weist auf einen Hund oder Mischling der Kategorie FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Deutscher Schäferhund) mit einem Wolfsanteil von (25±1,25 %, lettische Population) hin. Bei dieser Spur 2 zeigt sich ein schwaches SRY-Signal, was auf ein männliches Tier schließen lässt.

Da es sich bei den ausgesuchten Haaren um eher schwieriges Ausgangsmaterial handelt, könnten einzelne Signale ausfallen (sog. Allelic drop out), so dass sich möglicherweise geringe Änderungen zum eigentlichen Ausgangsmuster der Tiere ergeben könnten. Auch können Rassen, die nicht in unserer Datenbank vorliegen, mit der durchgeführten Methode nicht erkannt werden.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
 Fachabstammungsgutachterin DGAB
 Spurensachverständige
 Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
 Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
 Forensischer Genetiker

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0127-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	21.09.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	21.09.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0127-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

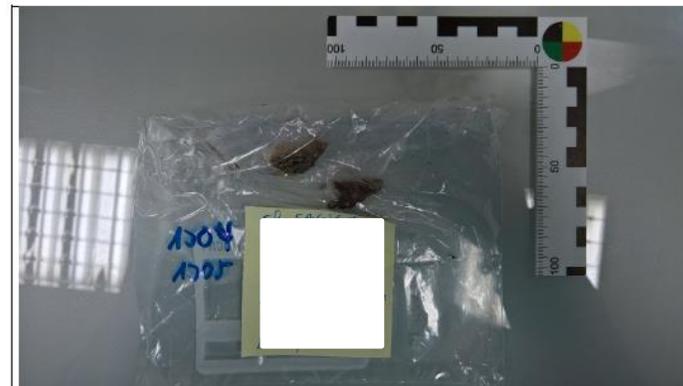
Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

21.09.2017	bis	09.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

Bezeichnung	Id. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1304-17	Knochenstück, mit Geweberesten; ein kleines Teilchen des Knochens wird abgetrennt und im Puffer zwecks Auslösung der DNA über Nacht inkubiert	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1305-17	Hautfragment mit Haaren; rötlich braun, hier wird ein Stück Haarwurzelnah abgetrennt und zwecks Aufarbeitung inkubiert.	s.o. Um möglichst keine DNA aus der Probe vor der Extraktion heraus zu lösen, wurde auf eine extensive Waschung der Proben verzichtet.



Spur 1 (1304-17) und Spur 2 (1305-17)

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

SU0127-17

Nicht durchgeführt-

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

Id. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1304-17 (Spur 1)	Vollprofil: PEZ1: 117/121 FHC2054: 151 FHC2010: 230 PEZ5: 102 PEZ20: 171/179 PEZ12: 262/298 PEZ3: 114 PEZ6: 180/194 PEZ8: 227/234 FHC2079: 272/276 SRY-Test: positiv	FCI-1-Hütehunde (90±0 %, z.B. Schäferhund) Wolf (7±0 %, gepoolt)	Hund oder Hundemischung, der links aufgeführten Kategorie. Kein erhöhter Wolfsanteil nachweisbar.
1305-17 (Spur 2)	Vollprofil: PEZ1: 118/126 FHC2054: 146 FHC2010: 218/226 PEZ5: 92/102 PEZ20: (176) PEZ12: (263)/269 PEZ3: 137/140 PEZ6: 177 PEZ8: 212/229 FHC2079: 261/273 SRY-Test: positiv	FCI 1 – Hütehund (60±3 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Wolf (55±2,75 %, lettische Population)	Wolf oder Wolfmischung. Das Allel „92“ wurde bisher nur bei Wölfen in der lettischen Population nachgewiesen.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftreten in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); (±)Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus den Spuren 1 (1304-17) und 2 (1305-17) ließ sich jeweils ein Vollprofil erstellen.

Ad II-III: Aus Spur 1 (1304-17, Knochenfragment) ergab sich ein genetisches Vollprofil. Die Assoziationsanalyse weist auf einen Hund oder Mischling der Kategorie FCI-1-Hütehunde hin. Es ist kein erhöhter genetischer Wolfsanteil nachweisbar. Bei dieser Spur 1 zeigt sich ein deutliches SRY-Signal, was auf ein männliches Tier schließen lässt.

Aus Spur 2 (1305-17, Hautpartikel mit Haar) ließ sich ebenfalls ein genetisches Vollprofil erstellen. Die Assoziationsanalyse weist am ehesten auf einen Wolf oder Wolfmischung hin. Es zeigt sich eine genetische Übereinstimmung mit Hunden der Kategorie FCI 1 – Hütehunde sowie dem Wolf. Dabei wurde das Allel „92“ im Markersystem PEZ5 von uns bisher ausschließlich bei Wölfen der lettischen Population und keinem weiteren Canidae in der

SU0127-17

Datenbank (n>1000, aus >100 Rassen) nachgewiesen. Auch in dieser Spur 2 zeigt sich ein positiver SRY-Test, was entsprechend auch hier auf ein männliches Tier hinweist.

Da es sich in beiden Fällen um eher schwieriges Ausgangsmaterial handelt, könnten einzelne Signale ausfallen (sog. Allelic drop out), so dass sich möglicherweise geringe Änderungen zum eigentlichen Ausgangsmuster der Tiere ergeben könnten. Auch können Rassen, die nicht in unserer Datenbank vorliegen, mit der durchgeführten Methode nicht erkannt werden.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenanalyse eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschrritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Durch den Einsatz spezifischer, fluoreszenzmarkierter Primer können diese relativ kurzen DNA-Fragmente in einem Polymerase-Ketten-Verfahren (PCR) vervielfältigt und in einer automatischen Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion in z.B. einem ABIPrism3130 (Fa. Applied Biosystems) bestimmt werden.

Bruno Lecomte

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0130-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	27.09.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	27.09.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0130-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

27.09.2017	bis	09.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

Bezeichnung	Ifd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1311-17	2 Abstriche, Forensic Swab	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1312-17	Gewebeprobe, mit hellen und dunklen Haaren Es wird ein Stück des Gewebes (Haut) abgeschnitten und aufgearbeitet.	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 3	1313-17	2 Abstriche, Copan 1 Abstrich, Forensic swab	Siehe Spur 1
Spur 4	1314-17	3 Abstriche, Copan	s.o.



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

SU0130-17

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1311-17	negativ
1313-17	negativ
1314-17	negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

Ifd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1311-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1312-17 (Spur 2)	13 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 119 FHC2054: 143/151 FHC2010: 226 PEZ5: (92)/103 PEZ12: 269 PEZ3: 111 PEZ6: 177/181 PEZ8: 211/228 FHC2079: 273 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Schäferhund)	Hund oder Wolfmischling. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen
1313-17 (Spur 3)	3 Merkmale in 2 von 11 Systemen: PEZ5: 92/116 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da zu wenig STR-Systeme nachweisbar. Das Allel „92“ im System PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population nachgewiesen.
1314-17 (Spur 4)	Vollprofil: PEZ1: 97/134 FHC2054: 155/170 FHC2010: 234/249 PEZ5: 106/119 PEZ20: 176 PEZ12: 262/268/296 PEZ3: 109/129/137/146 PEZ6: 183/187 PEZ8: 212/232/252 FHC2079: 266/269 SRY-Test: (schwach positiv)	Nicht zu empfehlen	Mischprofil von mindestens zwei verschiedenen Tieren, möglich Hund, Wolf oder Mischling aus beiden. Keine wolfspezifischen Allele nachweisbar.

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (in Klammern).
[D]-Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaldichte sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0130-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1 (1311-17)** ließ sich kein genetischer Fingerabdruck erstellen. Aus der **Spur 2 (1312-17)** und **Spur 3 (1313-17)** konnte ein genetisches Teilprofil erstellt werden. Aus der **Spur 4 (1314-17)** ließ sich ein Vollprofil generieren.

Ad II+III: Bei **Spur 1 (1311-17)** und **Spur 3 (1313-17)** war eine genetische Assoziationsanalyse nicht möglich, da keine oder zu wenig STR-Merkmale nachweisbar waren. Das Allel „92“ im System PEZ bei **Spur 3** konnte bisher nur bei Wölfen der russischen Population und keinem anderem Canidae (n>1000) nachgewiesen werden. Der positive SRY-Test bei **Spur 3** weist außerdem auf ein männliches Tier hin.

Aus **Spur 2 (1312-17, Haar/Gewebe)** ließ sich ein genetisches Teilprofil erstellen. Die Assoziationsanalyse weist hier auf einen Hund oder Mischling der Kategorie FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Schäferhund) mit einem erhöhten genetischen Anteil Wolf hin. Bei dieser Spur ist kein sicheres Signal SRY nachweisbar, so dass es sich hier durchaus um die DNA eines weiblichen Tieres handeln könnte. Das spezifische Signal könnte aufgrund der schlechten DNA-Qualität auch ausgefallen sein (allelic drop out), so dass hier keine sichere Geschlechtsbestimmung durchgeführt werden kann. Es kann sich hier also sehr wohl um ein weibliches Tier handeln, wobei ein wolfsähnlicher Hund, der nicht in unserer Datenbank vorhanden ist, nicht ausgeschlossen werden kann. Die uns zur Verfügung stehenden Rassen (u.a. Wolfsspitze, Tschechischer Wolfshund) weisen sämtlich keine derart hohen Ähnlichkeiten zum wolfstypischen Muster auf.

Aus **Spur 4 (1314-17, Abstriche)** ließen sich in allen Genorten spezifische Merkmale nachweisen. Dabei zeigen sich häufig mehrere Allele, die auf eine Mischspur von mindestens zwei Tieren verursacht, hindeuten. Es können nicht alle Merkmale sicher einem einzigen Tier zugeordnet werden. Eine Assoziationsanalyse ist daher nicht empfehlenswert.

Die Allelkombinationen weisen allerdings sämtlich auf einen stark erhöhten Wolfsanteil hin. Entsprechend könnte hier geschlussfolgert werden, dass an den untersuchten Abstrichen mindestens zwei Tiere nachweisbar sind. Eine genaue Aussage (Hund und Wolf, Mischling und Hund, Mischling und Mischling) kann nicht gemacht werden. Da der Nachweis des Y-spezifischen Merkmals nur sehr schwach ausfällt, könnte dies darauf hinweisen, dass die

SU0130-17

Hauptspur von einem weiblichen Tier und die zusätzlichen Merkmale von einem Rüden verursacht worden sind.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Durch den Einsatz spezifischer, fluoreszenzmarkierter Primer können diese relativ kurzen DNA-Fragmente in einem Polymerase-Ketten-Verfahren (PCR) vervielfältigt und in einer automatischen Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion in z.B. einem AbiPrism3130 (Fa. Applied Biosystems) bestimmt werden.

(11) Hundespezifische Analysen (SAA_023, nicht aktuell akkreditiert):

In zwei verschiedenen kommerziell erhältlichen Multiplex-Kits können STR-Merkmale amplifiziert werden, die spezifisch für die Familie der Canidae sind. In diesem Gutachten wird der Stockmarks Canine for Dogs Kit von Thermo Fisher eingesetzt, mit dem 10 dieser Merkmale nachgewiesen werden können. Auch diese Merkmale kommen in unterschiedlichen Häufigkeiten

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0131-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	27.09.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	27.09.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurentägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0131-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

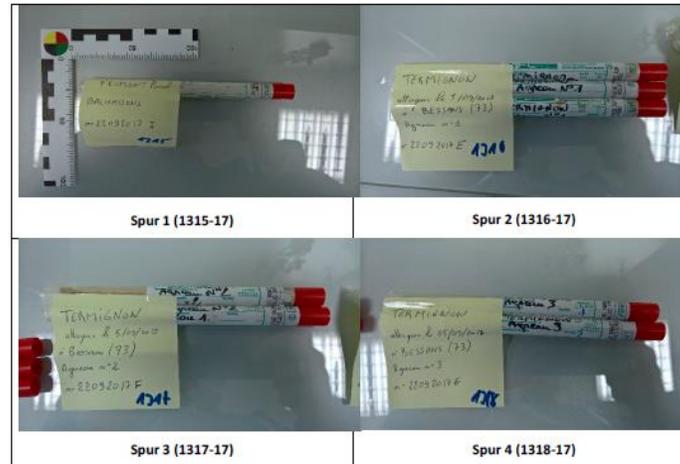
Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

27.09.2017	bis	10.10.2017
------------	-----	------------

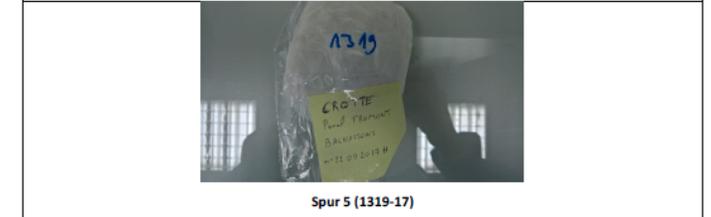
3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurentäger wurden untersucht:

Bezeichnung	Id. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1315-17	1 Abstrich, Copan	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1316-17	3 Abstriche, Copan	s.o.
Spur 3	1317-17	2 Abstriche, Copan	s.o.
Spur 4	1318-17	2 Abstriche, Copan	s.o.
Spur 5	1319-17	Kotprobe, getrocknet mit gelber Ohrmarke	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung



SU0131-17



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1315-17	Positiv
1316-17	Schwach positiv
1317-17	Negativ
1318-17	Negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

Id. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1315-17 (Spur 1)	11 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 96 FHC2054: 151/155 FHC2010: 222 PEZ5: (87)/106 PEZ20: (176) PEZ3: 110 PEZ6: 178/185 SRY-Test: schwach positiv	FCI-1-Hütehunde (55±8,25 %, z.B. Border Collie) Wolf (40±6 %, russische Population)	Hund oder Wolfmischling. Es zeigt sich ein erhöhter Wolfsanteil von > 30 %.
1316-17 (Spur 2)	3 Merkmale in 3 von 11 Systemen: PEZ3: 134 PEZ8: 256 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da zu wenig STR Merkmale nachweisbar.
1317-17 (Spur 3)	SRY-Test: schwach positiv	Nicht möglich	Nicht möglich
1318-17 (Spur 4)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1319-17 (Spur 5)	12 Merkmale in 9 von 11 Systemen: PEZ1: 95/117 FHC2054: 149 FHC2010: 234	FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Wolf	Hund oder Wolfmischling. Es zeigt sich ein erhöhter Wolfsanteil von > 30 % sowie das Allel „96“, welches bisher ausschließlich bei Wölfen der

SU0131-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
PEZ5: 96 PEZ3: 110/139 PEZ6: 168/183 PEZ8: (240) FHC2079: 268/277 SRY-Test: (schwach positiv)		(45±2,25 %, lettische Population)	lettischen Population nachgewiesen wurde.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaar) nach Aufreinigung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (in Klammern); (±)Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen

Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1 (1315-17)**, **Spur 2 (1316-17)** und **Spur 5 (1319-17)** konnte ein genetisches Teilprofil erstellt werden. Beide Abstrichproben (Spur 1 und Spur 2) zeigen einen positiven Vortest auf Amylase. Aus den **Spuren 3 (1317-17)** und **4 (1318-17)** ließ sich kein genetischer Fingerabdruck detektieren, der Vortest auf Amylase verlief hier entsprechend negativ.

Ad II+III: Das Teilprofil aus **Spur 1 (1315-17, Abstrich)** zeigt in der Assoziationsanalyse eine hohe genetische Übereinstimmung mit Hunden der Kategorie FCI-1-Hütehunde (55±8,25 %, z.B. Border Collie) sowie einen erhöhten genetischen Wolfsanteil (40±6 %, russische Population). Der schwach positive SRY-Test weist auf ein männliches Tier hin.

Aus **Spur 2 (1316-17, Abstriche)** ließen sich nur 3 STR-Merkmale reproduzierbar bestimmen. Eine Assoziationsanalyse ist hier leider nicht möglich. Das positive Ergebnis des SRY-Test könnte hier ebenfalls auf ein männliches Tier hinweisen.

Aus **Spur 3 (1317-17, Abstriche)** und **Spur 4 (1317-17, Abstriche)** ließ sich kein genetisches Profil erstellen; bzw. lediglich ein schwaches männlich-spezifisches Merkmal konnte dargestellt werden. Die Assoziationsanalyse ist daher in beiden Fällen leider nicht möglich.

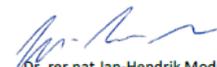
Die Analyse von **Spur 5 (1319-17, Kotprobe)** ergab ein genetisches Teilprofil. Die Assoziationsanalyse zeigt eine hohe genetische Übereinstimmung mit Hunden der Kategorie FCI-1-Hütehunde (55±2,75 %, z.B. Belgischer Schäferhund) sowie einen erhöhten genetischen Wolfsanteil (45±2,25 %, Population). Zusätzlich wurde hier das Allel „96“ im Markersystem PEZ5 nachgewiesen, welches bisher nur bei Wölfen aus der lettischen Population und bei keinem anderen Canidae (n>1000) in unserer Datenbank nachgewiesen wurde. Der negative SRY-Test weist auf ein weibliches Tier hin. Allerdings kann dieser Test aufgrund von schlechter DNA Qualität/Quantität auch falsch negativ ausfallen.

SU0131-17

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass die vorliegenden Ergebnisse einen Haushund als Verursacher ausschließen. Stattdessen könnte es hier durchaus um die DNA eines Wolfes oder eines Wolfmischlings handeln.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwarck
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Durch den Einsatz spezifischer, fluoreszenzmarkierter Primer können diese relativ kurzen DNA-Fragmente in einem Polymerase-Ketten-Verfahren (PCR) vervielfältigt und in einer automatischen Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion in z.B. einem ABI3130 (Fa. Applied Biosystems) bestimmt werden.

(11) Hundespezifische Analysen (SAA_023, nicht aktuell akkreditiert):

In zwei verschiedenen kommerziell erhältlichen Multiplex-Kits können STR-Merkmale amplifiziert werden, die spezifisch für die Familie der Canidae sind. In diesem Gutachten wird der Stockmarks Canine for Dogs Kit von Thermo Fisher eingesetzt, mit dem 10 dieser Merkmale nachgewiesen werden können. Auch diese Merkmale kommen in unterschiedlichen Häufigkeiten vor, so dass ebenfalls einfache Identitätsuntersuchungen und Abstammungsanalysen durchgeführt werden können. Die

Ginette Marchive

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0133-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	28.09.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	28.09.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenlägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

Bei dem zu Grunde liegenden Fall besteht die Möglichkeit, dass mehrere Tiere als Täter beteiligt waren. Daher sollen sämtliche, vorliegende Abstriche untersucht werden.

SU0133-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

28.09.2017	bis	11.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenläger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1321-17	1 Abstrich, Copan groß, blutig und schmutzig	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1322-17	s.o.	s.o.
Spur 3	1323-17	s.o.	s.o.
Spur 4	1324-17	s.o.	s.o.
Spur 5	1325-17	s.o.	s.o.
Spur 6	1326-17	s.o.	s.o.
Spur 7	1327-17	s.o.	s.o.
Spur 8	1328-17	s.o.	s.o.
Spur 9	1329-17a	s.o.	s.o.
Spur 10	1329-17b	s.o.	s.o.
Spur 11	1330-17	s.o.	s.o.



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

SU0133-17

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1321-17	schwach positiv
1322-17	schwach positiv
1323-17	negativ
1324-17	positiv
1325-17	negativ
1326-17	negativ
1327-17	negativ
1328-17	schwach positiv
1329-17a	positiv
1329-17b	negativ
1330-17	negativ

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1321-17 (Spur 1)	4 Merkmale in 2 von 11 Systemen: PEZ5: 100/112 PEZ12: (265/286) SRY-Test: negativ	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 STR Merkmale reproduzierbar nachweisbar.
1322-17 (Spur 2)	7 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: (124) FHC2054: (181) FHC2010: (230) PEZ5: 100/(113) PEZ8: 226 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 STR Merkmale reproduzierbar nachweisbar.
1323-17 (Spur 3)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1324-17 (Spur 4)	11 Merkmale in 8 von 11 Systemen: PEZ1: 108/129 FHC2010: 230 PEZ5: 100 PEZ12: 282 PEZ3: 152 PEZ6: (161) PEZ8: 220/224 FHC2079: 286/294 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehunde (45±6,75 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Wolf (25±3,75 %, baltische Population)	Hund oder Wolfsmischung.
1325-17 (Spur 5)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1326-17 (Spur 6)	SRY: positiv	Nicht möglich	Nicht möglich
1327-17	SRY: schwach positiv	Nicht möglich	Nicht möglich

SU0133-17

(Spur 7)			
1328-17 (Spur 8)	SRY: Schwach positiv	Nicht möglich	Nicht möglich
1329-17a (Spur 9)	8 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 97/129 FHC2054: 170 PEZ5: 100 PEZ20: 176 PEZ3: 135 FHC2079: 266/269 SRY-Test: negativ	FCI-1-Hütehunde (50±7,5 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Wolf (40±6 %, russische Population)	Hund oder Wolfsmischling. Es zeigt sich ein erhöhter genetischer Wolfsanteil von > 30 %.
1329-17b (Spur 10)	7 Merkmale in 4 von 11 Systemen: PEZ1: 97/124/129 PEZ5: 92/100 PEZ3: 135 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 STR Merkmale reproduzierbar bzw. eine Mischspur nachweisbar. Das Allel „92“ im System PEZ5 wurde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen.
1330-17 (Spur 11)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern).
()=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus den **Spuren 1 (1321-17), 2 (1322-17), 4 (1324-17), 9 (1329-17b) und 10 (1329-17b)** ließen sich genetische Teilprofile erstellen. Der Vortest Auf Amylase verlief (schwach) positiv bzw. bei Spur 10 negativ.

Die Analyse der **Spuren 3 (1323-17), 5 (1325-17), 6 (1326-17), 7 (1327-17), 8 (1328-17) und 11 (1330-17)** ergab keine genetischen Merkmalsmuster. Der Amylasetest zeigte hier ein analoges (negatives) Ergebnis, lediglich Spur 8 zeigte im Vortest ein schwach positives Resultat.

Ad II+III: Die genetischen Teilprofile aus den **Spuren 1 (1321-17), 2 (1322-17) und 10 (1329-17b)** erlauben keine Assoziationsanalyse, da zu wenig STR-Merkmale reproduzierbar nachgewiesen werden konnten. Das bei **Spur 10** nachgewiesene Allel „92“ wurde dabei bisher nur bei Wölfen der russischen Population nachgewiesen. Zwei der Proben zeigen einen positiven SRY-Test, was auf ein männliches Tier hinweist

Die **Spur 4 (1324-17)** zeigt in der Assoziationsanalyse eine hohe genetische Übereinstimmung mit Hunden der Kategorie FCI-1-Hütehunde (45±6,75 %, z.B. Belgischer Schäferhund) mit einem Wolfsanteil von 25±3,75 % (baltische Population). Es ist daher davon auszugehen, dass es sich am Ehesten um einen Hund oder Wolfsmischling handelt. Der negative SRY-Test weist

SU0133-17

auf ein weibliches Tier, allerdings kann dieser Test aufgrund schlechter DNA Qualität/Quantität auch falsch negativ ausfallen.

Das Teilprofil aus **Spur 9 (1329-17a)** zeigt in der Assoziationsanalyse ebenfalls eine hohe genetische Übereinstimmung mit Hunden der Kategorie FCI-1-Hütehunde (50±7,5 %, z.B. Belgischer Schäferhund) mit einem erhöhten Wolfsanteil von 40±6 % (russische Population). Es ist daher davon auszugehen, dass es sich am Ehesten um einen Hund oder Wolfsmischling handelt. Der SRY-Test fällt hier ebenfalls negativ aus.

Aus den **Spuren 5 (1325-17), 6 (1326-17), 7 (1327-17), 8 (1328-17) und 11 (1330-17)** konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden. Eine Assoziationsanalyse ist hier leider nicht möglich.

Da diese Analyse aus schwierigem Ausgangsmaterial mit eher schlechter DNA-Qualität und – Quantität erstellt wurden, könnte es hier zu Allelverlusten (sog. Allelic drop outs) oder – gewinnen (sog. Allelic drop ins) gekommen sein. Diese könnten das Gesamtergebnis leicht verändern.

Bei der Interpretation muss zusätzlich bedacht werden, dass mit der durchgeführten Methode nur Rassen erkannt werden können, die in der Datenbank auch vorliegen. Daher ist es nicht auszuschließen, dass die Proben von z.B. einem nicht bekannten Wolfshund oder einem Wolf mit hoher genetische Hundeähnlichkeit stammen.

Zusammengefasst kann zudem festgestellt werden, dass es sich mit Sicherheit um die Spuren mehrerer Tiere handelt. Dabei ist eine genaue Festsetzung der Anzahl nicht verlässlich machbar. Es handelt sich mindestens um zwei verschiedene Tiere. Besteht die Möglichkeit, dass die Spuren auch von mehreren, eng verwandten Tieren verursacht worden sein könnten (Rudel), schließen die vorliegenden Ergebnisse dies nicht aus.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0137-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	04.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	04.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0137-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

04.10.2017	bis	11.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1386-17a	Krallenfragment: geschnitten, braun, ca. 0,5 cm Das Krallenfragment wird über Nacht inkubiert, um die DNA herauszulösen	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1386-17b	Haare mit Wurzeln: rotbraun, ca. 1 cm lang Die Haare werden über Nacht inkubiert.	s.o.
Spur 3	1387-17	Gewebeprobe, stark fäulnisverändert	s.o.



Spur 1 (1386-17a) und Spur 2 (1386-17b)

Spur 3 (1387-17)

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Nicht durchgeführt-

SU0137-17

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1386-17a (Spur 1)	Vollprofil: PEZ1: 109/118 FHC2054: 147/151 FHC2010: 226 PEZ5: 92/102 PEZ20: 202 PEZ12: 269 PEZ3: 124/138 PEZ6: 180/214 PEZ8: 230/235 FHC2079: 260/272 SRY-Test: positiv	Wolf (55±2,75 %, russische Population) FCI-1-Hütehunde (35±1,75 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Unbekannter Canidae (35±1,75 %, z.B. Goldschakal oder Fuchs)	Wolf oder Wolfmischling. Das Allel ⁹² im Markersystem PEZ 5 wurde bisher nur bei Wölfen der russischen Population nachgewiesen. Allele mit einer Basenpaarlänge > 200 bp wurden bisher nur bei Füchsen und Schakalen nachgewiesen.
1386-17b (Spur 2)	Vollprofil: PEZ1: 109/118 FHC2054: 147/151 FHC2010: 226 PEZ5: 92/102 PEZ20: 202 PEZ12: 269 PEZ3: (124)/138 PEZ6: 180/214 PEZ8: 230/235 FHC2079: 260/272 SRY-Test: positiv	Wolf (55±2,75 %, russische Population) FCI-1-Hütehunde (35±1,75 %, z.B. Belgischer Schäferhund) Unbekannter Canidae (35±1,75 %, z.B. Goldschakal oder Fuchs)	s.o.
1387-17 (Spur 3)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaar) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); (r-Merkmale, die eine geringe Amplifizierung aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom)

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus den **Spuren 1 (1386-17a)** und **2 (1386-17b)** ließ sich ein jeweils ein Vollprofil erstellen. Aus der **Spur 3 (1387-17)** konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden.

Ad II+III: Aus den **Spuren 1 (1386-17a, Krallenfragment)** und **2 (1386-17b, Haare mit Wurzeln)** ließ sich ein identisches genetisches Vollprofil erstellen. Die Assoziationsanalyse weist zuerst auf einen Wolf oder Wolfmischling mit einer genetischen Übereinstimmung mit dem Wolf von 55±2,75 % (russische Population) sowie Hunden der Kategorie FCI-1-Hütehunde (35±1,75 %,

SU0137-17

z.B. Belgischer Schäferhund) hin. Zusätzlich zeigt sich eine genetische Übereinstimmung mit bisher nicht bekannten Canidae (35±1,75 %, z.B. Goldschakal).

Dabei wurde das Allel „92“ bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population und keinem anderen Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen (n>1000).

Zusätzlich wurden Allele mit einer Basenpaarlänge >200 bp im Markersystem PEZ20 von uns bisher nur bei Füchsen und Schakalen nachgewiesen.

Beide Spuren zeigen ein deutliches SRY-Signal, was auf ein männliches Tier schließen lässt.

Aus **Spur 3 (1387-17, Gewebe)** ließ sich kein genetisches Profil erstellen, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.

Damit kann zusammengefasst werden, dass die beiden untersuchten Spuren 1 und 2 mit großer Sicherheit nicht von einem normalen Wolf oder Hund stammen. Hier muss aufgrund der auffallenden Allelverteilung von einem anderen Vertreter aus der Familie der Canidae (oder einem Mischling) ausgegangen werden.



PD Dr. Nicole von Würmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0139-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	09.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	09.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0139-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

04.10.2017	bis	11.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmateriale

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1394-17	Schäffell: blutig, schmutzig „mit Geweberesten Es werden nach der „double swab“ Methode zwei Gesamtabstriche angefertigt und gemeinsam aufgearbeitet.	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1394-17	schwach positiv

SU0139-17

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1394-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich

*Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); D=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signalstärke sehr gering, STR: Geschlechtsmarker, Y=Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

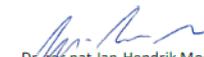
Ad I: Aus der **Spur 1 (1394-17)** ließ sich kein genetisches Profil erstellen, der Amylasetest verlief schwach positiv.

Ad II+III: Aus **Spur 1 (1394-17)** konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige

Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer. nat. Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0140-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	09.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	09.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0140-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

09.10.2017	bis	11.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1389-17	3 Abstriche: Copan, blutig, schmutzig	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren aus bis zu drei Abstrichen und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung
Spur 2	1390-17	3 Abstriche: Copan, blutig, schmutzig	s.o.
Spur 3	1391-17	3 Abstriche: Copan, blutig, schmutzig	s.o.
Spur 4	1392-17	3 Abstriche: Copan, blutig, schmutzig	s.o.
Spur 5	1393-17	3 Abstriche: Copan, blutig, schmutzig	s.o.



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1389-17	schwach positiv
1390-17	negativ
1391-17	negativ
1392-17	negativ
1393-17	negativ

SU0140-17

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1389-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1390-17 (Spur 2)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich
1391-17 (Spur 3)	Kein Ergebnis SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Nicht möglich
1392-17 (Spur 4)	Kein Ergebnis SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Nicht möglich
1393-17 (Spur 5)	5 Merkmale in 4 von 11 Systemen: PEZ5: (92/119) PEZ20: 175 PEZ3: 137 SRY-Test: positiv	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da weniger als 5 STR Systeme reproduzierbar nachweisbar. Das schwache Allel „92“ wurde bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen.

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern).
():=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1 (1389-17)** bis **Spur 4 (1392-17)** ließen sich keine genetischen Profile erstellen, der Amylasetest verlief analog dazu negativ; lediglich in der **Spur 1** zeigte sich ein sehr schwaches, positives Signal. Aus der **Spur 5 (1393-17)** ließ sich ein Teilprofil caniden Ursprung erstellen, der Amylasetest verlief hier allerdings ebenfalls negativ.

Ad II+III: Aus der **Spur 1 (1389-17)** bis **Spur 4 (1392-17)** ließen sich keine genetischen Profile erstellen, eine Assoziationsanalyse war hier nicht möglich. In den **Spuren 3 und 4** zeigen sich positives SRY-Signale, was auf ein oder mehrere männliche Tiere hindeutet.

Das Teilprofil aus **Spur 5 (1393-17)** lässt ebenfalls keine Assoziationsanalyse zu, da weniger als 5 STR-Systeme reproduzierbar nachgewiesen werden konnten. Das schwache Allel „92“ im Markersystem PEZ5 wurde dabei bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population und

SU0140-17

keinem anderen Canidae in unserer Datenbank nachgewiesen (n>1000). Der positive SRY-Test weist zudem ebenfalls auf ein männliches Tier hin.



PD Dr. Nicole von Würmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Durch den Einsatz spezifischer, fluoreszenzmarkierter Primer können diese relativ kurzen DNA-Fragmente in einem Polymerase-Ketten-Verfahren (PCR) vervielfältigt und in einer automatischen Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion in z.B. einem AbiPrism3130 (Fa. Applied Biosystems) bestimmt werden.

(11) Hundespezifische Analysen (SAA_023, nicht aktuell akkreditiert):

In zwei verschiedenen kommerziell erhältlichen Multiplex-Kits können STR-Merkmale amplifiziert werden, die spezifisch für die Familie der Canidae sind. In diesem Gutachten wird der Stockmarks Canine for Dogs Kit von Thermo Fisher eingesetzt, mit dem 10 dieser Merkmale nachgewiesen werden können. Auch diese Merkmale kommen in unterschiedlichen Häufigkeiten vor, so dass ebenfalls einfache Identitätsuntersuchungen und Abstammungsanalysen durchgeführt werden können. Die benötigten Frequenzdaten hierzu sind einer naturwissenschaftlichen Doktorarbeit (Modrow, 2014, Kiel) entnommen und werden laufend aufgestockt. Ähnlich wie beim Menschen, gibt es auch bei Hunden spezifische Häufigkeitsverteilungen, die hier für die verschiedenen Rassen spezifisch sind. Daher kann über eine Assoziationsanalyse mit den erhaltenen Daten eine Zuordnung zu einer bestimmten Hunderasse durchgeführt werden. Hierzu müssen Daten für die entsprechende Rasse in der

ForGen - Forensische Genetik
und Rechtsmedizin am Institut
für Hämatopathologie GmbH

Priv.-Doz. Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fangdieckstr. 75a, 22547 Hamburg

Tel: +49 (0) 40 524 72 36-600
Fax: +49 (0) 40 524 72 36-610
Mail: info@forensik-hh.de
URL: <http://www.forensik-hh.de>

Hamburg, den 12.10.2017

Bruno Lecomte

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0141-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	09.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	09.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

09.10.2017	bis	11.10.2017
------------	-----	------------

SU0141-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1395-17	Kotprobe: feucht, Pilzbewuchs 400 mg werden in Stabilizerpuffer gelöst und aufgearbeitet.	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD) -nicht untersucht-

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen -nicht durchgeführt-

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1395-17 (Spur 1)	Kein Ergebnis	Nicht möglich	Nicht möglich

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); (H)-Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaldichte sehr gering, STR: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

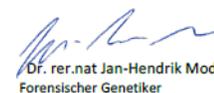
5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Spur 1 (1395-17) konnte kein genetischer Fingerabdruck erstellt werden.

Ad II+III: Aus Spur 3 (1395-17, Kotprobe) ließ sich kein genetisches Profil erstellen, eine Assoziationsanalyse ist daher nicht möglich.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0146-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	12.10.2017
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	16.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	16.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0146-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

16.10.2017	bis	20.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1418-17	3 Taschentücher. Papier, blutig, dreckig	Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Nicht durchgeführt.

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1418-17 (Spur 1)	14 Merkmale in 10 von 11 Systemen: PEZ1: 129 FHC2054: 176 FHC2010: 217/221 PEZ5: 109 PEZ20: 173* PEZ12: 310 PEZ3: 143/151 PEZ8: 225/230* FHC2079: 290/297	FCI-7-Vorstehhunde (60±3 %, Münsterländer, bzw. 40±6 %*) Wolf (40±2 %, russische Population, bzw. 20±3 %*)	Hund oder Wolfmischling, der links aufgeführten Kategorie. Es ist ein erhöhter Wolfsanteil von >30 % nachweisbar.

SU0146-17

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
	SRY-Test: positiv		

* Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); Di-Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltärke sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Spur 1 (1418-17) ließ sich ein Teilprofil erstellen.

Ad II+III: Aus Spur 1 (1418-17) ließ sich ein genetisches Teilprofil erstellen. Die Assoziationsanalyse weist auf einen Hund oder Wolfmischling der Kategorie FCI-7-Vorstehhunde (60±3 %, Münsterländer) hin. Es zeigt sich außerdem ein erhöhter genetischer Wolfsanteil von 40±2 % (russische Population), allerdings ist kein sog. wolfstypisches Allel nachweisbar.

Bei Spur 1 zeigt sich ein SRY-Signal, was auf ein männliches Tier schließen lässt.

Dabei muss bemerkt werden, dass es sich bei der untersuchten Probe um eine sogenannte Minimalspur mit schlechter DNA-Qualität und -Quantität handelt. Entsprechend kann es zu Allelveränderungen (sog. Allelic drop ins und drop outs) kommen, die zu einer Änderung des erstellten genetischen Merkmalsmusters führen könnten. Beispielfhaft ist hier in der obigen Tabelle das Ergebnis dargestellt, welches erreicht wird, wenn die beiden schwächsten Genorte nicht mit in die Berechnung einbezogen werden. Dies wiederum könnte zu Veränderungen in der Beurteilung führen. Zusätzlich ist nicht auszuschließen, dass die hier untersuchte DNA von einer Rasse stammt, die nicht in unserer Datenbank vorliegt.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für
Abstammungsgutachten e.V.



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

Betreff: Molekulargenetische Kotanalyse (SU0147-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	13.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	13.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.

II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?

III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

SU0147-17

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

13.10.2017	bis	20.10.2017
------------	-----	------------

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1415-17	Kotprobe, getrocknet, starke Zersetzungerscheinungen und Schimmel	Extraktion von Minimal Spuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung



3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Nicht durchgeführt

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1415-17 (Spur 1)	SRY-Test: (positiv) PEZ1: 117/126 FHC2054: 166/174	Nicht möglich	Nicht möglich

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyser sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); ()=Merkmale, die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

SU0147-17

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der **Spur 1 (1415-17)** ließen sich vereinzelt, spezifische Merkmale nachweisen.

Ad II+III: In der **Spur 1 (1415-17, Kotprobe)** zeigen sich einige, spezifische Merkmale, sowie ein schwaches SRY-Signal, was auf die Beteiligung eines männlichen Canidae schließen lässt.



PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige



Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschstufen und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in der Bevölkerung vorkommen), kann berechnet werden, wie wahrscheinlich es ist, dass z.B. eine bestimmte biologische Spur von einer bestimmten Person stammt (SAA_020), wenn all deren Merkmale mit denen der Spur übereinstimmen. Im Fall sogenannter Mischspuren, die von mehr als einer Person verursacht wurden, können ebenfalls über weitere Rechenwege nach Schneider et al, 2006 biostatistische Aussagen zur Entstehung bzw. Zugehörigkeit einer Mischspur erstellt werden (SAA_21).

(10) Fragmentanalyse (SAA_018):

Durch den Einsatz spezifischer, fluoreszenzmarkierter Primer können diese relativ kurzen DNA-Fragmente in einem Polymerase-Ketten-Verfahren (PCR) vervielfältigt und in einer automatischen Fragmentanalyse mittels Kapillarelektrophorese und Laserdetektion in z.B. einem AbiPrism3130 (Fa. Applied Biosystems) bestimmt werden.

(11) Hundespezifische Analysen (SAA_023, nicht aktuell akkreditiert):

In zwei verschiedenen kommerziell erhältlichen Multiplex-Kits können STR-Merkmale amplifiziert werden, die spezifisch für die Familie der Canidae sind. In diesem Gutachten wird der Stockmarks Canine for Dogs Kit von Thermo Fisher eingesetzt, mit dem 10 dieser Merkmale nachgewiesen werden können. Auch diese Merkmale kommen in unterschiedlichen Häufigkeiten vor, so dass ebenfalls einfache Identitätsuntersuchungen und Abstammungsanalysen durchgeführt werden können. Die

Betreff: Molekulargenetische Rissanalyse (SU0150-17)

Bezug:	Speziesidentifikation
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	26.10.2017
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	26.10.2017

Gemäß schriftlicher Anforderung soll ein

forensisch-genetisches Spurengutachten

erstellt werden.

1. Frage- bzw. Aufgabenstellung

- I. Bitte um molekulargenetische Analyse und - wenn möglich - Spezieszuordnung.
- II. Befindet sich an den Spurenrägern genetisches Material, welche für eine Untersuchung geeignet ist?
- III. Wenn ja, stammen die übersandten Proben von einem Hund oder einem Wolf?

2. Zum Sachverhalt:

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen bzw. Auswertungen fanden im folgenden Zeitraum statt:

26.10.2017	bis	27.10.2017
------------	-----	------------

SU0150-17

3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spurenräger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden
Spur 1	1507-17	1 Abstriche, Forensic Swab Sarstedt, mit Schmutzantragungen	Vortest auf Amylase, Extraktion von Minimalspuren und Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks, Geschlechtsbestimmung



Spur 1 (1507-17)

3.2 Vergleichsmaterial (VM) bzw. -daten (VD)

nicht untersucht

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Die Abstrichproben wurden vorab auf das Vorhandensein von Amylase getestet:

ID	Ergebnis
1507-17	positiv

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11).

lfd. Nummer	Typisierungserfolg*	Assoziationsanalyse	Beurteilung/Bemerkung
1507-17 (Spur 1)	6 Merkmale in 6 von 11 Systemen: PEZ1: 96 PEZ5: (92) PEZ20: 180 PEZ3: 127 FHC2079: 268/272 SRY: negativ	Nicht möglich	Assoziationsanalyse nicht möglich, da nur 5 STR Marker reproduzierbar detektierbar. Das Allel „92“ im System PEZ5 wurde dabei bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population nachgewiesen.

SU0150-17

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Länge (Basenpaare) nach Auftrennung in einem ABI3130 Genetic Analyzer sowie Anzahl der Wiederholungseinheiten (eckige Klammern); (Hakenstrich), die eine geringe Amplitude aufweisen oder nicht reproduzierbar bestimmt werden konnten. Diese werden in die Assoziationsanalyse nicht einbezogen. Signale in Klammern: Signaltiefe sehr gering, SRY: Geschlechtsmarker, Y-Chromosom

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Ad I: Aus der Spur 1 (1507-17) ließ sich ein genetischer Fingerabdruck erstellen, der Vortest auf Amylase verlief positiv.

Ad II+III: Aus Spur 1 (1507-17) ließ sich ein genetisches Teilmuster erstellen. Eine Assoziationsanalyse ist nicht möglich, da nur 5 oder weniger STR-Marker reproduzierbar nachgewiesen werden konnten. Das Allel „92“ im System PEZ5 wurde dabei bisher nur bei Wölfen aus der russischen Population und keinem weiteren Canidae in unserer Datenbank (n>1000, >100 Rassen) nachgewiesen. Der negative SRY-Test spricht für ein weibliches Tier, dieser Test kann jedoch aufgrund von schlechter DNA Qualität/Quantität falsch-negativ ausfallen.

PD Dr. Nicole von Wurmb-Schwark
Fachabstammungsgutachterin DGAB
Spurensachverständige
Vorsitzende Bundesverband der Sachverständigen für Abstammungsgutachten e.V.

Dr. rer.nat Jan-Hendrik Modrow
Forensischer Genetiker

6. Methoden und Technisches

6.1 Methoden und Hintergrund

Die folgenden Methoden wurden vom Labor für die Spurenuntersuchung eingesetzt. Alle Methoden und Verfahren sind dabei verifiziert und validiert, in einem laufenden Qualitätsmanagementsystem eingebettet und aktuell akkreditiert (wenn nicht anders beschrieben):

(7) DNA-Extraktion (SAA_010):

Die DNA-Isolierung erfolgt durch Aufschluss der kernhaltigen Zellen in mehreren Inkubations- und Waschschritten und der Zugabe sogenannter Magnetic beads. Diese binden die DNA-Moleküle, die dann erneut durch verschiedene Schritte gewaschen und eluiert werden können. Die Aufarbeitung wird dabei mit einem Extraktionsgerät von ThermoFisher durchgeführt.

(8) Generelles zur DNA-Analyse, Darstellung, Auswertung:

Die DNA oder DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist der Träger der Erbsubstanz, die in den Zellkernen auf langen Molekülfäden spiralförmig angeordnet ist. Sie besteht aus Einzelbausteinen, die 4 Basen enthalten (Adenin, Thymin, Cytosin, Guanin). Die Anordnung entspricht dem genetischen Code.

An bestimmten Orten im Genom befinden sich sogenannte short tandem repeats (STRs), Bereiche der DNA, die sich durch spezifische Abfolgen von 2 bis 4 Basenpaaren Länge auszeichnen, die in Wiederholungen von 10 bis 40 vorkommen. Diese Wiederholungsanzahl ist individuell unterschiedlich und wird als Merkmal für jeden Genort kodominant vererbt. Bei Mischerbigkeit sind zwei unterschiedliche Fragmente (=Allele) nachweisbar. Bei Reinerbigkeit liegen zwei identische Fragmente (Allele) vor. Diese short tandem repeats sind sämtlich in den sogenannten nicht-kodierenden Bereichen der DNA lokalisiert, so dass mit keinem Genort Rückschlüsse auf eventuelle Erkrankungen oder Fehlbildungen geschlossen werden können. Dabei werden 16 bis 23 dieser STR-Merkmale analysiert (SAA_14 und 15). Immer ein Merkmal wird von der Mutter, eines vom Vater vererbt, so dass über den Nachweis der STRs und mit Wissen der Frequenz der einzelnen genetischen Merkmale Abstammungsgutachten durchgeführt werden können (SAA_019). Zusätzlich ist auch eine Identitätsüberprüfung möglich. Da die verschiedenen Merkmale unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten aufweisen (d.h. unterschiedlich häufig in