

ForGen

Forensische Genetik und Rechtsmedizin
am Institut für Hämatopathologie GmbH

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

dgab

fachabstammungsgutachterin
geprüft durch die kfqa

prüfnr. 0280/2013 www.kfqa.de

**ForGen - Forensische Genetik
und Rechtsmedizin am Institut
für Hämatopathologie GmbH**

Stichting De Hoge Veluwe Nationale Park

Apeldoornseweg 250
7351TA Haenderloo

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 10.09.2024

Betreff: Molekulargenetische Analyse (SU0076-24B)

Bezug:	Speziesidentifikation 52 Haarproben, Vorgutachten SU0076-24 A
Beschluss/Auftrag vom:	Privat
Eingang des Auftrags an unserem Institut:	26.01.2024
Eingang des Spurenmaterials an unserem Institut:	26.01.2024

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 anderen Vertreter der Canidae?

2. Zum Sachverhalt

3. Spuren- und Vergleichsmaterial:

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

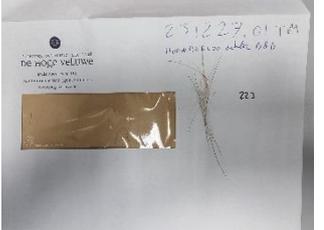
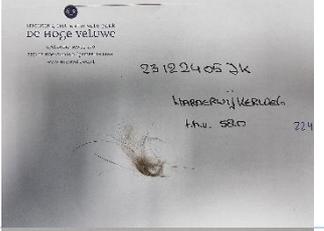
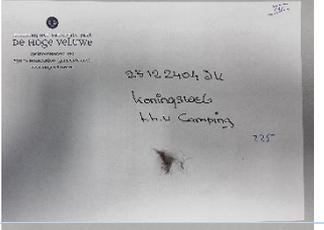
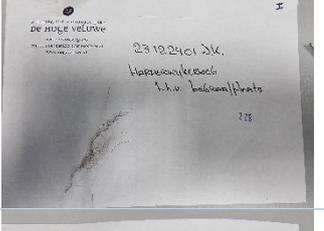
████████████████████
████████████████████
████████████████████
████████████████████
████████████████████
████████████████████

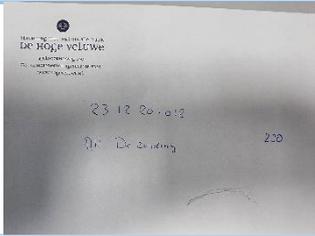
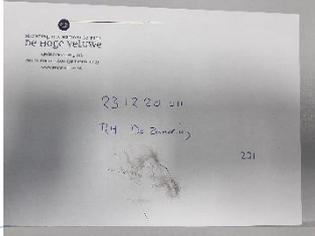
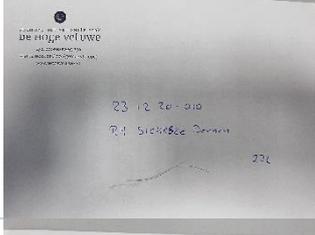
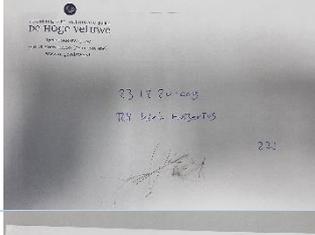
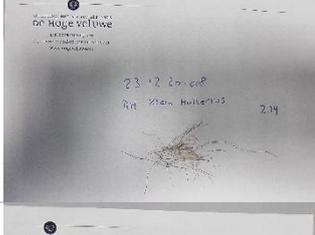
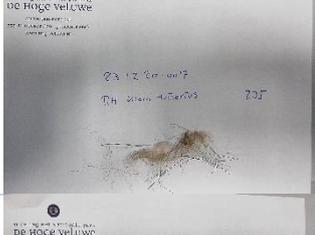
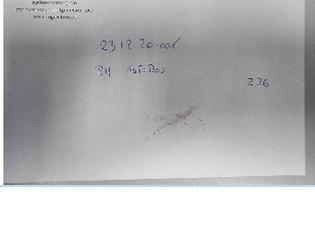
████████████████████
████████████████████
████████████████████

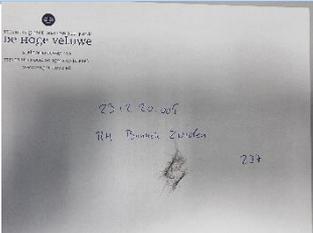
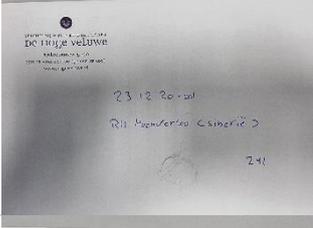
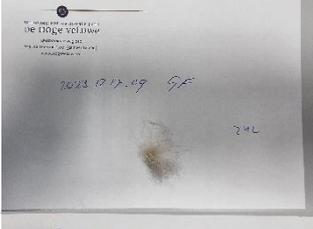
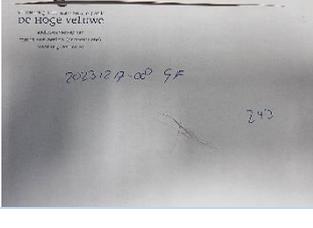
05.02.2024	bis	06.08.2024
------------	-----	------------

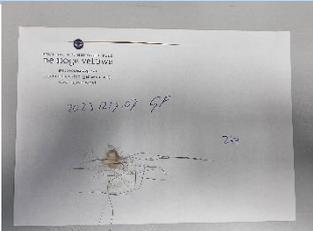
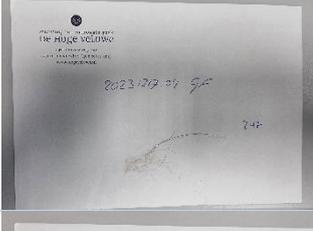
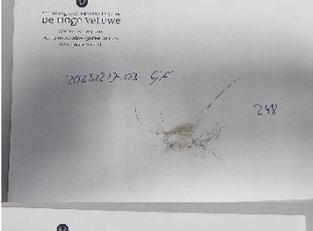
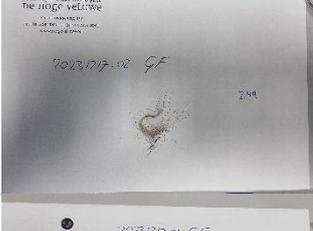
3.1 Spurenmaterial

Die im Folgenden beschriebenen Spureträger wurden untersucht:

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden	Foto
Spur 25	0223-24	Haarbüschel 23 12 27. 01 TM, 1-7 cm lang, teilweise Wurzeln erkennbar: die Büschel werden komplett aufgearbeitet.	Extraktion von Minimal Spuren, Quantifizierung von DNA, Erstellung eines genetischen, autosomalen Merkmalsmusters, Geschlechtsbestimmung, Sequenzierung der mitochondrialen DNA	
Spur 26	0224-24	S.O. 23 12 24 05 JK (5)	S.O.	
Spur 27	0225-24	S.O. 23 12 24 04 JK (4)	S.O.	
Spur 28	0226-24	S.O. 23 12 24 03 JK (3)	S.O.	
Spur 29	0227-24	S.O. 23 12 24 02 JK (2)	S.O.	
Spur 30	0228-24	S.O. 23 12 24 01 J.K. (1)	S.O.	
Spur 31	0229-24	S.O. 23 12 20. 013	S.O.	

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden	Foto
Spur 32	0230-24	s.o. 23 12 20. 012	s.o.	
Spur 33	0231-24	s.o. 23 12 20. 011	s.o.	
Spur 34	0232-24	s.o. 23 12 20. 010	s.o.	
Spur 35	0233-24	s.o. 23 12 20. 009	s.o.	
Spur 36	0234-24	s.o. 23 12 20. 008	s.o.	
Spur 37	0235-24	s.o. 23 12 20. 007	s.o.	
Spur 38	0236-24	s.o. 23 12 20. 006	s.o.	

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden	Foto
Spur 39	0237-24	S.O. 23 12 20. 005	S.O.	
Spur 40	0238-24	S.O. 23 12 20. 004	S.O.	
Spur 41	0239-24	S.O. 23 12 20. 003	S.O.	
Spur 42	0240-24	S.O. 23 12 20. 002	S.O.	
Spur 43	0241-24	S.O. 23 12 20. 001	S.O.	
Spur 44	0242-24	S.O. 2023 12 17.09 GF	S.O.	
Spur 45	0243-24	S.O. 2023 12 17-08 GF	S.O.	

Bezeichnung	lfd. Nummer	Beschreibung	Durchgeführte Methoden	Foto
Spur 46	0244-24	S.O. 2023 12 17.07 GF	S.O.	
Spur 47	0245-24	S.O. 2023 12 17.06 GF	S.O.	
Spur 48	0246-24	S.O. 2023 12 17.05 GF	S.O.	
Spur 49	0247-24	S.O. 2023 12 17.04 GF	S.O.	
Spur 50	0248-24	S.O. 2023 12 17.03 GF	S.O.	
Spur 51	0249-24	S.O. 2023 12 17.02 GF	S.O.	
Spur 52	0250-24	S.O. 2023 12 17.01 GF	S.O.	

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

Nicht untersucht.

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen ---

4.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Es wurden 22 polymorphe, spezifische STR-Marker (teils in Doppelbestimmung) analysiert, mit denen Canide nachgewiesen werden können. Dabei kann, bei ausreichendem Profil, zwischen Fuchs, Wolf, Schakal und Hund differenziert werden. Bei Hunden können die entsprechenden Rassen bestimmt werden. Zusätzlich werden zwei – unabhängige- Geschlechtsbestimmungen durchgeführt. Ebenfalls zeigt sich, wenn die DNA von mehreren Tieren stammt.

Tab. 1: DNA-Typisierungsergebnisse des Spuren- u. Vergleichsmaterials, hundespezifische STR-Merkmale (siehe 11). Angabe der spezifischen Fragmente nach kapillarelektrophoretischer Auftrennung in Rohdaten.

Multiplex I:

Lfd. Nr.	SRY	PEZ1	FC2054	FC2010	PEZ16	PEZ5	PEZ20	PEZ12	PEZ6	PEZ8	FC2079
0223-24	+	107/115	145/171	227/231	288/300	96/104	161	268/276	175/179	230/234	273
0224-24	+	107/115	k.E.	231	k.E.	k.E.	k.E.	(272)	201	k.E.	273/277
0225-24	-	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	96/112	k.E.	k.E.	163/179	234	k.E.
0226-24	-	107	k.E.	k.E.	k.E.	96	k.E.	k.E.	201	k.E.	k.E.
0227-24	+	k.E.	145	k.E.	k.E.	96/112	k.E.	272	193	240	k.E.
0228-24	+	107/111	145/163	k.E.	288	96/112	147/161	272	181/193	230	273/281
0229-24	-	107/115	145/155	231/235	288	96/112	143/161	272	175/181	230/234	273/277
0230-24	+	107/111/115	k.E.	k.E.	k.E.	96/112	k.E.	k.E.	k.E.	242/246	k.E.
0231-24	+	103/107/111/115	145/155	k.E.	288	96/100/108/112	k.E.	k.E.	175	230/234	k.E.
0232-24	+	k.E.	137/145	k.E.	k.E.	96/112/120	k.E.	k.E.	175/183	234	k.E.
0233-24	-	103/107/115	k.E.	k.E.	k.E.	112	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.
0234-24	+	k.E.	k.E.	231	k.E.	96/112	161	268/272	k.E.	k.E.	277
0235-24	-	k.E.	145	k.E.	k.E.	96/112	161	268/272	k.E.	k.E.	k.E.
0236-24	-	107/115	k.E.	k.E.	k.E.	96/112	k.E.	268/272	k.E.	k.E.	277
0237-24	+	k.E.	145/163	k.E.	k.E.	112	k.E.	268/272	k.E.	230	k.E.
0238-24	+	k.E.	137/145	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	234	277
0239-24	-	k.E.	k.E.	231/235	k.E.	96	k.E.	272	k.E.	k.E.	273/277
0240-24	-	k.E.	k.E.	231	k.E.	96/108	161	268/272	k.E.	k.E.	265/273
0241-24	-	107/115	k.E.	k.E.	k.E.	96/112	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.
0242-24	+	k.E.	137/145	k.E.	k.E.	96	k.E.	272	175/181	234	277
0243-24	-	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	96/112	161	272	k.E.	k.E.	k.E.
0244-24	-	k.E.	137/145	k.E.	k.E.	96	k.E.	k.E.	k.E.	234	k.E.
0245-24	+	115	k.E.	k.E.	k.E.	96/112	161	272	k.E.	k.E.	k.E.
0246-24	-	107	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	268/272	k.E.	k.E.	277
0247-24	-	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	96	k.E.	272	k.E.	k.E.	k.E.
0248-24	-	107/111	147	k.E.	k.E.	96	k.E.	272	k.E.	k.E.	k.E.
0249-24	-	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	272/(292)	k.E.	k.E.	k.E.
0250-24	-	107/111	k.E.	k.E.	k.E.	96	k.E.	268	k.E.	k.E.	k.E.

Multiplex II/III:

Lfd. Nr.	FC2087	FC2137	AMG	PEZ03	PEZ15	FC2508	FC2361	WTF	FC2613	FC2611	FC3241	vWFX	FC2132	Assoziationsanalyse
0223-24	123/127	160	x	121/137	204	106/110	135/145	164/180	k.E.	(193/205)	259/271	137	k.E.	Wolf, lettische Population (60 %) Wolfsallel in PEZ05
0224-24	115/123	160/166	xy	k.E.	200/212	110	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich
0225-24	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0226-24	123	k.E.	x	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0227-24	k.E.	k.E.	xy	k.E.	k.E.	102/110	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0228-24	115/119	160	xy	121/135	204/208	102/110	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	157/165	k.E.	Wolf, lettische Population (63 %) Wolfsallel in PEZ05
0229-24	115/123	156/160	x	121	200/212	110	135	164/176	k.E.	k.E.	k.E.	137/163	k.E.	Wolf, lettische Population (60 %) Wolfsallel in PEZ05
0230-24	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05 Mischspur
0231-24	k.E.	176	k.E.	121/137	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	137	k.E.	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05 Mischspur
0232-24	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0233-24	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich
0234-24	119/123	160	xy	133/137	204/208	106/110	135/145	168/190	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Wolf, lettische Population (45 %) Wolfsallel in PEZ05
0235-24	k.E.	k.E.	x	k.E.	k.E.	100/110	k.E.	k.E.	k.E.	203	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05
0236-24	119/123	160	xy	k.E.	204	106/110	k.E.	168	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05
0237-24	119	k.E.	xy	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich
0238-24	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	131/163	k.E.	nicht möglich
0239-24	115/123	160	x	k.E.	180/200/208	110	k.E.	164/176	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05/PEZ15 Mischspur
0240-24	111/123/127	160/180	xy	137	204	106/110	145	164	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05 Mischspur
0241-24	119/123	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05
0242-24	115/119	k.E.	xy	131/135	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	193/205	259/271	131/163	275	Wolf, lettische Population (42 %) Wolfsallel in PEZ05

Lfd. Nr.	FC2087	FC2137	AMG	PEZ03	PEZ15	FC2508	FC2361	WTF	FC2613	FC2611	FC3241	vWFX	FC2132	Assoziationsanalyse
0243-24	115/123	k.E.	x	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0244-24	k.E.	k.E.	x	k.E.	k.E.	100	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	131/163	k.E.	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0245-24	119	k.E.	xy	k.E.	204	110	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0246-24	119/123	k.E.	xy	k.E.	k.E.	100/106/110	139/151	168/188/200	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich Mischspur
0247-24	115/119	k.E.	x	k.E.	k.E.	110	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0248-24	115/119	k.E.	xy	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05
0249-24	115/119	k.E.	xy	k.E.	k.E.	110	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich
0250-24	k.E.	k.E.	xy	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	k.E.	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05

*: Angabe der spezifischen Merkmale in Basenpaareinheiten (Rohdaten) 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

Zusätzlich wurden zwei Fragmente aus dem **hypervariablen Bereich der mitochondrialen DNA**. Mit diesen kann, bei erfolgreicher Analyse, zwischen Wolf und Hund unterschieden und eine Haplotypzuordnung durchgeführt werden.

lfd. Nummer	Sequenzierungserfolg*		Hits (1-3)	Haplotyp (lt. Thai et.al. 2017)
	740 bp	319 bp		
0223-24	k.E.	C1, C3-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0224-24	k.E.	C1, C3-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0225-24	k.E.	C3-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus familiaris JC01 HIT2: Canis lupus familiaris TRD102 HIT3: Canis lupus familiaris TRD098	Nicht möglich
0226-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0227-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus M45 HIT2: Canis lupus DM1124 HIT3: Canis lupus Sweden3	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0228-24	k.E.	C1, C2-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	Nicht möglich
0229-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0230-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus MS15 HIT2: Canis lupus MS13 HIT3: Canis lupus MS6	B75 (Verschoure et.al., 2014)
0231-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus Sweden3 HIT2: Canis lupus Arizona-6 HIT3: Canis lupus Arizona-2	B47 (Verschoure et.al., 2014)
0232-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus 4927 HIT2: Canis lupus 3087 HIT3: Canis lupus 3090	E1 (Savolainen et.al., 2002)
0233-24	k.E.	k.E.	Nicht möglich	Nicht möglich

Ifd. Nummer	Sequenzierungserfolg*		Hits (1-3)	Haplotyp (lt. Thai et.al. 2017)
	740 bp	319 bp		
0234-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0235-24	k.E.	C1, C2 Teilsequenz	HIT1: Canis lupus Sweden3 HIT2: Canis lupus M45 HIT3: Canis lupus DM1124	Nicht möglich
0236-24	k.E.	C1, C2-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus MS15 HIT2: Canis lupus MS13 HIT3: Canis lupus MS6	Nicht möglich
0237-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus MS45 HIT2: Canis lupus MS15 HIT3: Canis lupus MS13	B75 (Verscheure et.al., 2014)
0238-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus 4927 HIT2: Canis lupus 3087 HIT3: Canis lupus 3090	E1 (Savolainen et.al., 2002)
0239-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0240-24	k.E.	C1, C3-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus familiaris AL3053 HIT2: Canis lupus familiaris HIT3: Canis lupus E5	Nicht möglich
0241-24	k.E.	k.E.	Nicht möglich	Nicht möglich
0242-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus 1-83	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0243-24	k.E.	C3 Teilsequenz	HIT1: Canis lupus familiaris JC01 HIT2: Canis lupus familiaris TRD102 HIT3: Canis lupus familiaris TRD098	Nicht möglich
0244-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0245-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0246-24	k.E.	k.E.	Nicht möglich	Nicht möglich
0247-24	k.E.	C3-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus familiaris JC01 HIT2: Canis lupus familiaris TRD102 HIT3: Canis lupus familiaris TRD098	Nicht möglich
0248-24	k.E.	C1, C2-Teilsequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0249-24	Komplette Sequenz	Komplette Sequenz	HIT1: Canis lupus CLU73 HIT2: Canis lupus CLU69 HIT3: Canis lupus CLU26	D1 (Leehoei et.al., 2020)
0250-24	k.E.	k.E.	Nicht möglich	Nicht möglich

(A) 0223-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	459	722	6e-124	99.21%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	459	718	6e-124	99.21%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	459	715	6e-124	99.21%	581	KX898321.1

(B) 0224-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	466	4e-126	100.00%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	466	4e-126	100.00%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	466	4e-126	100.00%	581	KX898321.1

(C) 0225-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus familiaris JC01 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	122	122	1e-23	98.57%	598	LC779776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus familiaris TRD102 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	122	122	1e-23	98.57%	701	LC779494.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus familiaris TRD098 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	122	122	1e-23	98.57%	701	LC779490.1

(D) 0226-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	734	918	0.0	92.80%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	732	910	0.0	92.80%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus haplotype W7 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus lupus	732	857	0.0	92.80%	496	KY549999.1

(E) 0227-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate M45 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	676	1143	0.0	96.48%	16727	OM743395.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate DM1124 mitochondrion, complete genome	Canis lupus	676	1143	0.0	96.48%	16690	MT622509.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Sweden3 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	676	1137	0.0	96.49%	16727	KF661052.1

(F) 0228-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	462	462	2e-125	99.60%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	462	462	2e-125	99.60%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	462	462	2e-125	99.60%	581	KX898321.1

(G) 0229-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	462	726	4e-125	99.60%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	462	718	4e-125	99.60%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence, mitochondrial	Canis lupus	462	718	4e-125	99.60%	581	KX898321.1

(H) 0230-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms15_Ellesmere2_wolf_MT_MTunigue_GF217 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	414	414	5e-111	97.52%	16737	MN071198.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms13_Banks_Island_wolf_MT_MTunigue_SW24 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	414	414	5e-111	97.52%	16737	MN071196.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms9_Alaska_wolf_MT_MTunigue_ARF07 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	414	414	5e-111	97.52%	16737	MN071192.1

(I) 0231-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Sweden3 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	584	1045	1e-161	92.53%	16727	KF661052.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus mitochondrial partial D-loop, isolate U.Arizona-6	Canis lupus	579	1034	5e-160	92.27%	16091	LR742759.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus mitochondrial partial D-loop, isolate U.Arizona-2	Canis lupus	579	1034	5e-160	92.27%	16098	LR742757.1

(J) 0232-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus isolate 4927 DNA tRNA-Pro gene and D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus lupus	492	492	5e-134	99.26%	392	OQ535683.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus isolate 3087 tRNA-Pro gene and D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus lupus	492	492	5e-134	99.26%	392	OQ535681.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus isolate 3090 tRNA-Pro gene and D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus lupus	492	492	5e-134	99.26%	392	OQ535680.1

(K) 0234-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus	448	702	1e-120	98.02%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus	448	698	1e-120	98.02%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus	448	698	1e-120	98.02%	581	KX898321.1

(L) 0235-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Sweden3 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	664	1102	0.0	95.95%	16727	KF661052.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate M45 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	662	1106	0.0	95.95%	16727	OM743395.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate DM1124 mitochondrion, complete genome	Canis lupus	662	1106	0.0	95.95%	16690	MT622509.1

(M) 0236-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms15 Ellesmere2_wolf_MT_MTunique_GF217 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	431	431	5e-116	98.76%	16737	MN071198.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms13_Banks_Island_wolf_MT_MTunique_SW24 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	431	431	5e-116	98.76%	16737	MN071196.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms9_Alaska_wolf_MT_MTunique_ARF07 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	431	431	5e-116	98.76%	16737	MN071192.1

(N) 0237-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate M45 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	431	855	1e-115	96.44%	16727	OM743395.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms15_Ellesmere2_wolf_MT_MTunique_GF217 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	429	851	4e-115	98.77%	16737	MN071198.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Ms13_Banks_Island_wolf_MT_MTunique_SW24 mitochondrion, partial genome	Canis lupus	429	848	4e-115	98.77%	16737	MN071196.1

(O) 0238-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus isolate 4927 DNA tRNA-Pro gene and D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus lupus	453	453	3e-122	96.99%	392	OQ535683.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus isolate 3087 tRNA-Pro gene and D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus lupus	453	453	3e-122	96.99%	392	OQ535681.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus lupus isolate 3090 tRNA-Pro gene and D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus lupus	453	453	3e-122	96.99%	392	OQ535680.1

(P) 0239-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus	418	565	9e-112	95.58%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus	418	558	9e-112	95.58%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus	418	552	9e-112	95.58%	581	KX898321.1

(Q) 0240-24

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus familiaris mitochondrial partial D-loop, isolate AL3053	Canis lupus fami...	276	380	4e-69	92.06%	16682	LR742782.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus familiaris genome assembly, chromosome: 1	Canis lupus fami...	276	380	4e-69	92.06%	16688	LR745081.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Canis lupus familiaris haplotype E5 control region, partial sequence; mitochondrial	Canis lupus fami...	276	378	4e-69	92.06%	581	MN603444.1

(R) 0242-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	612	1305	6e-170	97.46%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu67 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	612	1299	6e-170	97.46%	582	KX898345.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris isolate 1-83 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus famili...	612	1283	6e-170	97.46%	582	MW194777.1

(S) 0243-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris JC01 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	126	126	8e-25	91.40%	598	LC779776.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris TRD102 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	126	126	8e-25	91.40%	701	LC779494.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris TRD098 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	126	126	8e-25	91.40%	701	LC779490.1

(T) 0244-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	459	726	5e-124	99.21%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	459	720	5e-124	99.21%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	459	720	5e-124	99.21%	581	KX898321.1

(U) 0245-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	401	646	9e-107	94.05%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	401	639	9e-107	94.05%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	401	639	9e-107	94.05%	581	KX898321.1

(V) 0246-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris JC01 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	106	106	1e-18	98.36%	598	LC779776.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris TRD102 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	106	106	1e-18	98.36%	701	LC779494.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris TRD098 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	106	106	1e-18	98.36%	701	LC779490.1

(W)0247-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris JC01 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	106	106	1e-18	98.36%	598	LC779776.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris TRD102 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	106	106	1e-18	98.36%	701	LC779494.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus familiaris TRD098 mitochondrial DNA, D-loop	Canis lupus familiaris	106	106	1e-18	98.36%	701	LC779490.1

(X) 0248-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	587	2e-126	100.00%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	580	2e-126	100.00%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	580	2e-126	100.00%	581	KX898321.1

(Y) 0249-24

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu73 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	696	3e-126	100.00%	582	KY124130.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu69 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	691	3e-126	100.00%	581	KX898347.1
<input checked="" type="checkbox"/> Canis lupus isolate Clu26 D-loop, partial sequence: mitochondrial	Canis lupus	466	687	3e-126	100.00%	581	KX898321.1

Abb. 1: Ergebnis der Blastanalyse für die jeweils genannte Probe.

5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Begutachtung der vorgegebenen Beweisfragen

Tab. 2. Zusammenfassung der Ergebnisse in tabellarischer Form. Es werden jeweils die Ergebnisse der einzelnen Analysen sowie ein Fazit angegeben

Lfd. Nr.	STR Analyse	Assoziationsanalyse	mtDNA Sequenzierung	Ergebnis
0223-24	Teilprofil Weiblich	Wolf, lettische Population (60 %) Wolfsallel in PEZ05	C1, C3-Teilsequenz	Canidae 1 Wolf, eher weiblich D1
0224-24	Teilprofil Männlich	nicht möglich	C1, C3-Teilsequenz	Canidae 2 Wolf männlich D1
0225-24	Teilprofil	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	C3-Teilsequenz	Wolf möglich
0226-24	Teilprofil Weiblich	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Wolf, eher weiblich D1
0227-24	Teilprofil Männlich	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Canidae 3 Wolf, männlich D1
0228-24	Teilprofil Männlich	Wolf, lettische Population (63 %) Wolfsallel in PEZ05	C1, C2-Teilsequenz	Gut möglich Canidae 3 Eher Wolf, männlich
0229-24	Teilprofil (Weiblich)	Wolf, lettische Population (60 %) Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Wolf, (eher weiblich) D1
0230-24	Teilprofil	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05 Mischspur	Komplette Sequenz	Canidae 4 Mischspur, Wolf gut möglich B75
0231-24	Teilprofil	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05 Mischspur	Komplette Sequenz	Canidae 5 Mischspur, Wolf gut möglich B47
0232-24	Teilprofil	Nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Wolf E1
0233-24	Teilprofil	nicht möglich	k.E.	k.E.
0234-24	Teilprofil Männlich	Wolf, lettische Population (45 %) Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Wolf Männlich D1 Kann 227 sein
0235-24	Teilprofil Weiblich	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05	C1, C2 Teilsequenz	Wolf gut möglich, eher weiblich
0236-24	Teilprofil Männlich	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05	C1, C2-Teilsequenz	Wolf gut möglich Männlich Kann 234 sein
0237-24	Teilprofil Männlich	nicht möglich	Komplette Sequenz	Eher Wolf Männlich B75
0238-24	Teilprofil	nicht möglich	Komplette Sequenz	Canidae 6 Eher Wolf Männlich E1
0239-24	Mischprofil Weiblich	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05/PEZ15 Mischspur	Komplette Sequenz	Mischprofil, Wolf D1
0240-24	Mischprofil Männlich	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05 Mischspur	C1, C3-Teilsequenz	Mischprofil, Wolf gut möglich, männlich
0241-24	Teilprofil	Nicht möglich. Wolfsallel in PEZ05	k.E.	Wolf gut möglich männlich
0242-24	Teilprofil Männlich	Wolf, lettische Population (42 %) Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Canidae 7 Wolf, männlich D1
0243-24	Teilprofil Weiblich	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	C3 Teilsequenz	Wolf gut möglich
0244-24	Teilprofil Weiblich	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Wolf, eher weiblich D1
0245-24	Teilprofil männlich	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	Komplette Sequenz	Wolf eher männlich D1
0246-24	Mischprofil Männlich	nicht möglich Mischspur	k.E.	Mischprofil

Lfd. Nr.	STR Analyse	Assoziationsanalyse	mtDNA Sequenzierung	Ergebnis
0247-24	Teilprofil Weiblich	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	C3-Teilsequenz	Wolf gut möglich, eher weiblich
0248-24	Teilprofil Männlich	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	C1, C2-Teilsequenz	Wolf, männlich D1
0249-24	Teilprofil Männlich	nicht möglich	Komplette Sequenz	Wolf, männlich D1
0250-24	Teilprofil männlich	nicht möglich Wolfsallel in PEZ05	k.E.	Wolf gut möglich, männlich

Insgesamt wurden **28 Proben** untersucht. Die DNA-Ausbeute war dabei sehr unterschiedlich, teilweise zeigten sich Hinweise auf DNA von mehreren Tieren, so dass keine Assoziationsanalyse möglich war.

Generell zeigt sich eine große Ähnlichkeit zwischen den Merkmalsmuster, so dass von nur wenigen Tieren, bzw. sehr eng verwandten Tieren auszugehen ist.

Die **Ausprägung der STR-Merkmale** weist auf mindestens **6 verschiedene Wölfe** hin, wobei mehrere Proben sehr gut von nur einem Tier stammen können, bzw. mehrere der gemischten Proben den einzelnen zuzuordnen wären.

Die Assoziationsanalyse weist durchgängig auf eine ähnliche Art hin, was die enge Verwandtschaft stützt. Hier zeigen sich durchgängig die höchsten genetischen Ähnlichkeiten zu den lettischen Wölfen in unserer Datenbank. Zusätzlich zeigen sich Ähnlichkeiten im STR-Muster zu Hütehunden, was auf Mischlinge hindeuten kann. Oder aber es handelt sich um (reine) Wölfe, die nicht in unserer Datenbank abgebildet sind.

In **24 Fällen (von insgesamt 28)** konnten **zusätzlich auswertbare Sequenzen der mitochondrialen DNA** dargestellt werden. In **17 Fällen** konnte dabei der **mitochondriale Haplotyp** bestimmt werden.

Es zeigen sich vier verschiedene Haplotypen und damit **vier verschiedene mütterliche Linien!**

Am häufigsten kommt **D1** vor, was zu vorherigen Analysen passt.

Auch **E1** ist häufiger nachgewiesen und findet sich häufig in Europa.

Zusätzlich zu dem eher hundetypischen **Haplotyp A92** (Gutachten SU0076-24 A) wurden in den weiteren Proben noch die Haplotypen **B75** und **B47** nachgewiesen.

Damit ergeben sich nach Untersuchung aller Proben (Gutachten A und B) allein fünf **verschiedene, mitochondriale Haplotypen**. D.h., allein diese Bestimmung der **mitochondrialen DNA** weist auf **mindestens 5 verschiedene Tiere** aus fünf verschiedenen mütterlichen Linien hin.

Bei dieser Betrachtung muss zusätzlich bedacht werden, dass sämtliche Nachkommen eines solchen weiblichen Tieres einen identischen, mitochondrialen Haplotyp aufweisen.

Damit kann (unterschätzend) zusammengefasst werden, dass allein im Gutachten A **sechs verschiedene Tiere über die STR-Analyse** herausgefiltert werden konnten, hinzu kommt das Tier mit dem hundetypischen mitochondrialen Haplotypen, so dass sich hier eine Gesamtzahl von **mindestens sieben Tieren** ergibt.

Auch im B-Gutachten zeigen sich über die STR-Analyse **mindestens sechs eher 7 verschiedene Tiere**, wobei viele Proben von denselben Tieren stammen können (oder eng verwandten Tieren). Der Abgleich mit der mitochondrialen DNA weist dann auf **7 Tiere hin**.

Der Abgleich mit den Daten aus dem A-Gutachten ergibt damit insgesamt mindestens **10 verschiedene Tiere**. Diese Zahl muss aus wissenschaftlicher Sicht als untere Mindestgrenze angesehen werden.

Abschließend muss bemerkt werden, dass die hier untersuchte DNA aufgrund der Umstände (Stichwort: Minimalspur, Untergrund/Herkunft) in schlechter Qualität und Quantität vorliegt, was zu Veränderungen (Degradierung) führen kann. Daher könnten sowohl Allelverluste als auch –gewinne auftreten, die (geringen) Einfluss auf die oben angegebene Beurteilung haben könnten.



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_009v002):

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_12v001 und 13v001). 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_015v001). 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_016v001), 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_17_v001).

(10) Fragmentanalyse (SAA_014v001):

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_019v001, nicht aktuell akkreditiert):

In drei verschiedenen kommerziell erhältlichen bzw. durch die CaDNAP (Canine DNA Profiling in forensic casework) Gruppe der ISFG (International Society for Forensic Genetics) empfohlenen Multiplex-Kits können STR-Merkmale amplifiziert werden, die spezifisch für die Familie der Canidae sind. In diesem Gutachten werden diese zusätzlich zu dem Stockmarks Canine for Dogs Kit von Thermo Fisher eingesetzt, sodass insgesamt 22 autosomale und 2 gonosomale Marker 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 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 „reinerassigen“ 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 10 %. 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 6000 Hunden aus über 170 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=2100, 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.

(16) Analyse der mitochondrialen DNA (mtDNA, nicht akkreditiert):

Die mitochondriale DNA (mtDNA) wird bei Hunden als Ergänzung zur Assoziationsanalyse (nDNA), wenn z.B. nicht genügend (intakte) nukleäre DNA für die Erstellung eines genetischen, autosomalen Merkmalsmusters vorliegt. D.h., wenn DNA-Qualität und -Quantität nicht für eine Analyse der nukleären DNA ausreichen. Aufgrund der maternalen Vererbung der mitochondrialen DNA (mtDNA) lässt sich diese Methodik nur eingeschränkt nutzen und wird daher von uns ergänzend zur Analyse der nukleären DNA eingesetzt. Bei der Analyse der mtDNA werden ein 319 bp und-wenn möglich- ein 740 bp großes Fragment aus dem hypervariablen Bereich des mtDNA Genoms sequenziert (anlehnend an Gundry, et al. 2007, Schneider, Seo und Rittner 1999). Das resultierende Sequenzmuster wird im letzten Schritt mittels Alignment-Algorithmen analysiert und u.a. mit der NCBI Datenbank abgeglichen. Dieses Verfahren ist durch die Wahl der Primer spezifisch für die Familie der Canidae und ermöglicht durch einen Abgleich die Erstellung eines mtDNA Haplotyps und die maternale Zuordnung z.B. zu Hund oder Wolf. Bei der Haplotypzuordnung wird sich an der Arbeit von Thai et al, 2016 orientiert.

Die mitochondriale DNA (mtDNA) wird außerdem als zusätzliche Analyse zur Speziesidentifizierung eingesetzt. Bestimmte Bereiche dieser DNA sind bei den verschiedenen Spezies unterschiedlich, so dass über die Sequenzierung dieser Bereiche und dem anschließenden Abgleich der Sequenz mit Proben in einer internationalen Datenbank („Blast“, NCBI) überprüft werden kann, zu welcher Spezies die untersuchte Probe gehört. Hierbei wird ein ca. 148 bp großes Fragment im Bereich des Cytochrom B der mitochondrialen DNA sequenziert und mit der obengenannten Datenbank abgeglichen (siehe Lopez-Oceja et al.(2016)). So ist die genetische Unterscheidung verschiedener Säugetiere, Amphibien, Reptilien und Insekten bzgl. ihrer Art und z.T. auch Unterart möglich.

6.2 Verbleib

Die für die vorliegende Untersuchung benutzten Spurenlösungen werden gem. Verfahrensweisung FG_VA_008v001 Probengewahrsam wie folgt aufbewahrt:

Material	Aufbewahrung Entsorgung
Originäre Spuren (z.B. Sektionsasservate)	1 Jahr nach erfolgter Analyse und Gutachtenausgang
Extrahierte DNA aus obigen Spuren	s.o.
Mundschleimhautabstriche/Blut als VM	Sofortige Vernichtung nach Gutachtenausgang
Extrahierte DNA aus VM	s.o.
Spurenlösungen (Gegenstände) als VM in Identifizierungsfällen	4 Wochen nach Gutachtenausgang
Extrahierte DNA aus obigen Fällen	5 Jahre
Weitere Spurenlösungen/Abstriche diverse ohne spezielle Vereinbarung	2 Jahre
Extrahierte DNA aus obigen Spuren	5 Jahre

Diese Fristen gelten nicht, wenn seitens des Auftraggebers Einspruch eingelegt wird, bestimmte Abmachungen vorliegen oder, wenn es sich um Analysen im Rahmen eines Tötungsdeliktes oder anderer Kapitaldelikte handelt. Diese Proben werden langfristig asserviert.