Thema: Die Haplotypisierung des Y-Chromosoms – Grundlagen und Anwendungen einer neuen molekulargenetischen Identifizierungsmethode

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach:
Experimentelle Rechtsmedizin/ Forensische Genetik

vorgelegt dem
Rat der Medizinischen Fakultät
der Humboldt-Universität zu Berlin (Charité)

von
Dr. rer. nat. Lutz Roewer
geb. am 04.08.1961 in Rostock

Präsident: Prof. Dr. Jürgen Mlynek

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

eingereicht am: 28. 08. 2000
Öffentlicher Vortrag am: 29. 05. 2001

Gutachter:

1. Prof. Dr. Walter Bär (Zürich)
2. Prof. Dr. Jörg Schmidtke (Hannover)

Meiner Familie gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

I Ausführliche Zusammenfassung der publizierten Forschungsergebnisse 1

1 Einführung 1
1.1 Aktuelle Strategien der forensischen DNA-Untersuchung 2
1.2 Die geschlechtsspezifische Untersuchungsstrategie – Nachweis und Identifizierung männlicher DNA 4
2 Tandem-repetitive DNA-Sequenzen des Y-Chromosoms 7
2.1 Charakterisierung des ersten Y-chromosomalen STR-Markers 9
2.2 Evaluation weiterer forensisch und anthropologisch relevanter Y-chromosomaler STRs 11
2.3 Mutationsraten von heterosomalen und autosomalen STR-Sequenzen im Vergleich 15
3 Populationsgenetik von Y-chromosomalen Haplotypen 18
4 Die Europäische Y-STR Haplotypen Referenz-Datenbank 22
5 Die Anwendung der Y-STR Haplotypisierung in der forensischen Diagnostik 24
6 Die Anwendung der Y-STR Haplotypisierung in der evolutionären Anthropologie 28
6.1 Y-chromosomale Haplotypisierung durch SNP- und STR-Analyse 29
6.2 Populationsgenetische Analyse durch Kombination paternal, maternal und biparental vererbter DNA-Polymorphismen 31
6.3 Weitere Y-chromosomale Marker singulären Ursprungs für die Haplotypisierung 35
7 Abschließende Diskussion und Ausblick 37
8 Abkürzungsverzeichnis 39

II Publikationen zur ausführlichen Zusammenfassung
III Verzeichnis sämtlicher Publikationen
IV Verzeichnis sämtlicher Vorträge und Poster
V Verzeichnis sämtlicher Buchbeiträge

I Ausführliche Zusammenfassung der publizierten Forschungsergebnisse

1 Einführung

Vor nunmehr 15 Jahren beschrieb Alec J. Jeffreys die individualisierende DNA-Analyse, den „Genetischen Fingerabdruck“, eine Methode, deren Anwendung die forensische Diagnostik revolutioniert hat und die auch in vielen anderen Disziplinen zum Methodenspektrum gehört (Jeffreys et al., 1985, Nature 314: 67-73 und 316: 76-79). Mehrere technologische Entwicklungssprünge, zu nennen sind die Multilokus-Analyse mit Oligonukleotidsonden (Ali et al., 1986, Hum Genet 74: 239-243; für Anwendungen siehe [1-6]), die Einzellokus-Analyse mit VNTR (*variable number of tandem repeats*) - Sonden (Wong et al., 1986, Nucl Acids Res 11: 4605-4616) und die Einzellokus-Analyse via PCR (Jeffreys et al., 1988, Nucl Acids Res 16: 10953-10971; für Anwendungen siehe [3-6]), folgten rasch aufeinander und führten zu einer immer effizienteren Darstellung der Variabilität des humanen Genoms, die höchsten Ansprüchen der Rechtsmedizin und Kriminalistik, aber auch der Transplantationsmedizin, Mikrobiologie, Tier- und Pflanzenzüchtung u.a. angewandter Fächer genügt. Das Verfahren, besser bekannt unter den Begriffen *Genetic Fingerprinting* oder *DNA-Profiling*, hat vor allem der forensischen Spurenanalyse einen erheblich gesteigerten Stellenwert im Strafverfahren verschafft. Auch in zivilrechtlichen Streitfällen ist der DNA-Beweis heute akzeptiert, hier vor allem bei Abstammungsbegutachtungen. Überlegen ist die DNA-Analyse herkömmlichen serologischen Verfahren vor allem durch die Hypervariabilität extragener DNA-Sequenzen, namentlich der repetitiven Strukturelemente, die das humane Genom durchsetzen und ein unerschöpfliches Reservoir differenzierender Marker bilden. Ein zweiter wichtiger Grund für die rasche Verdrängung von Blut- und Serumgruppenuntersuchungen zugunsten der Genom-Analyse im forensischen Labor ist die Reaktionsträgheit der DNA-Moleküle, die eine erfolgreiche Analyse auch aus gelagerten, fixierten, gefärbten oder *post mortem* veränderten Gewebsproben ermöglicht. Drittens sind eine um Größenordnungen gesteigerte Sensitivität, die Zeitersparnis sowie die vollständige Automatisierbarkeit der Nachweistechnik zu nennen, wichtige Fortschritte, die insbesondere der schrittweisen Einführung der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) zu Beginn der neunziger Jahre zu verdanken sind.

Das Genetische Fingerabdruckverfahren ist seit seiner Entdeckung technisch verändert worden, unangetastet trotz des Tempos der „Modernisierung“ ist das

Grundprinzip geblieben: die eindeutige Individualisierung der zu untersuchenden DNA einer Person. Unverändert gültig ist auch der Grundsatz, daß ein „Genetischer Fingerabdruck“, sofern er im Straf- oder Zivilverfahren zur Identifizierung eingesetzt wird, keine persönlichkeitsrelevanten Informationen aus codierenden DNA-Sequenzen enthalten darf. Die von Jeffreys zuerst angewandten genomischen Marker, die tandem-repetitiven DNA-Sequenzen, entsprechen diesen Anforderungen bis heute am besten, wenn auch neueste Entwicklungen, beispielsweise die „Biochip-Technologie“ zur Untersuchung einer Vielzahl binärer Punktmutationen, an praktischer Bedeutung gewinnen werden.

Das Strukturprinzip der tandem-repetitiven DNA-Fraktion ist die Aneinanderreihung identischer oder homologer Sequenzmotive bei gleicher Orientierung. Der genetische Polymorphismus entsteht durch die interindividuell variierende Zahl der Motivwiederholungen, die daraus resultierenden Längendifferenz des betreffenden repetitiven DNA-Abschnittes ist die Meßgröße für die Laboruntersuchung. Tandem-repetitive DNA-Sequenzen können – absteigend nach Motivgröße und Wiederholungszahl - in unterschiedliche Kategorien eingeteilt werden: Satelliten-, Minisatelliten und Mikrosatelliten-DNA (Tautz, 1993, in DNA Fingerprinting: State of the Science, Herausgeber: S.D.J. Pena, R. Chakraborty, J.T. Epplen, A.J. Jeffreys, Birkhäuser Verlag, Basel, pp. 21-28). Forensisch von überragender Bedeutung sind dabei via PCR auch aus degradierter DNA effektiv zu amplifizierende Sequenzen im kurzen Fragmentlängenbereich, die Mikrosatelliten-DNA oder „*short tandem repeats* (STRs)“. Die konstituierenden Motive („Repeats“) sind hier zwischen 2-7 bp lang bei einer 10-100fachen Repetition pro Lokus. STRs sind gleichmäßig über das eukaryonte Genom verstreut, beim Menschen wird ihre Zahl auf über 100.000 geschätzt (Kunkel et al., 1997, Cell 88: 155-158). Damit hat die STR-Fraktion einen Anteil von 0.2 – 0.5% am gesamten humanen Genom, dessen Identität sich schon an einigen wenigen dieser Sequenzen schnell und sicher bestimmen läßt.

1.1 Aktuelle Strategien der forensischen DNA-Analytik

Bei forensisch-molekularbiologischen Untersuchungen zu Identität und Vererbung können verschiedene Wege beschritten werden, wobei das strategische Ziel, die maximale Beweiskraft der Analyse, über die Vorgehensweise entscheidet. Universelle

Methode sowohl für die forensische Spurenanalyse, die Identifikation unbekannter Toter und die Paternitätsfeststellung ist derzeit die simultane Darstellung mehrerer STR-Loci nach einer sog. Multiplex-PCR und Kapillarelektrophorese. Das so erzeugte komplexe Allelmuster oder DNA-Profil, bestehend aus 9-13 Markern, ist quasi ein im Fragmentlängenbereich von 100 bp - 350 bp „nachgebauter“ klassischer Multilokus-Fingerprint (6-30 kb) [1,2], der die simultane Hybridisierung von relativ langen Minisatelliten-Fragmenten durch die Amplifikation mehrerer kurzkettiger STRs ersetzt. Das resultierende STR-Profil ist bei Verwendung geeigneter Marker individualisierend, wobei die Analyse schon bei DNA-Mengen von 1 ng und darunter gelingt, selbst wenn die Erbsubstanz bereits stark degradiert ist. Die Analyse kann im Anschluß an die DNA-Extraktion in wenigen Stunden durchgeführt werden. Jedes einzelne STR-System ist mit einer Heterozygotierate von 0.5 - 0.8 deutlich weniger informativ als eine Sequenz vom Minisatelliten-Typ, aus denen der klassische Multilokus-Fingerprint besteht. Die Zahl der untersuchten STRs kann jedoch beliebig erhöht und dem Untersuchungsziel angepaßt werden. Die begrenzte Zahl lokus-spezifischer STR-Allele erlaubt die Ermittlung realistischer Frequenzwerte in der relevanten Population und damit die Berechnung der erwarteten Frequenz des kompletten Genotyps über alle Loci mittels Extrapolation. Das Gefährdungspotential kontaminierender DNA, das jede PCR-Analyse begleitet, kann durch die Identifizierbarkeit aller humanen DNA-Profile (z.B. aller mit der Untersuchung befaßter Personen) in Grenzen gehalten werden.

Die meisten Spuren- und Gewebsuntersuchungen sowie die Mehrzahl der Paternitätsuntersuchungen (sog. „Triofälle“) können mit dieser Methode abschließend untersucht werden. Ist die Zellzahl allerdings extrem gering oder hat Degradation zum Zerfall der DNA-Moleküle in Fragmente < 150 bp geführt (z.B. auch formalinfixiertes Leichengewebe, exhumierte Knochen) gelingt mit der STR-Methode keine Typisierung mehr. Bei entsprechend aufwendiger Laborausstattung kann in diesem Fall auf die mitochondriale DNA-Fraktion (mt-DNA) zurückgegriffen werden. Der somatische Zellkern enthält nur zwei Kopien einer jeden nukleären, aber 10^3 bis 10^4 Kopien jeder mitochondrialen DNA-Sequenz. Die höhere Zahl identischer Zielmoleküle impliziert, daß die Analyse der mt-DNA erheblich sensitiver ist als diejenige der Kern-DNA. Die mitochondriale DNA des Menschen ist ein zirkuläres Molekül von 16.569 bp Länge. Dessen nicht-codierende Kontrollregion enthält hypervariable Sequenzen (insbesondere HV1 und HV2) deren Substitutionsrate 5-10 mal höher ist als diejenige des nukleären Genoms. Durch Sequenzierung kann die Variabilität der Kontrollregion

zwischen Individuen dargestellt und für die individualisierende DNA-Untersuchung extrem problematischer Asservate (z.B. Haarschäfte, exhumierte Knochen) ausgenutzt werden. Da mitochondriale DNA maternal vererbt wird, Geschwister also immer identische mt-DNA-Sequenztypen besitzen, können einige Defizienzfälle mit dieser Untersuchungsmethode entschieden werden. Nicht nur die Untersuchungstechnik (Sequenzierung versus Fragmentanalyse) weicht von der STR-Analyse ab, grundsätzliche Unterschiede bestehen auch bei der statistischen Bewertung (Identitäts- bzw. Nichtausschlußwahrscheinlichkeit) der Untersuchungsergebnisse die aus haploiden Anteilen des Genoms resultieren. Zu diesen zählt neben der mt-DNA der größte Teil des Y-Chromosoms, dessen Bedeutung in der forensischen Diagnostik für die Geschlechtsbestimmung und Identifizierung männlicher Individuen bzw. männlicher Erblinien stetig zunimmt.

Bereits in den siebziger Jahren war die mikroskopische Bestimmung des chromosomalen XY-Dimorphismus forensisch relevant, und auch die individuell variierende Länge des heterochromatischen Blocks auf dem langen Arm des Y-Chromosoms wurde als grobes Unterscheidungsmerkmal zwischen Männern genutzt. Der Einzug der Molekularbiologie in das forensische Labor hat auch auf diesem Gebiet weit zuverlässigere und einfachere Lösungen ermöglicht. Der Geschlechtsnachweis wird heute durch die Amplifikation einer kurzen Sequenz mit unterschiedlich langen Homologa auf X- und Y-Chromosom routinemäßig geführt (Sullivan et al., 1993, Biotechniques 15: 636). Ungleich bedeutender ist jedoch die Unterscheidung und individuelle Zuordnung männlicher DNA insbesondere für die Aufklärung von Straftaten. Die systematische Entwicklung und erfolgreiche weltweite Etablierung der Methode zur Individualisierung männlicher Genome mittels STR-Marker des Y-Chromosoms („Männlicher Genetischer Fingerabdruck“) ist Gegenstand dieser Arbeit.

1.2 Die geschlechtsspezifische Untersuchungsstrategie – Nachweis und Identifizierung männlicher DNA

Der Sinn einer separaten Untersuchung männlicher DNA ergibt sich aus der polizeilichen Kriminalstatistik. Schlüsselt man die begangenen Straftaten gegen Leib und Leben (Mord, Totschlag, Gefährliche und Schwere Körperverletzung, Vergewaltigung, Sexueller Mißbrauch) nach dem Geschlecht der ermittelten strafmündigen Tatverdächtigen auf, so ergibt sich ein Verhältnis von Männern zu

Frauen von 8:1 (Statistisches Jahrbuch der Bundesrepublik Deutschland 1999, herausgegeben vom Statistischen Bundesamt Wiesbaden). Dabei werden Vergewaltigungen zu mehr als 99% und sexueller Mißbrauch von Kindern zu mehr als 97% von Männern begangen. In der Mehrzahl der Fälle wird also eine biologische Spur, die am Tatort vom Täter hinterlassen wird, bei der Y-chromosomalen Analyse informativ sein. Nicht nur eine Alternative sondern Methode der Wahl ist die individualisierende Y-chromosomale STR-Analyse bei Straftaten gegen die sexuelle Selbstbestimmung der Frau: bei Vergewaltigungen werden Abstrichpräparate vom Scheideneingang, Scheidengewölbe oder Zervix uteri, sowie bei Verdacht auf Analverkehr vom Anus, evtl. auch aus dem Rektum, bei Verdacht auf Oralverkehr von der Wangenschleimhaut entnommen. Alle diese Abstrichpräparate können Spermien oder andere Zellen des Täters enthalten und werden deshalb immer einer DNA-Analyse unterzogen. Die extrem ungleiche Mischung weiblicher und männlicher Zellen (oft im Verhältnis 100 : 1 oder höher) stellt dabei ein grundsätzliches Problem bei der Interpretation der generierten DNA-Profile dar, weil männliche Allele von denen des Opfers überlagert sind (Abb. 1).

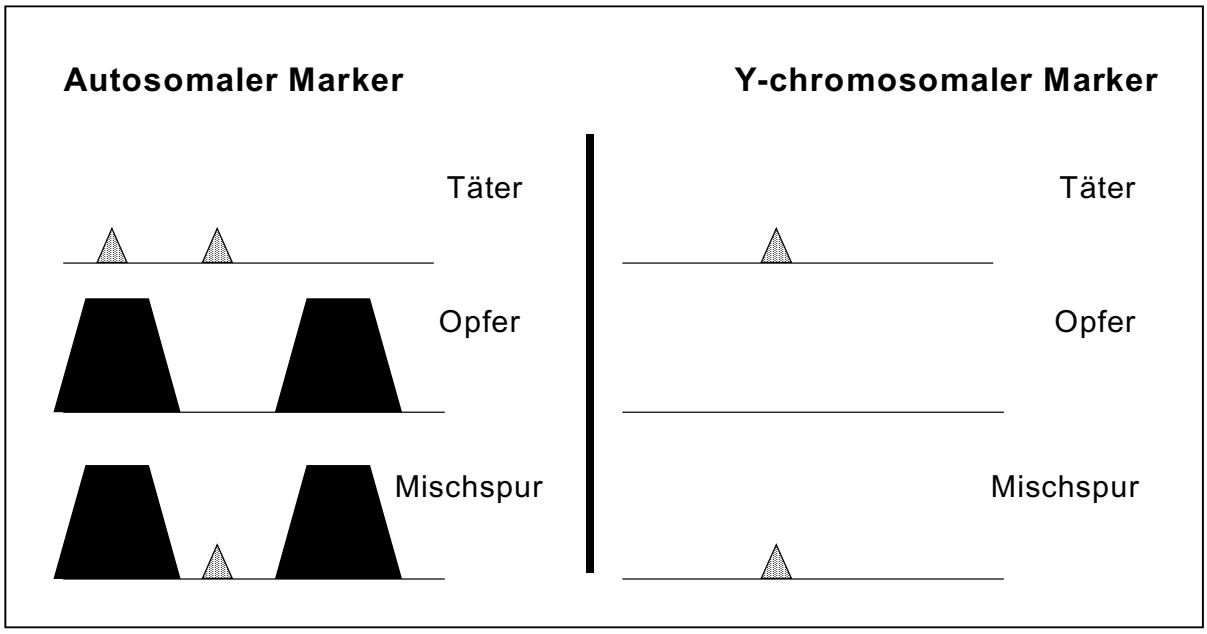

Abb. 1 Schematische Darstellung einer Mischspur-Analyse (weibliche und männliche Zellen) mit autosomalen und Y-chromosomalen STR-Markern

Durch Konkurrenz um die Primer wird zusätzlich die Amplifikation der niedriger konzentrierten Mischungskomponente, hier der männlichen DNA, beeinträchtigt oder verhindert. Das seit 1985 etablierte Verfahren der „differentiellen Lyse“ (Gill et al., 1985, Nature 318: 577-579), das aufgrund unterschiedlicher Membranstrukturen eine weitgehende Trennung von Spermien einerseits und allen anderen Zellfraktionen andererseits ermöglicht, hat Nachteile: die Entmischung ist nicht quantitativ, nur Spermienköpfe, nicht aber andere Zellen werden separiert, geringkonzentrierte Spermienfraktionen gehen häufig verloren. Eine Y-chromosomale Analyse selektiert hingegen, nach schonender Extraktion der gesamten DNA-Fraktion aus einem Asservat, männliche DNA verlustfrei während der PCR. Die weibliche DNA stellt dabei kein konkurrierendes Substrat dar, so daß die männliche DNA-Fraktion mit größtmöglicher Effizienz amplifiziert und ohne Zusatzbanden separat dargestellt wird. Die Zuordnung der männlichen Allele kann dann einen oder mehrere Tatverdächtige identifizieren oder ausschließen. Häufig finden sich überhaupt keine Spermien in Sekretspuren, die bei Vergewaltigungen gesichert werden (fehlende Ejakulation beim Täter, zunehmende Zahl der Vasektomien, Verwendung von Kondomen). Wenige männliche Epithelzellen stellen dann das einzige Substrat für eine DNA-Analyse dar, die in diesem Fall von vornherein mit Y-STR Markern durchgeführt werden sollte.

Die STR-Analyse des Y-Chromosoms kann in einem zweiten forensischen Anwendungsgebiet, der Abstammungsbegutachtung, ebenfalls entscheidende Sachbeweise liefern. Der paternale Erbgang des Y-Chromosoms führt dazu, daß es – mit Ausnahme der beiden telomer lokalisierten pseudoautosomalen Regionen – unverändert von Generation zu Generation innerhalb einer väterlichen Erblinie weitergegeben wird. Ist ein beklagter Mann für die Vaterschaftsfeststellung nicht verfügbar, handelt es sich also um einen sogenannten Defizienzfall (5-10% des Aufkommens mit steigender Tendenz), kann durch die Untersuchung eines beliebigen männlichen Blutsverwandten, die Zugehörigkeit des männlichen Kindes zu der fraglichen väterlichen Erblinie bestätigt oder ausgeschlossen werden (Abb. 2). Auch Archäologie und historische Forschung profitieren heute von der Möglichkeit, mittels empfindlicher Y-chromosomaler STR-Analyse patrilineare Verwandtschaft festzustellen und damit Stammbäume über viele Generationen zu rekonstruieren.

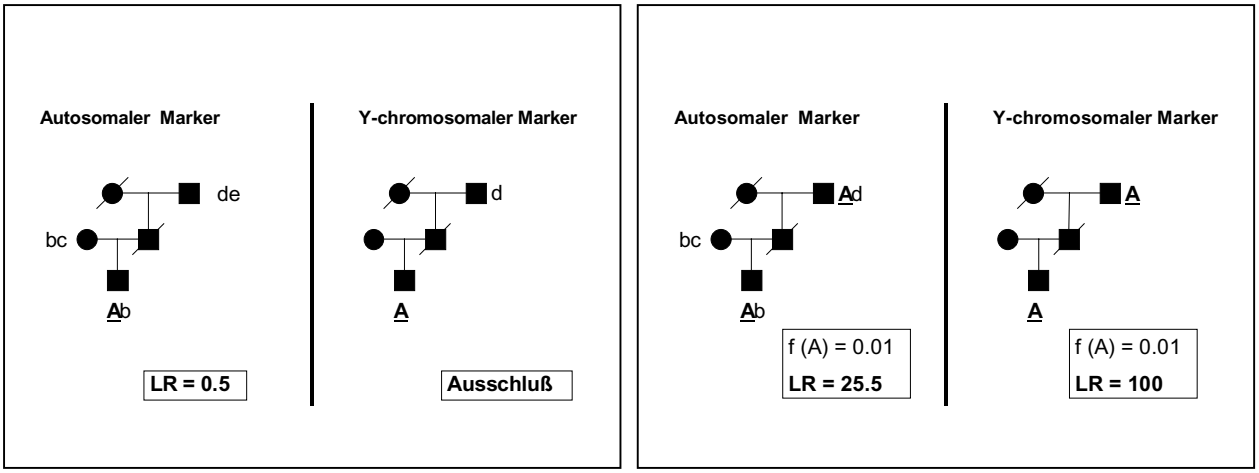

Abb. 2 Schematische Darstellung von Paternitätsanalysen (Defizienzfälle) mit autosomalen und Y-chromosomalen STR-Markern (LR = *likelihood ratio*, f = Frequenz von Allel A)

2 Tandem-repetitive DNA-Sequenzen des Y-Chromosoms

Das Y-Chromosom ist mit ca. 60 Mb das zweitkleinste menschliche Chromosom. Vermutlich ist es ursprünglich aus einem von zwei isomorphen Autosomen entstanden, welches im Laufe der Evolution einen geschlechtsbestimmenden Lokus erwarb (Ohno, 1967, Sex chromosomes and sex-linked genes. Springer, Berlin Heidelberg New York). Der Selektionsdruck zugunsten des heterogametischen Geschlechts führte zur Unterdrückung der Rekombination für den größten Teil der DNA-Sequenz und hatte die schrittweise Differenzierung der Proto-Geschlechtschromosomen zur Folge (Graves, 1995, BioEssays 17: 311-320). Durch eine Reihe von Deletionen verlor das männliche Y-Chromosom zunehmend an Größe. Das rezente humane Y-Chromosom enthält noch einen euchromatischen Anteil von ca. 30 Mb Länge, welcher den kurzen Arm (Yp), das Zentromer und den proximalen Anteil des langen Arms (Yq) umfaßt. In diesem Abschnitt sind diejenigen Gene lokalisiert worden, die für die männliche Geschlechts-Determinierung und die Spermatogenese verantwortlich sind. Die fehlende homologe Rekombination führte jedoch nicht nur zum Sequenzverlust, sondern auch zur unbalancierten Produktion großer Kopienzahlen repetitiver DNA, z.B. durch Schwester-Chromatid-Austausch (Charlesworth et al. 1994, Nature 371: 215-220). Diese transkriptionsinaktive DNA bildet den Hauptbestandteil des großen Heterochromatin-Blocks auf dem distalen langen Arm (Yq), sein Anteil an der Gesamtlänge des Y-

Chromosoms kann 60% erreichen, bei anderen gesunden Männern dagegen praktisch vollständig fehlen.

Nahezu zwei Drittel des gesamten Y-Chromosoms werden von einem DNA-Typ strukturiert, der auch das Gros seiner repetitiven Sequenzen umfaßt: die Satelliten-DNA. Die traditionelle Bezeichnung rührt daher, daß sich bei einer Dichtegradienten-Trennung hochrepetitive DNA in einer eigenen Fraktion („Satellit") konzentrieren läßt, die sich deutlich von der Hauptfraktion der DNA unterscheidet (Britten & Kohne, Science, 1968, 161: 529-540). „Satelliten"-DNA ist ein typischer funktionaler Bestandteil chromosomaler Zentromere. Die entsprechende Struktur des Y-Chromosoms – DYZ3 – ist durch ein millionenfach wiederholtes Basiselement von 171 bp gekennzeichnet (Wolfe et al., 1985, J Mol Biol 182: 477-485). Tausende Kopien der Satelliten DYZ1 (3.4kb Basismotiv) und DYZ2 (2.47 kb Basismotiv) bilden das Heterochromatin des distalen Yq, sie sind aber auch in anderen Abschnitten des Y-Chromosoms nachweisbar (Miller et al., 1984, Cytogenet Cell Genet 37: 176-205). Weitere repetitive DNA-Sequenzen dieses Typs aber mit geringerer Kopienzahl - DYZ4 und DYZ5 – sind auf Yp lokalisiert (Vergnaud et al. 1986, Am J Hum Genet 38: 109-124; Müller et al. 1986, Nucleic Acids Res 14: 1325-1340).

Tandem-repetitiv aufgebaute Minisatelliten finden sich mit Ausnahme der auch forensisch und anthropologisch interessanten hochvariablen Loci MSY1 (Jobling et al. 1994, Cytogenet Cell Genet 67: 390) und MSY2 (Bao et al. 2000, Gene 244: 29-33) vor allem in den pseudoautosomalen Regionen (PAR) der Telomere und spielen hier möglicherweise eine Rolle bei der Initiation der auf diese Abschnitte beschränkten meiotischen Rekombination mit dem X-Chromosom (Rappold 1993, Hum Genet 92: 315-324).

Der erste PCR-fähige Y-chromosomale STR-Polymorphismus ist erst 1992 detailliert beschrieben worden [7]. Dabei war die Anwesenheit von Vertretern der Sequenzfamilie $(GATA)_n/(GACA)_m$ auf dem humanen Y-Chromosom bereits vorher durch Hybridisierungsexperimente nachgewiesen worden (Arnemann et al. 1986, Hum Genet 73: 301-313). Ziel dieser Experimente war zu jener Zeit jedoch nicht die Untersuchung der Variabilität der einzelnen Repeatblöcke, sondern der Nachweis einer möglichen geschlechtsdeterminierenden Rolle solcher repetitiven Sequenzen, die bei einigen Vertebraten auf den männlichen Geschlechtschromosomen auffällig konserviert sind (Singh et al. 1981, Cold Spring Harbour Sym Quant Biol 45: 805-813; Epplen et al. 1982, Proc Natl Acad Sci USA 79: 3798-3802). Diese Theorie konnte jedoch nicht

bewiesen werden, und spätestens seit der Entdeckung des SRY-Gens (*sex-determining region Y gene*; Sinclair et al. 1990, Nature 346: 240-244) trat die Beschäftigung mit den STR-Sequenzen des Y-Chromosoms unter diesem Blickwinkel wieder in den Hintergrund. Erst mit dem wachsenden forensischen Interesse an STR-Polymorphismen, das Anfang der neunziger Jahre einsetzte und in kurzer Zeit diesen DNA-Typ zum universellen Werkzeug der identifizierenden Genomanalyse werden ließ, nahm die Forschung zu den Polymorphismen des Y-Chromosoms einen neuen Aufschwung. Ganz entscheidend trug dazu bei, daß diese Polymorphismen nicht nur einen forensischen Zweck zu erfüllen versprachen, sondern, aufgrund der patrilinearen Vererbung bei langsamer Akkumulation von Mutationen, Aufklärung für eine Reihe von Fragen der Anthropologie und Evolutionsforschung erwarten ließen (s. Kap. 6).

2.1 Charakterisierung des ersten Y-chromosomalen STR-Polymorphismus

Beim Screening einer (zytologisch definierten) Y-spezifischen Cosmid-Bank, die aus der Mensch/Maus-Hybrid-Zellinie 3E7 (Cooke et al. 1984, Nature 311: 259-261) hergestellt wurde, ist auf dem Cosmidklon cos27 (als wahrscheinliche Lokalisation galt Yp; Arnemann et al., 1986, Hum Genet 73: 301-303) durch Hybridisierung mit einer $(GATA)_4$ - Oligonukleotid-Sonde eine komplementäre repetitive Sequenz der Struktur $(CTAT)_{13\text{-}16}$ identifiziert worden [7]. Nach Etablierung eines geeigneten, mit Blick auf die forensische Anwendung konzipierten PCR-Systems (Fragmentlängen ca. 200 bp) wurde durch Amplifikation männlicher und weiblicher DNA die Lokalisation des Mikrosatelliten im nicht-rekombinierenden Anteil des Y-Chromosoms bestätigt. Mittels *Radiation Hybrid Mapping* wurde später die Position des als DYS19 bezeichneten STR zwischen den STS (*sequence tagged sites*) DYS255 und DYS257 auf Yp gesichert (Dissertationsschrift Manfred Kayser, 1998, Humboldt-Universität Berlin). Im Ergebnis der ersten Populationsstudie sind vier Allele mit Frequenzen von 0.13, 0.17, 0.23 und 0.47 festgestellt worden [7]. In den folgenden Jahren führten weltweit ausgedehnte Untersuchungen zur Entdeckung von 6 weiteren Allelen an diesem Lokus [8,10].

Im Jahre 1992, als dieser erste Y-chromosomale STR unter dem Namen 27H39LR (DYS19) publiziert wurde, waren erst ca. 150 autosomale Marker diesen Typs bekannt. Zwei davon, 4815LR (D12S67) und 4804LR (D12S66) wurden vom Autor ebenfalls mit $(GATA)_4$-Oligonukleotid-Sonden in translozierten autosomalen Sequenzen der 3E7 Zellinie detektiert und auf dem humanen Chromosom 12 lokalisiert [7]. Bei der

Ermittlung der Allelfrequenzen in einer ostdeutschen Population [7,8] wurden für den Y-chromosomalen wie für die autosomalen $(GATA)_n$-Loci vergleichbare, mit der Motivwiederholungszahl korrelierte Häufigkeiten festgestellt (D12S67: $(GATA)_{22-32}$ - 11 Allele; D12S66: $(GATA)_{8-16}$ - 9 Allele; DYS19: $(GATA)_{13-17}$ - 5 Allele). Dabei zeigten die ununterbrochenen Repeats der Loci DYS19 und D12S66 eine geringere Zahl von Allelen als der Lokus D12S67, der einen aus zwei Repeats zusammengesetzten, unterbrochenen variablen Block enthält. Da infolgedessen hier Mutationsmechanismen an verschiedenen repetitiven Sequenzen angreifen, die Alleldefinition aber ausschließlich über die Gesamtzahl der Motive, und davon abgeleitet, der Gesamtlänge des Amplicons erfolgt, ist eine „flache“, häufig auch „bimodale“ Allelverteilung mit mehreren häufigen und mehreren seltenen Merkmalen die Konsequenz. „Einfache“ Repeats, die homogen, also in ununterbrochener Folge aus denselben dimeren oder tetrameren Einheiten zusammengesetzt sind, zeigen dagegen i.d.R. eine Normalverteilung der Allele in der Population. Diese ist gekennzeichnet durch ein meist deutlich dominierendes Allel mittlerer Länge und kürzeren und längeren Allelen mit um so niedrigerer Frequenz je deutlicher die Zahl der repetitiven Motive von derjenigen des „modalen“ Allels abweicht, eine Folge des schrittweisen und bidirektionalen Mutationsmechanismus, der das *precursor allele* jeweils nur um ein Motiv verlängert oder verkürzt. In dieser Hinsicht zeigten die Loci des Y-Chromosoms und die des Chromosoms 12 völlig übereinstimmende Eigenschaften.

Die Sonderrolle, die das haploide Y-Chromosom in der Evolution spielt, hat also offensichtlich keine Auswirkungen auf die Variabilität seiner tandem-repetitiven Mikrosatelliten-Loci. Wiederum wurde belegt, daß ein rekombinationsunabhängiger, intrahelikaler Mutationsmechanismus für die variierende Repeatzahl bei „stabilen“ Mikrosatelliten verantwortlich ist (Schlötterer & Tautz,1992, Nucleic Acids Res 20: 211-215). Falls durch Populations- oder *hitchhiking*- Effekte („selective sweep“; Jobling et al., 1998, Curr Biol 8(25): 1391-1394) Y-chromosomale Sequenzen selektiert werden, so scheint die Mutationsrate an Mikrosatelliten-Loci hoch genug zu sein, um etwa verlorengegangene Allelvarianten durch *replication slippage* Mechanismen *de novo* zu synthetisieren (s. Kap. 2.3).

2.2 Evaluation weiterer forensisch und anthropologisch relevanter Y-chromosomaler STRs

Ein einzelnes Y-chromosomales STR-System wie DYS19 kann in der forensischen Diagnostik vor allem zwei Aufgaben erfüllen: es kann erstens männliche DNA nachweisen und es kann zweitens einen Mann von dem Verdacht der Begehung einer Straftat oder von der Vaterschaft zu einem männlichen Kind ausschließen. Darüber hinaus kann die Einbeziehung eines Y-chromosomalen Merkmals in einer Nichtausschlußkonstellation vor dem Hintergrund bereits generierter autosomaler Daten den Wahrscheinlichkeitswert erhöhen. Dies ist insofern eine zielgerichtete Gutachtenerweiterung, als ein übereinstimmendes Y-chromosomales Allel zwischen Spur und Vergleichsperson oder Kind und Putativvater im Gegensatz zu festgestellten autosomalen Merkmalen lediglich mit der einfachen Frequenz in die jeweilige Berechnung eingeht. Diese bereits von Chakraborty im Jahre 1985 (Am J Hum Genet 21: 297-305) beschriebene höhere Effizienz Y-chromosomaler gegenüber autosomaler Systeme zeigte sich bei der Auswertung von 125 Vaterschaftsgutachten am Institut für Rechtsmedizin der Humboldt-Universität, Berlin: In 125 Trio-Fällen (Mutter-Kind-Putativvater) wurden von 39 festgestellten Vaterschaftsausschlußkonstellationen 31 mit DYS19 erkannt (69%), während mit dem hochinformativen STR-System D12S67 nur 51% der Ausschlüsse detektiert wurden. Der Wert für den *polymorphism information content (PIC)*, welcher die aus der Allelverteilung resultierende Informativität eines Lokus beschreibt, liegt jedoch mit 0.8 für D12S67 deutlich höher als derjenige von DYS19 (0.65) [7]. Trotz einer vergleichsweise geringeren Variabilität, nur aufgrund der Hemizygotie des DYS19-Lokus kommt also ein beachtlicher Informationsgewinn zustande.

Eine extrem gesteigerte Informativität kann natürlich von einer größeren Zahl polymorpher Y-chromosomaler STR-Systeme erwartet werden, die aufgrund der vollständigen Kopplung *en bloc* als Haplotyp in väterlicher Linie vererbt werden. Nach Zahl und Diskriminationsfähigkeit der einzelnen STR-Systeme richtet sich die Informativität des Y-STR-Haplotyps, dessen modularer Aufbau eine optimale Anpassung an die verfolgten Zwecke erlaubt. Die Haplotypisierung liefert Informationen über die Herkunft und die Verwandtschaft von Y-Chromosomen und damit über die Identität der Männer, deren Geschlecht sie bestimmen.

Das Potential Y-chromosomaler Haplotypen zur Identifizierung paternaler Erblinien wurde bereits in den 80er Jahren erkannt (Casanova et al., 1985, Science

230: 1403-1406). Oakey und Tyler-Smith (1990, Genomics 7: 325-330) nutzten hypervariable α-Satelliten-Sequenzen um mittels RFLP-Technik den Versuch zu unternehmen, die wesentlichen europäischen Patrilinien zu identifizieren. Mathias et al. (1994, Hum Mol Genet 3: 115-123) bezogen als erste Mikrosatelliten vom Typ $(CA)_n$ in die Haplotypisierung ein und prägten den Begriff *compound haplotyping* für eine Strategie der Einbeziehung von Polymorphismen unterschiedlicher molekularer Struktur und Variabilität. Die eingeschränkte Zahl verwendbarer Marker und vor allem der Mangel an reproduzierbaren Untersuchungsmethoden verhinderten jedoch nachhaltige Fortschritte auf diesem Gebiet.

Mit dem Ziel die Zahl evaluierter Y-STR-Marker zu erhöhen und einen forensischen Haplotypisierungs-Standard einzuführen, wurden die großen Gendatenbanken nach folgenden Kriterien durchmustert: 3-4 bp-Motive, Spezifität für das Y-Chromosom, *gene diversity* ≥ 0.5, eindeutige Allelbestimmung. Von den in Datenbanken vorhandenen Mikrosatelliten-Sequenzen ließen sich bei Anwendung stringenter PCR-Protokolle schließlich 14 Marker Y-spezifisch amplifizieren, von denen 8 alle genannten Kriterien erfüllten: neben DYS19, die tetrameren STRs DYS385, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391 und DYS393 und der Trinukleotid-Marker DYS392. Die Loci DYS288, DYS388, DXYS156Y, YCAI, YCAII und YCAIII (DYS413) genügten dem oben definierten forensischen Anforderungsprofil nicht vollständig, wurden aber in die umfassende Evaluation einbezogen [9,10]. Die für 11 Loci durchgeführte Sequenzanalyse förderte überwiegend typische homogene Repeatstrukturen (7–30 Repeats) aber auch ungewöhnliche strukturelle Besonderheiten zutage. So finden sich am Lokus DYS389 vier getrennte Repeats (ABCD) in unmittelbarer Nachbarschaft. Überdies liegt eine Primerbindungssequenz dupliziert vor, wodurch zwei repetitive Fragmente DYS389I (CD) und DYS389II (ABCD) mit einer Längendifferenz von ca. 100 bp amplifiziert werden. Eine Besonderheit des Y-Chromosoms ist das Auftreten von duplizierten homologen Mikrosatelliten-Loci. Die vollständige Identität langer flankierender Sequenzen läßt vermuten, daß die Mikrosatelliten in *interspersed* oder tandem-repetitive DNA höherer Ordnung eingebettet sind. Vier der untersuchten Y-STR Sequenzen liegen konstitutiv dupliziert vor [9,10], ein Verweis auf die von Redundanz geprägte Struktur des Y-Chromosoms. Kartierungsexperimente mittels *radiation hybrid mapping* (M. Kayser, Dissertationsschrift 1998, Humboldt-Universität Berlin, pp. 74-76) zeigten eine Verteilung der Loci über die gesamte euchromatische Region des Y Chromosoms (Abb.

3). Alle duplizierten Loci (DYS385, DYS413, YCAII, YCAI) sind auf Yq lokalisiert. Die Lokalisation der Y-STRs wurde durch *deletion mapping* unabhängig bestätigt (Carvalho-Silva et al., 1999, J Mol Evol 49: 204-214).

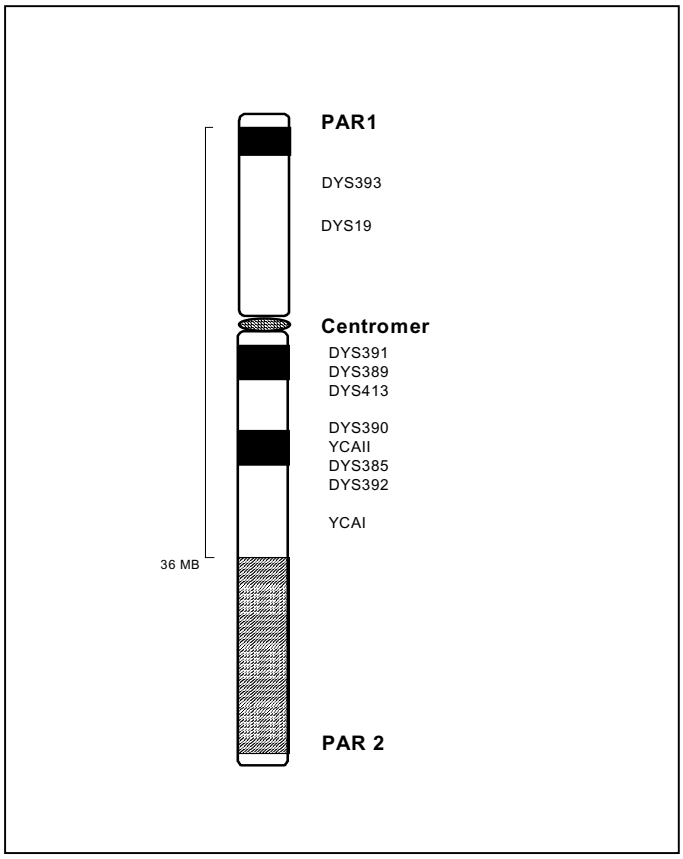

Abb. 3 Lokalisation von 10 Y-chromosomalen STRs

Um den im folgenden beschrieben Aufwand zur Evaluation forensisch einsatzfähiger STRs des Y-Chromosoms zu verstehen, ist es nötig zu wissen, daß viele Länder im Rahmen von Gesetzen und Richtlinien den akkreditierten Labors die Kriterien vorschreiben, nach denen neue DNA-Marker für gerichtlich relevante Untersuchungen verwendet werden können. Es erwies sich aus diesem Grund als sinnvoll, von vornherein eine möglichst umfassende internationale Zusammenarbeit anzustreben, um nationale Gegebenheiten bei der Evaluation gezielt zu berücksichtigen.

Ein erster wichtiger Schritt zur Etablierung der neuen geschlechtsspezifischen STR-Systeme in der forensischen Praxis war die konsequente Anwendung der international gültigen Nomenklaturkonvention herausgegeben von der *International Society of Forensic Genetics (ISFG)*. Diese empfiehlt die Allelbezeichnung auf der Grundlage der Zahl der den Polymorphismus konstituierenden Repeats. Durch

Sequenzierung der Fragmente in mehreren Referenzlabors konnte für alle Tetra- und Trinukleotid-STR-Loci des Y-Chromosoms eine ISFG-kompatible Nomenklatur festgelegt werden (publiziert in [10] und im Internet unter http://ruly/medfac/uni.leiden/). Die Sequenzierungsergebnisse bildeten die Grundlage für die Konstruktion sog. allelischer Leitern, die an nahezu 200 Labors weltweit verschickt wurden und zur Standardisierung der Analyseprotokolle dienten. Eine weitere Voraussetzung für die Etablierung der neuen Systeme im forensischen Labor sind – aufgrund fast immer limitierter Quantität und Qualität der zu untersuchenden DNA – sogenannte Multiplex-Protokolle für die simultane Amplifikation mehrerer STRs, um aus der verfügbaren DNA ein Maximum an Information zu generieren. Für das Y-Chromosom wurden Multiplex-Protokolle entworfen, die mittels Mehrfarbenfluoreszenzanalytik und Anordnung der Fragmente in nicht-überlappenden Längensegmenten eine eindeutige Identifizierung eines Y-Chromosoms mit nur 2 bzw. 3 PCR-Reaktionen im niedrigen Molekulargewichtsbereich und damit die Analyse degradierter DNA ermöglichten [9].

Die internationale Zusammenarbeit, organisiert im Rahmen der *„Forensic Y-User Workshops*“ in Berlin, bewährte sich dann bei der wichtigsten Aufgabe, der Bestimmung der STR-Allelfrequenzen in unterschiedlichen Populationen. Diese Daten sind Grundlage für die statistischen Berechnungen zur Identitäts- oder Nichtausschlußwahrscheinlichkeit, die wiederum den Kern gerichtlicher Gutachten darstellen. An der Ermittlung der Allelfrequenzen beteiligten sich 30 Labors aus 13 Ländern. 3825 männliche DNA-Proben aus 48 verschiedenen Subpopulationen Europas, Amerikas, Asiens, Afrikas und Ozeaniens wurden für einen oder mehrere Marker typisiert und lokusspezifische Frequenzen ermittelt [10].

Seit den Untersuchungen von Weber und May aus dem Jahr 1989 (Am J Hum Genet 44: 388-396) ist bekannt, daß der Polymorphiegrad der einzelnen Mikrosatelliten mit der Anzahl seiner Basismotive oder Repeats korreliert. Die längsten ununterbrochenen Motivketten aller Y-STR Sequenzen weisen DYS389II, DYS385 und DYS390 auf (n > 20), entsprechend hoch war hier die Zahl der nachgewiesenen Allele und die aufgrund der Allelfrequenzen berechnete *gene diversity*. Als das aus forensischer Sicht attraktivste Einzelsystem kristallisierte sich DYS385 heraus: nach PCR imponieren an diesem duplizierten Lokus Allelpaare, deren Kombinationsmöglichkeiten zu einer weit überdurchschnittlichen Variabilität führen. Ein ähnlich hohes Potential erbrachte die *Multicenter*-Studie für den duplizierten Lokus YCAII, dessen Sequenz von Matsumoto et al. 1999 aufgeklärt wurde (J For Sci 44: 588-

591). Mit der Kombination von 7 monolokalen STRs (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393) zum Haplotypformat Yh1 ließen sich in europäischen Populationen zwischen 74% und 90% aller untersuchten Männer unterscheiden (mittlere *haplotype diversity* h = 0.993 [17], kalkuliert nach Melton et al.1995, Am J Hum Genet 57: 403-414). Durch die sukzessive Erweiterung des Yh1-Formats mit DYS385, YCAIII (DYS413) und YCAII (Yh2-Yh4) ließen sich bei diesen ersten Untersuchungen ($n \leq 100$ je Population) bereits 100% aller unverwandten Männer identifizieren. Die Ergebnisse der Multicenter-Studie führten zur Empfehlung an die forensischen Labors, ein Haplotyp-Format auf Grundlage von Yh1 unter Einbeziehung von einem oder mehrerer hochinformativer duplizierter STRs zu evaluieren [9]. Dieses Panel Y-chromosomaler STR-Marker bildet heute den Laborstandard für die forensische Analyse des Y-Chromosoms (s. Kap. 4).

2.3 Mutationsraten von heterosomalen und autosomalen STR-Sequenzen im Vergleich

Je höher die Motivzahl eines Mikrosatelliten oder STR ist, um so größer ist die meiotische Instabilität und folglich die lokus-spezifische Mutationsrate (Weber & May, 1989, Am J Hum Genet 44: 388-396). Verursacht wird diese erhöhte Mutabilität durch einen intrahelikalen Mechanismus, der für kurze tandem-repetitive Sequenzen spezifisch ist, das sog. „*slipped strand mispairing*“ (Levinson & Gutman, 1987, Mol Biol Evol 4: 203-221). Die Fehlpaarung von Chromatiden während der Replikation zieht den Verlust oder Zugewinn einzelner Motive nach sich, der Mikrosatellit expandiert oder kontrahiert. Mikrosatelliten erreichen in der Regel eine Obergrenze der Zahl ihrer repetierten Motive (Stabilitätsgrenze). Wie bereits im Kap. 2.1 erwähnt, folgt die Verteilung der Allele unterschiedlicher Längen bei perfekten Repeats annähernd einer Normalverteilung, d.h. Sequenzen mittlerer Länge sind am häufigsten. Diese Allele werden durch Mutation um ein Motiv verkürzt oder verlängert, wobei immer wieder Allele mittlerer Länge durch rekurrente Mutationen restituiert werden und, mit sinkender Frequenz, Allele sehr geringer oder sehr hoher Motivwiederholungszahl entstehen (Weber et al. 1990, Genome Analysis 1: 159-181; [7]).

Neben dem Basismodus des *replication slippage* unterliegen Mikrosatelliten auch anderen Mutationsmechanismen. So entstehen durch Punktmutationen oder Deletionen degenerierte Motive (z.B. GATA→GACA→CA, GATA→GAT→GA), die nicht selten

einen perfekten Motivblock flankieren (z.B. beim Lokus DYS19, [7]) oder ihn auch durchsetzen können. Perfekte Motivblöcke können auch dupliziert werden, wobei eine degenerierte Sequenz als Symmetrieachse fungiert. Ein Beispiel ist der humane Mikrosatellit D12S67, der zwei 69bp voneinander entfernte variable $(GATA)_n$ Blöcke enthält [11]. Der homologe Lokus weist beim Rhesusuaffen *Macaca mulatta* und auch bei *Macaca fascicularis* bereits die duplizierte aber auch noch die einfache Form auf, d.h. es treten – zu je ca. 50% – Längenallele in zwei nichtüberlappenden Längenbereichen auf [11]. Die Duplikation des Lokus, die vor ca. 30 Millionen Jahren in einem gemeinsamen Vorfahren der *Macaca* Subspezies aufgetreten sein muß, erweist sich hier – wie erwartet – als neutraler Mutationsmechanismus, der zu einer höheren Strukturkomplexität führt. Beim Vergleich weiterer 10 di- und tetramerer Mikrosatelliten wurden hinsichtlich ihrer Variabilität bei Mensch und *Macaca mulatta* kaum signifikante Unterschiede festgestellt [12]. Daß die Mikrosatellitenevolution offensichtlich asymmetrisch in Richtung längerer Motivketten verläuft, zeigten Befunde unserer [14] und einer Cambridger Arbeitsgruppe (Cooper et al. 1999, Proc Natl Acad Sci USA 96 (21): 11916-11921), die an Y-chromosomalen STR-Sequenzen erhoben wurden. Für die dabei untersuchten Loci (14 bzw. 5) wurde eine 2.5 - 3 mal höhere Rate von Repeatexpansionen gegenüber -kontraktionen festgestellt.

Bedingt durch unmittelbare Nachbarschaft zu exprimierten Sequenzen können auch nicht-codierende Sequenzen wie die Mikrosatelliten passiv der Selektion unterliegen, d.h. bestimmte Sequenzvarianten reichern sich an, während andere verschwinden. Am Beispiel eines Mikrosatelliten, der fast direkt an einer Exon/Intron-Grenze lokalisiert ist, konnte der Polymorphismus codierender und nicht-codierender repetitiver DNA-Sequenzen vergleichend analysiert werden [13]. Es wurde nachgewiesen, daß bestimmte Sequenzvarianten des intronischen Mikrosatelliten durch Selektion am benachbarten Exon fixiert werden, ein Prozeß der (unglücklich) als Koevolution bezeichnet wurde. Besser eignet sich hier der Begriff des *genetic hitchhiking* (Maynard-Smith & Haigh, 1974, Genet Res 23: 23-35). Passiv selektierte Repeats werden anschließend durch „schnelles“ *replication slippage* innerhalb der Grenzen dieses Mutationsmechanismus moduliert. Bei dem genannten Mikrosatelliten handelt sich um ein gemischtes Dinukleotid-Repeat des Typs $(GT)_n/(GA)_m$, welches sich an der Grenze von Exon 2 und Intron 2 des HLA-*DRB1* Genortes innerhalb des menschlichen Haupthistokompatibilitäts-Komplexes (*MHC*) befindet (Andersson et al. 1987, J Biol Chem 262: 8748-8758).

Selbstverständlich müssen für jeden Sequenztyp, dessen forensisches Anwendungsgebiet auch die Abstammungsbegutachtung ist, Keimbahnmutationsraten exakt bestimmt werden. Raten von 10^{-3}, wie sie für Loci vom Minisatelliten-Typ bestimmt wurden, die den Multilokus-Fingerprint konstituieren [1], erwiesen sich dabei in der statistischen Interpretation von Untersuchungsergebnissen als keineswegs zu vernachlässigendes aber beherrschbares Problem (Bockel et al., 1992, Am J Hum Genet 51: 554-561; Krawczak et al., 1993, For Sci International 59: 101-107).

Im Rahmen der Multicenter-Studie zur forensischen Charakterisierung Y-chromosomalen STRs wurden die Grundlagen für eine sichere Abschätzung der lokus-spezifischen Keimbahnmutationsraten gelegt [9]. Die Zahl der untersuchten Meiosen wurde seitdem kontinuierlich vergrößert und die Ergebnisse schließlich in der bisher größten Studie publiziert [14]. Fußend auf einem Material von 4999 Meiosen, das im Unterschied zu anderen Studien direkt aus der Untersuchung von Vater/Sohn-Paaren stammt, wurde die durchschnittliche Mutationsrate von STRs des Y-Chromosoms mit 3.17×10^{-3} für 8 Tetranukleotid-STRs (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385a/b) ermittelt, für 6 Dinukleotid-STRs betrug sie 2.04×10^{-3} (YCAIa/b, YCAIIa/b, DYS413a/b) und für alle 15 Loci (inclusive des Trinukleotid-STR DYS392) schließlich 2.80×10^{-3} [14]. Bei den 14 identifizierten Mutationen fanden sich 10 Repeatzugewinne und 4 Repeatverluste, bei 13 von 14 Mutationen verkürzte oder verlängerte sich der repetitive Block um jeweils ein Motiv, d.h. es kann ein Mechanismus angenommen werden, der dem *single step mutation model* (Ohta & Kimura, 1973, Genet Res 22: 201-204) für die Evolution von Mikrosatelliten (Valdes et al., 1993, Genetics 133: 737-749) entspricht. Im Vergleich mit großen Studien zu Mutationsraten von forensisch relevanten autosomalen Mikrosatelliten (Brinkmann et al., 1998, Am J Hum Genet 62: 1408-1415; Henke und Henke, 1999, Am J Hum Genet 64: 1473; Sajantila et al., 1999, Eur J Hum Genet 7: 263-266) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Mutationsraten. Der direkte Vergleich autosomaler und heterosomaler Mikrosatelliten analoger Struktur konnte folglich keine Belege für Dovers These (1995, Nat Genet 10: 254-256) liefern, daß die Diploidie zu einer erhöhten Instabilität von Mikrosatelliten beiträgt. Dagegen scheint die Tendenz zur Akkumulation von repetitiver DNA auf dem Y-Chromosom ein anderes, bei Autosomen weniger häufig beobachtetes Phänomen zu verursachen, nämlich die Häufung von duplizierten oder triplizierten STR-Sequenzen. So wurden z. B. am Lokus DYS19 bei 9 von 7772 Individuen Allelpaare und in einem Fall sogar ein Triplett gefunden [14]. Diese

Allelmuster werden in der Keimbahn vererbt. Da bekanntermaßen einige STRs wie DYS385, DYS413 und YCAII konstitutiv dupliziert unter Einschluß ihrer flankierenden Sequenzen auftreten, kommt als Mechanismus nur die Verdoppelung oder Verdreifachung größerer Sequenzblöcke (Satelliten) in Frage, in die voneinander unabhängig mutierende Mikrosatelliten eingebettet sind. Die Kenntnis dieses Mechanismus und die Häufigkeit seines Auftretens ist für die forensische Spurenanalyse bedeutsam, da die Zahl der Y-chromosomalen Allele im Ausnahmefall nicht der Zahl der Spurenverursacher entsprechen muß. Das vorliegende umfangreiche Zahlenmaterial zur Frequenz von Mutationen Y-chromosomaler STRs bildet eine solide Grundlage für die Anwendung dieser Marker in der forensischen Praxis (s. Kap. 5).

3 Populationsgenetik von Y-chromosomalen STR-Haplotypen

Die Anwendung polymorpher Merkmalssysteme vom STR-Typ in der forensischen Diagnostik setzt die Kenntnis der Allelverteilungen in relevanten Populationen für die betreffenden Marker voraus, um Identitäts- und Abstammungswahrscheinlichkeiten berechnen zu können. Ohne diese käme einer Laborbeobachtung (z.B. Übereinstimmung der DNA von Spur und Tatverdächtigen) kein Beweiswert vor Gericht zu. Wahrscheinlichkeitsberechnungen müssen im Idealfall Frequenzwerte aus einer Populationsstichprobe zur Grundlage haben, der auch die zu untersuchenden DNA-Proben entstammen. Je weniger populationsspezifisch ein polymorpher Marker sich ausprägt, um so geringer wird sich der mögliche Fehler bei der Wahl der Referenzpopulation auf das Ergebnis der statistischen Berechnung auswirken und um so besser eignet er sich für die forensische Identifizierung, die i. d. R. nach Personen unbekannter ethnischer Herkunft sucht. Nicht-exprimierte, genetisch neutrale Sequenzen des Genoms werden geringere Populationsunterschiede in der Verteilung ihrer Allele aufweisen als exprimierte Sequenzen, die der Selektion unterliegen. Grundsätzlich sind also STR-Marker auch aus populationsgenetischer Sicht für forensische Untersuchungen hervorragend geeignet, da ihr bidirektionaler Ein-Schritt-Mutationsmechanismus innerhalb nahezu feststehender Grenzen der minimalen (4-5 Motive, Variabilitätsgrenze) und maximalen Ausdehnung des Repeats (~ 35 Motive, Stabilitätsgrenze) zu grundsätzlich ähnlichen Allelverteilungen bei panmiktischen Populationen führt (Chakraborty et al., 1999, Electrophoresis 20: 1682-1696). Die Auswirkungen der möglichen Substrukturierung von Populationen bezüglich der

Allelverteilung an einem Lokus aufgrund von neutraler Mutation und genetischer Drift werden überdies dann irrelevant, wenn sehr viele unabhängig vererbte STR-Marker für eine Probe untersucht werden: die Wahrscheinlichkeit daß ein zweiter Genotyp mit dem untersuchten zufällig übereinstimmt ist dann praktisch Null, der festgestellte Genotyp ist individualspezifisch, ein „genetischer Fingerabdruck".

Die lineare, rekombinationsfreie Vererbung des Y-Chromosoms läßt für die Verteilung seiner STR-definierten Haplotyp-Varianten eine deutlicher ausgeprägte Populationsabhängigkeit erwarten. Wichtigste Ursache ist sicherlich die genetische Drift, beträgt doch die Zahl der Y-Chromosomen in der Population nur ein Viertel derjenigen eines jeden Autosoms. Gründereffekte, Migration und Isolation werden daher stärkere Differenzierungen der Y-chromosomalen Allel- bzw. Haplotyp-Frequenzen zur Folge haben, als es bei autosomalen Merkmalen zu beobachten wäre. Darüber hinaus nehmen spezifische ethologische und kulturelle Gegebenheiten Einfluß auf die Verteilung von Y-Chromosomen: die Zahl der Söhne, die ein Vater zeugt, Heirats- und Erbfolgeregeln, Promiskuität und Religion, das Phänomen der Patrilokalität (Seielstad et. al., 1998, Nat Genet 20: 278-280). Es muß also bei Y-STR Polymorphismen mit einer ausgeprägteren regionalen oder ethnischen Spezifität der Merkmalsverteilungen gerechnet werden, die bei der forensischen Analyse berücksichtigt und daher eingehend untersucht werden muß.

Bereits die Y-STR Multicenter-Studie von 1997 zeigte für Allelverteilungen an mehreren Einzel-Loci solche Unterschiede für weit voneinander entfernte Populationen. Prominentestes Beispiel war das System DYS19: häufigstes Merkmal der Inuit war Allel 13, in Westsamoa Allel 16, bei Europäern und Indern Allel 14, in allen anderen der 48 Regionen, die insgesamt untersucht wurden, Allel 15 [8,10,15]. Für die Praxis ungleich bedeutsamer war nun die Frage, inwieweit sich populationsgenetische Unterschiede in den forensisch wie populationsgenetisch relevanten multilokalen Y-STR Haplotypen manifestieren. Die extreme Variabilität der Haplotypen vom 7-, 9- oder 11-Lokus-Typ erforderte ein Verfahren, das den Anteil der gesamten Haplotypvariabilität, der durch die Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Populationen hervorgerufen wird, von dem Anteil unterscheidet, der auf interindividuellen Unterschieden beruht. Dieses leistet eine Methode, die zuerst für mitochondriale Haplotypen entwickelt wurde, die *analysis of molecular variance* (AMOVA, Excoffier et al., 1992, Genetics: 131, 479-491). Der Ansatz basiert auf der molekularen Distanz zwischen zwei Haplotypen ausgedrückt in der Mindestzahl der sie trennenden Mutationsereignisse unter Annahme des *single step*

mutation (*SMM*) Modells. Der Differentiationsindex Φ_{ST} gibt das Verhältnis der Inter-Populations-Varianz σ_a^2 zur gesamten molekularen Varianz σ^2 an. Je höher der Φ_{ST}-Wert ist, um so stärker differieren die Haplotypen von zwei untersuchten Populationen und damit die Populationen selbst. Erstmals auf das Y-Chromosom angewendet wurde die *AMOVA* für den Vergleich deutscher und holländischer 4-Lokus-STR-Haplotypen [16]. Dabei wurde ein geringer aber signifikant über dem durch Simulation ermittelten Mittelwert liegender Φ_{ST}-Wert ermittelt, d.h. die Ähnlichkeit der Haplotypen ist innerhalb der beiden untersuchten Gruppen größer als zwischen ihnen, mit anderen Worten: beide Populationen sind genetisch unterscheidbar. Damit wurde gezeigt, daß sich STR Polymorphismen des Y-Chromosoms dafür eignen, minimale erst in historischen Zeiten entstandene genetische Unterschiede zwischen Bevölkerungsgruppen festzustellen und zu messen. Mit der Etablierung des informativeren 7-Lokus-Standard-Haplotyps Yh1 (s. Kap. 2.2) sowie dem Aufbau der Europäischen Y-STR Haplotyp Referenz-Datenbank (s. Kap. 4) wurde das Meßinstrument der AMOVA für die Untersuchung der Substrukturierung der europäischen und europäisch-stämmigen Bevölkerung angewandt. Dabei zeigte sich eine enge Verwandtschaft der europäischen Populationen. Auf einem durchweg niedrigen Niveau der Φ_{ST}-Werte läßt sich jedoch die Stratifikation der Bevölkerung Europas erkennen, die historische und demographische Entwicklungen widerspiegelt [17]. So zeigten die neun österreichischen und deutschen Populationen keine signifikanten Φ_{ST}-Werte im paarweisen Vergleich, aber unterschieden sich von allen anderen Stichproben. Dasselbe trifft auf die holländischen Stichproben aus 4 Provinzen und die beiden slawisch-sprechenden baltischen Regionen zu [17].

Größere Distanzwerte wurden für Populationen ermittelt, die sich seit Zehntausenden von Jahren voneinander isoliert auf verschiedenen Kontinenten entwickelten. Die Untersuchung der Yh1-Haplotypen von 986 unverwandten Männern aus 20 Regionen Europas, Asiens, Afrikas, Ozeaniens und Amerikas mit der AMOVA-Methode zeigte, daß der Differentiations-Index Φ_{ST} ethnohistorische Beziehungen von Populationen sinnfällig widerzuspiegeln vermag [15,18,28]. Betrachtet man verschiedene Populationstichproben repräsentativer Größe eines Kontinents, z.B. in Europa Schweizer, Deutsche, Holländer und Italiener oder in Ozeanien Indonesier (Java, Borneo), Trobriander, Roro und Tolai (Papua-Neuguinea, s. Abb. 5), so ist der Anteil ähnlicher Haplotypen jeweils hoch ($\Phi_{ST\ Europa}$ 0.04 - 0.08, $\Phi_{ST\ Ozeanien}$ 0.03 - 0.19). Vergleicht man dagegen ozeanische und europäische Populationen miteinander, so

beträgt der Anteil der Interpopulations-Varianz an der Gesamtvariabilität ausgedrückt durch Φ_{ST} im Durchschnitt 0.2. Dieser noch relativ niedrige Wert spiegelt auch die Tatsache wider, daß Europäer praktisch jedes Territorium der Erde besiedelt haben und Männer mit einheimischen Frauen Nachkommen gezeugt haben, so auch zu einem nicht geringen Anteil in den Missions- und Kolonialgebieten Melanesiens und Polynesiens (Hurles et al., 1998, Am J Hum Genet 63: 1793-1806). Vergleicht man dagegen Völker, die sich mit Sicherheit seit Zehntausenden von Jahren völlig isoliert voneinander entwickelten, wie z.B. die Inuit und die Pygmäen oder südamerikanische Indianer und Inder, so erhält man hohe Werte für Φ_{ST} von 0.54 bzw. 0.44 [28].

Bei der Bewertung der Resultate von populationsgenetischen Untersuchungen mit STR-Polymorphismen ist zu beachten, daß identische Y-chromosomale Haplotypen nicht notwendigerweise gemeinsamer Abstammung sein müssen. Durch *slippage mutations* an den einzelnen Loci können Haplotypen einander angeglichen werden, die nicht gemeinsamer Abstammung sind *(identity by state, IBS* versus *identity by descent, IBD)* [28]. Mutationen, die Haplotypen nicht weiter differenzieren, sondern durch Hin- und Rückmutation (z.B. Addition gefolgt von Subtraktion eines Repeats) ununterscheidbar machen, bezeichnet man als rekurrent. Die relativ hohe mittlere Mutationsrate von ca. 3×10^{-3} je Lokus und Chromosom [14] bewirkt, daß in dem betrachteten Zeitraum von rund 100.000 Jahren, in dem der Mensch wahrscheinlich von Afrika aus die Erde besiedelt hat, viele Y-STR-Haplotypen rekurrent mutierten und so gemeinsame Abstammung vortäuschen. Die exklusive Untersuchung *slippage*-mutierter Mikrosatelliten-Loci kann also Populationen zwar via AMOVA differenzieren, nicht aber die Chronologie der Völkerwanderungen über lange Zeiträume erfassen. Dazu sind solche Polymorphismen erforderlich, deren Reichtum an Varianten zwar geringer, deren Status vor oder nach einer (i.d.R. einmaligen Mutation) aber eindeutig und deren Alter datierbar ist. Die Anwendung solcher Polymorphismen des Y-Chromosoms in der evolutionären Anthropologie wird im Kap. 6.1 beschrieben.

Im Ergebnis der mit AMOVA durchgeführten Untersuchungen kann festgestellt werden, daß Y-STR Haplotypen sehr populationssensitiv sind und zur Unterscheidung auch nah verwandter Populationen dienen können. Zum anderen ist die Zahl der durch gemeinsame Abstammung bzw. rekurrente Mutationen entstandenen identischen und ähnlichen Haplotypen innerhalb eines Kontinents, z.B. bei den eng verwandten europäischen Populationen, sehr groß. Die Zusammenfassung der vielerorts erhobenen regionalen Stichproben zu einem großen Datenpool kann daher realistische

Schätzungen für Haplotyp-Frequenzen liefern, die für Wahrscheinlichkeits-berechnungen in der forensischen Diagnostik unabdingbar sind. Der Aufbau einer solchen Haplotyp-Referenz-Datei als gemeinsames europäisches Projekt wird im folgenden Kapitel beschrieben.

4 Die Europäische Y-STR-Haplotypen Referenz-Datenbank

Die Genotypfrequenzen für autosomale DNA-Profile lassen sich wegen der unabhängigen Vererbung der einzelnen Allele unter Zuhilfenahme relativ geringer lokus-spezifischer Populationsstichproben (n = 200) via Extrapolation („Produktregel") bestimmen. Dagegen kann die Häufigkeit des Auftretens Y-chromosomaler oder mitochondrialer DNA-Profile infolge der 100%igen Kopplung ihrer polymorphen Loci nur auf der Basis vollständig untersuchter Genome, d.h. aller relevanten Loci einer Person, geschätzt werden. Die immense Haplotyp-Variabilität erfordert dabei sehr große Datenmengen, deren Erhebung jedoch, aufgrund des stark gestiegenen forensischen Interesses an haploid vererbten DNA-Markern, auf der Tagesordnung steht.

Ein erster Schritt zur Lösung dieses Problems war die Einrichtung einer Y-STR-Haplotypen Referenz-Datenbank für europäische oder europäischstämmige Populationen am Institut für Rechtsmedizin der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität (Charité) [17]. Drei Ziele standen im Vordergrund: die Datei mußte aufgrund ihrer zu erwartenden Größe als zentrale Funktion ein Suchprogramm für Haplotyp-Profile enthalten, zweitens sollte sie jedem Nutzer zu jedem Zeitpunkt den aktuellen Umfang präsentieren und drittens mußten identische Frequenz-Abfragen zu einem definierten Zeitpunkt auf identische Datensätze bezug nehmen. Diese Anforderungen waren nur mit einer zentralen Installation der Datei und ihrer Verfügbarkeit im Internet zu erfüllen [17]. Das bereits beschriebene, international akzeptierte und empfohlene Haplotyp-Format Yh1 unter Einbeziehung des Lokus DYS385 ([9] und Pascali et al., 1998, Int J Legal Med 112: Editorial) wurde als obligater Datensatz (*„minimal haplotype")* zur Charakterisierung der Y-Chromosomen verwendet. Weitere Loci, darunter insbesondere das hochinformative STR-System YCAII, wurden als fakultativ für die Bildung eines „*extended haplotype*" deklariert. Vergleicht man die Informativität dieser Haplotypformate ausgedrückt in der *haplotype diversity* h, so läßt sich feststellen, daß die Variabilität der vorhandenen europäischen Y-Chromosomen auf der Basis des *minimal haplotype* bereits zu einem Großteil erfaßt wird (h = 0.997). Die Addition des

hochvariablen Lokus YCAII (*gene diversity* 0.67 [10]) erhöht den h-Wert auf 0.998. Es ist anzunehmen, daß Y-chromosomale Haplotypen vom 11-Lokus-Typ durch zusätzliche, in jüngster Zeit publizierte Y-STR Marker (White et al., 1999, Genomics 57: 433-437; Ayub et al., 2000, Nucleic Acids Res 28: e8) kaum weiter differenziert werden können. Ungeachtet dessen, läßt das gewählte Datenbankformat eine Erweiterung des Haplotyps um neue Marker jederzeit zu, wobei hier zukünftig weniger an zusätzliche STRs als an populationsspezifische SNP-Polymorphismen gedacht ist (siehe Kap. 6.1).

Für die Teilnahme am Datenbank-Projekt sind lediglich zwei Voraussetzungen zu erfüllen: die Beteiligung an einem Ringversuch zur Qualitätskontrolle sowie die Übersendung von wenigstens 75 Datensätzen für jede definierte Populationsstichprobe. Aktuell, im Juli 2000, sind 4115 *„minimal haplotypes“* aus 35 Populationen gespeichert (Abb. 4). Aufgrund der Ansprüche an eine Datenbank, die für Gerichtsgutachten in Strafsachen Verwendung findet, werden keine Literaturdaten aufgenommen. Jeder Haplotyp wird einzeln in der Datenbank geführt. Er ist über eine (via Internet nicht verfügbare) ID-Nummer identifizierbar und enthält die zutreffende Populationsbezeichnung. Die Abfrage der Datenbank erfolgt über die Eintragung der an einer Probe bestimmten lokusspezifischen Y-STR-Allele in eine entsprechende Datei. Ausgegeben wird als Resultat die Zahl der gespeicherten Haplotypen des gewünschten Formats, sowie anhand einer Karte die Verteilung der identifizierten Haplotypen in Europa und Südamerika. Die Datei wird vervollständigt durch eine Reihe von Dokumentationsmenüs, darunter eine Beschreibung der Haplotypisierungstechnik, der verwendeten STR-Systeme und Haplotyp-Formate, eine Bibliographie, sowie Informationen zur Beteiligung an der Qualitätskontrolle und am Datenbankprojekt. Geplant ist, daß Nutzer zukünftig nicht nur die beobachtete Häufigkeit eines Haplotyps abfragen können, sondern daß auch ein Programm für die Frequenzberechnung zur Verfügung steht. Die dafür entwickelten Algorithmen werden im Kapitel 5 vorgestellt. Voraussetzung für die Validität beobachteter wie kalkulierter Frequenzwerte ist in jedem Fall der Bezug auf eine populationsgenetisch korrekt definierte Referenz-Datei. Aus diesem Grunde wird für alle gespeicherten Populationen mit der AMOVA-Methode eine Bestimmung der paarweisen Φ_{ST} – Werte sowie deren Signifikanz-Niveaus durchgeführt und die Daten im Menü „*population analysis*“ dokumentiert. Anhand der Φ_{ST} – Werte, die für jede neu zu speichernde Populationsstichprobe ermittelt werden, soll geprüft werden, ob diese ausreichende genetische Nähe zu den bereits vorhandenen europäischen oder europäisch-stämmigen Stichproben aufweist. Nur die so erreichte

Beschränkung auf Haplotypen, die phylogenetische Verwandtschaft aufweisen, ermöglicht die Berechnung von Frequenzwerten, deren Genauigkeit mit der Vergrößerung der Datei zunimmt.

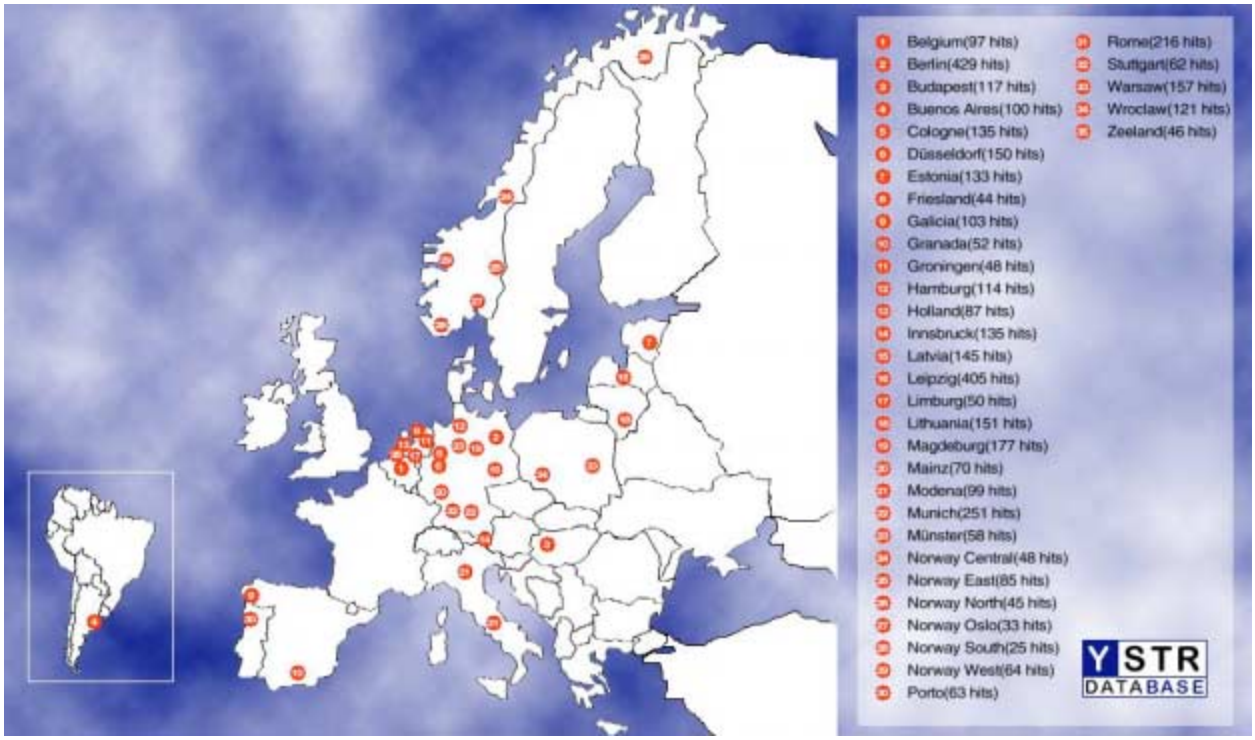

Abb. 4 Herkunft der Stichproben der Y-STR Haplotypen-Referenz-Datenbank (Stand: Juli 2000)

5 Die Anwendung der Y-STR Haplotypisierung in der forensischen Diagnostik

Die willkommene Möglichkeit, männliche DNA durch Y-STR-Haplotypisierung zu identifizieren, hat der Methode relativ schnell den Weg in die forensischen Labors und später in die Gerichtssäle gebahnt. Der erste Mordfall, in dem das kurz vorher entdeckte Merkmal DYS19 untersucht wurde, stammt aus den frühen 90er Jahren [19]. Eine Frau wurde vergewaltigt und getötet, der asservierte Vaginalabstrich enthielt Spermienzellen. Zuerst durchgeführte konventionelle DNA-Analysen mehrerer Labors mit Gensonden erbrachten kein Ergebnis, so daß das Asservat 7 Monate später mit der PCR an dem genannten Y-chromosomalen Lokus DYS19 und drei autosomalen STR-Loci, dem $(gt)_n/(ga)_m$ Mikrosatellit des HLA-DRB1-Lokus [13] sowie D12S66 und D12S67 [7] nachuntersucht wurde. Dabei stellte sich in der autosomalen Analyse heraus, daß die differentielle Lyse, die nach der Methode von Gill et al. (1985, Nature 318: 577-579) extern durchgeführt worden war, zu keiner quantitativen Trennung

männlicher und weiblicher Zellen geführt hatte. Auch eine interpretierbare Mischung der Allele von Opfer und Täter konnte mit dieser Methode nicht festgestellt werden, es dominierten klar die Merkmale des weiblichen Opfers. Im System DYS19 konnte dagegen im Vaginalabstrich-Präparat eindeutig das Y-chromosomale Allel 16 (198bp) nachgewiesen werden, welches der Tatverdächtige nicht besaß (Allel 15). Der Mann wurde daraufhin aus der Untersuchungshaft entlassen. Experimentelle Untersuchungen an DNA-Mischungen (Prinz et al., 1997, For Sci International 85: 209-218) bestätigten später, daß weibliche DNA die Untersuchung männlicher STR-Merkmale auch in Konzentrationen bis zu 2000 : 1 nicht behindert, ein entscheidendes Argument für die Ablösung der differentiellen Lyse durch die Y-STR Untersuchung. Ähnliche Resultate berichteten Honda et al. [20], die in einem Fall von zweifacher Vergewaltigung und Mord, dessen Wiederaufnahme vor dem *Sapporo High Court* 25 Jahre nach der Tat und der Verurteilung des Täters verhandelt wurde, gemischte Sekretspuren mit Y-chromosomalen STRs nachuntersucht hatten. Die Loci DYS19, DYS390, DYS393 und YCAII wurden analysiert und völlige Übereinstimmung der Resultate zwischen Spermien aus den Spuren und Blutproben des Verurteilten festgestellt. Das ursprüngliche Urteil, lebenslange Haft, wurde daraufhin vom Gericht bestätigt. Über weitere Fälle ist aus Deutschland (Hidding et al., 1998, Ztschr. Rechtsmed 9: 32-35; Kärgel et al., 1999, Arch Kriminol 204: 175-185), der Schweiz (Gehrig et al., 2000, J For Sci 45: 436-439) sowie Nord- und Südamerika (Prinz et al., 2000, In: Progress in Forensic Genetics 8, Herausgeber: G.F. Sensabaugh, P.J.Lincoln, B. Olaisen, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 494-496; Corach et al., 1997, Electrophoresis 18: 1606-1612) in der Fachliteratur berichtet worden.

Nicht weniger erfolgreich ist die Einführung der Methode in die Paternitätsdiagnostik verlaufen. Santos et al. (EXS, 1993, 67: 261-265) berichteten, ebenfalls nur kurze Zeit nach der Publikation des Markers DYS19, von dessen Einsatz zur Klärung von Defizienzfällen mit männlichen Nachkommen, bei denen der beklagte Mann nicht zur Verfügung stand. Da männliche Blutsverwandte identische Y-chromosomale Allele aufweisen, kann in solchen Fällen die Einzel-Lokus-Untersuchung vor allem aber die Y-STR-Haplotyp-Analyse von patrilinearen Verwandten des Putativvaters an seiner statt zum Ergebnis führen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß Nichtausschlüsse, die nur über Y-chromosomale DNA-Systeme ermittelt werden, insofern der Interpretation bedürfen, als die errechneten Vaterschafts-wahrscheinlichkeiten für alle männlichen Verwandten eines beklagten Putativvaters (wie

natürlich auch die Identitätswahrscheinlichkeiten für patrilineare Angehörige eines Straftäters) identisch sind. Wichtig ist auch der Hinweis, daß in Fällen, wo patrilineare Verwandtschaft über mehrere Generationen geklärt werden soll oder diese Voraussetzung für die Klärung des Falles ist, Mutationen nicht unwahrscheinlich sind. Daher empfehlen Kayser et al. (1998, Progress in Forensic Genetics 7. Herausgeber: B. Olaisen, B. Brinkmann, P.J. Lincoln, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 407-412) mindestens drei lokale Allelunterschiede für eine sichere Ausschlußkonstellation beizuziehen, während Rolf et al. [21] einen Algorithmus für die Berechnung von Vaterschaftswahrscheinlichkeiten unter Beachtung der Mutationsrate vorschlagen.

Voraussetzung für die breite Einführung des Verfahrens in die forensische Praxis war die Vervollkommnung der Analyseverfahren sowie die Evaluation anhand nationaler und internationaler Standards. Hier sind erstens die Entwicklung und Evaluation von effizienten Multiplex-Protokollen für den *minimal haplotype* ([9, 17]; Redd et. al., 1997, Biol Chem 378: 923-927; Gusmao et al., 1999, For Sci International 106: 163-172; Thomas et al., 1999, Hum Genet 105: 577-581) sowie zweitens die Konstruktion modifizierter PCR-Primersequenzen für klassische Loci wie DYS19 und DYS385 zu nennen, die auch degradierte DNA aus Problemspuren erfolgreich als verkürzte Fragmente amplifizieren können ([22], Schneider et al., 1998, For Sci International 97: 61-70). Durch die nationalen und europäischen Ringversuche im Rahmen der Institutionen GEDNAP (*German DNA Profiling Group*) und EDNAP (*European DNA Profiling Group*) werden Labors, die Y-chromosomale Marker einsetzen, inzwischen regelmäßig überprüft.

Während die Darstellung von Y-STR-Profilen aus forensischen DNA-Proben inzwischen labortechnisch zur Routinemethode aufgerückt ist und diese einer ständigen Verfeinerung bis hin zum kommerziell erhältlichen „Kit“ unterliegt, so sind zu dem Problem der statistisch adäquaten Interpretation von DNA-Analysen haploider Genome im Nicht-Ausschlußfall erst in jüngster Zeit auf der Basis der in Datenbanken gespeicherten großen Datenmengen Lösungsvorschläge erarbeitet worden [17]. Ohne eine realistische Schätzung der Haplotypfrequenzen käme den Ergebnissen der Analyse vor Gericht nur ein eingeschränkter, lediglich auf beobachteten Werten basierender Beweiswert zu. Die 2175 *minimal haplotypes*, die in der Europäischen Y-STR Haplotyp-Datei ein- oder mehrere Male auftauchen (Juli 2000), sind als relativ häufig, mit beobachteten Frequenzen zwischen 0.02% und maximal 3%, einzuschätzen. Die Häufigkeit von den Millionen real existierenden in der Datei aber bisher nicht

beobachteten Haplotypen wären bei Anwendung der oberen Grenze des 95% - Vertrauensintervalls deutlich überschätzt (Krawczak & Roewer, 1999, Frequency estimation for rare Y-chromosomal haplotypes, 49th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Am J Hum Genet 65(4): A208). Aus diesem Grund wurde ein numerisches Verfahren entwickelt, das die Frequenzbestimmung für beliebig zusammengesetzte (auch partielle) Haplotypen via Extrapolation ermöglicht [17]. Der Ansatz beruht auf der Ähnlichkeit von Haplotypen innerhalb eines phylogenetisch definierten Stratum, z.B. der europäischen Bevölkerung (ausgeklammert sind hier Populationen mit abweichender Ethnohistorie, wie z.B. Saami, Roma, Basken u. a.). Die Evolution der dieser Bevölkerung gemeinsamen Haplotypen erfolgt durch Austausch von Allelen an einzelnen Loci des modular aufgebauten Profils entsprechend dem *SMM*-Mechanismus. Wie in [17] gezeigt wurde, folgt die Häufigkeitsverteilung (f) der Haplotypen einer β-Verteilung, deren Parameter Funktionen der effektiven Populationsgröße und der Rate für Vorwärts- und Rückwärtsmutation (μ), bzw. abgeleitet von dieser, der molekularen Distanz (W) sind. Angewandt auf die in der Y-STR-Haplotyp-Referenz-Datei gespeicherten europäischen Haplotypen, die in 15 Gruppen nach dem Kriterium der Ähnlichkeit eingeteilt wurden, ergab sich eine Regressionskurve der mittleren Haplotyp-Frequenz als Funktion ihrer Ähnlichkeit (W). Im Ergebnis dieser Untersuchung zeigte sich, daß die gesuchte Frequenz eines beliebigen Haplotyps in der Tat positiv mit der Frequenz eng verwandter, strukturell daher ähnlicher Haplotypen korreliert ist. Nun konnten die auf Grundlage dieser Modellannahmen erwarteten mit den in der Datenbank beobachteten Haplotyp-Häufigkeiten verglichen werden. Dabei fand sich eine hervorragende Übereinstimmung beider Werte für die in der Datenbank gespeicherten Haplotypen. Auf der Basis der in [17] beschriebenen Algorithmen wurde zur Extrapolation beliebiger Haplotyp-Frequenzen das Programm YSTRINFO geschrieben, das für die forensische Fallarbeit bestimmt ist. Mit den im Internet aus der Y-STR-Haplotyp-Referenzdatei abrufbaren und den via YSTRINFO berechneten Werten für Haplotypfrequenzen liegt damit nunmehr ein vollständiges Konzept für die gutachterliche und gerichtliche Entscheidungsfindung vor, sofern sie wie bei Sexualstraftaten und Abstammungsfällen auf die Analyse Y-chromosomaler Haplotyp-Profile angewiesen ist. In [17] wird anhand von drei aktenkundigen Fällen aus der straf- wie zivilrechtlichen Praxis die Bedeutung einer statistisch korrekten Interpretation der Ergebnisse der forensischen Untersuchungen des Y-Chromosoms für ihren Beweiswert dokumentiert.

6 Die Anwendung der Y-STR Haplotypisierung in der evolutionären Anthropologie

Durch die Haplotypisierung kann neben der Individualität auch die Phylogenie, also die Verwandtschaft und Abstammung von Y-Chromosomen untersucht werden. Sie kann auf diese Weise einen Beitrag zum Verständnis der Prozesse liefern, die zur Herausbildung von Populationen mit verschiedenen Territorien, Sprachen, äußerer Erscheinung, Kulturen und Wirtschaftsformen führten.

Im Gegensatz zu Autosomen und X-Chromosomen, deren Sequenzen infolge der Rekombination multipler Herkunft sind, haben alle rezenten humanen Y-Chromosomen einen einzigen Vorläufer, ohne daß *a priori* bekannt wäre, wann dieser männliche Vorfahr lebte und ob er bereits der Gattung *Homo sapiens sapiens* angehörte oder nicht. Y-Chromosomen, die wir bei gegenwärtig lebenden Männern untersuchen, unterscheiden sich von demjenigen unseres gemeinsamen Vorfahren (engl. *most recent common ancestor,* MRCA), da in den nicht-codierenden Sequenzen über die Jahrtausende neutrale Mutationen akkumuliert und weitervererbt wurden. Diese Sequenzvarianten des ursprünglichen Y-Chromosoms wurden durch ihre Träger, die männlichen Individuen einer Population, über die Erde verbreitet. Migration und Isolation sorgten dafür, daß sich die Y-Chromosomen zwischen Gruppen nicht mehr frei austauschen konnten, so daß sich bestimmte Mutationsmuster (Haplotypen) in einer Population häufig reproduzieren während andere seltener werden und sich schließlich verlieren können, ein Vorgang, der als genetische Drift bezeichnet wird. Einfluß auf die Diversität der Y-Chromosomen hat auch der reproduktive Erfolg (oder Mißerfolg) in vielen menschlichen Gesellschaften: wenn einige Männer kraft ihrer verwandtschaftlichen oder gesellschaftlichen Stellung viele Nachkommen haben und andere Männer wenige oder keine, dann wird die Zahl verschiedener Y-Chromosomen und in der Konsequenz deren beobachtete Variabilität eingeschränkt. Beispielhaft illustriert wurde das Wirken populationsgenetischer Einflüsse sowie kultureller und ethologischer Bedingungen auf die Diversität des Genpools einer traditionellen Bevölkerung durch Untersuchungen bei den Yanomami-Indianern vom oberen Orinoco (Venezuela). Innerhalb der relativ kleinen Lokalgruppe (75 Personen), die wahrscheinlich von engen männlichen Verwandten nach Abspaltung von einer größeren Gruppe begründet wurde, ist die Einschränkung der Y-chromosomalen Variabilität extrem. Die parallele Untersuchung autosomaler STR-Loci zeigte dagegen die

Fortexistenz (überlebensnotwendiger) Variabilität im Genpool der Gruppe an. Ursächlich ist neben dem Heiratsverbot für Kognaten, die Zeugung von Kindern mit Frauen, die entweder aus alliierten Dörfern stammen oder geraubt wurden [23].

6.1 Y-chromosomale Haplotypisierung durch SNP- und STR-Analyse

Wie bereits ausgeführt wurde, kann zwar das Ergebnis populationsdifferenzierender Prozesse mit der Y-STR Haplotypisierung erfaßt und gemessen werden, kaum aufgeklärt werden kann jedoch, infolge der vergleichsweise hohen STR-Mutationsraten, die Chronologie des Prozesses, der zum *status quo* geführt hat.

Will man sich diesen Fragen zuwenden, müssen polymorphe Marker anderen Typs eingesetzt werden, vorzugsweise solche, deren Mutationsraten um Größenordnungen niedriger liegen als diejenigen von STRs. Hier bieten sich die sog. *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) an, von denen erst in jüngerer Zeit eine Vielzahl für das Y-Chromosom beschrieben wurde (Underhill et al., 1997, Genome Res 7: 996-1005). Die durchschnittliche Mutationsrate wurde durch Vergleich homologer codierender Sequenzen bei Schimpanse und Mensch mit ca. 3×10^{-8} je Generation bestimmt (Thomson et al., 2000, Proc Natl Acad Sci USA 97: 7360-7365). Da jede dieser Punktmutationen als einzigartiges Ereignis in der Evolution des Genoms betrachtet werden kann, sind Prä- und Postmutationsallel i.d.R. eindeutig definierbar.

Mit der kombinierten Haplotyp-Analyse von patrilinearen Markern unterschiedlicher Mutationsdynamik (STR und SNP) konnte erstmals der Zusammenhang zwischen der Verteilung von Y-Chromosomen gemeinsamer Abstammung und dem räumlichen und zeitlichen Verlauf einer demographischen Expansion von Populationen dargestellt werden. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand dabei ein von Wissenschaftlern verschiedener Disziplinen anhaltend kontrovers diskutiertes Problem: Woher stammen diejenigen Nordeuropäer, die keine indo-germanische Sprache sprechen? Aus Sicht der Linguisten gehören die Saami („Lappen“), die Finnen und die Esten zur uralischen (früher „finno-ugrischen“) Sprachfamilie. Traditionell wird die Herkunft dieser Völker im nördlichen Zentralasien vermutet. Untersuchungen mitochondrialer DNA (Sajantila et al. 1995, Genome Res 5: 42-52) zeigten eindeutig die genetische Distanz der Saami zu den anderen Europäern, weniger eindeutig fielen dagegen die Ergebnisse für die Finnen aus. Lahermo et al. (1996, Am J Hum Genet 58: 1309-1322) fanden keine signifikanten Unterschiede

zwischen Finnen und Europäern. Diskutiert wurde deshalb die Hypothese von Sajantila und Pääbo (1995, Nat Genet 11: 359-360), nach der die Finnen europäischer Herkunft sind und ihre ursprüngliche indo-germanische erst in neuerer Zeit durch die uralische Sprache ersetzten. Die Haplotyp-Analyse der Y-Chromosomen mehrerer Populationen der uralischen Sprachfamilie lieferte nun neue beachtenswerte Argumente, die dieser Theorie widersprechen [24]. Als informativer Y-chromosomaler SNP-Marker für die zu untersuchenden Populationen, erwies sich eine T→C Transition. Die mutierte Sequenz wurde bei einem weltweiten Screening (n = 1154 aus 37 Populationen) ausschließlich in Populationen Asiens, Rußlands und Nordeuropas gefunden (n = 131 für das C-Allel) und zeigte die höchste Frequenz bei Jakuten, Burjaten, Finnen und Esten. Der ursprüngliche Zustand mußte die T-Variante sein, denn sie wurde auch bei Schimpansen und Orang-Utans festgestellt. Bei der anschließenden Y-STR Analyse (10 Loci) von 60 der 131 C-Allel-Chromosomen wurden 21 Haplotypen festgestellt, die sich größtenteils nur durch jeweils eine einzige Repeatdifferenz unterschieden. Diese Ähnlichkeit der Haplotypen deutet darauf hin, daß die T→C Transition ein singuläres Ereignis darstellt, welches ein einziges Chromosom betraf. Die Mutation wurde in einer sich verzweigenden Patrilinie vererbt und durch Migration verteilt. Durch Definition einer Außengruppe und Einbeziehung der Mutationsrate von Y-Mikrosatelliten konnte die Punktmutation zeitlich eingeordnet werden: danach fand sie wahrscheinlich vor wenigen tausend Jahren bei einem Vorfahren des Volkes der Marij (Ural) statt. Dessen Nachfahren wanderten anschließend nach Nordeuropa aber auch in entgegengesetzter Richtung (Sibirien, Mongolei). Diese Untersuchungen stützten die Annahme eines bedeutenden Influx paternaler Linien Asiens nach Nordeuropa. Der prozentuale Anteil des C-Alleles in den untersuchten uralisch-sprachigen Populationen reflektiert dabei die Vermischung des Genpools der europäischen Ursprungspopulationen mit demjenigen der asiatischen Einwanderer.

Die Besiedlung von Teilen Skandinaviens ist nur eine Facette der demographischen Geschichte Europas. In der bisher größten Studie dieser Art haben Rosser et al. [30] anhand von 11 SNP-Markern des Y-Chromosoms 3548 Europäer aus 48 Populationen untersucht und Gruppen gemeinsamer patrilinearer Abstammung („*haplogroups*“) klassifiziert. Wiederum wird deutlich, daß die genetische Landkarte Europas vorrangig von verschiedenen Einwanderungswellen aus Asien geformt wurde. Die Daten stützen u.a. das Modell einer Durchdringung der europäischen Urbevölkerung durch Ackerbauern aus dem Nahen Osten im Neolithikum („*demic*

diffusion“, Menozzi et al. 1978, Science 201: 786-792). Aber auch eine distinkte Einwanderungswelle ausgehend vom Nordufer des Schwarzen Meeres nach Osteuropa ist nachweisbar. Wie die Studie zeigt, ist die genetische Differenzierung der heutigen europäischen Völker in der Folge eher entlang geographischer als sprachlicher Barrieren verlaufen.

6.2 Populationsgenetische Analyse durch Kombination paternal, maternal und biparental vererbter DNA-Polymorphismen

Die Suche nach dem Abbild evolutionärer Prozesse im Genom muß die unterschiedliche Genese seiner einzelnen Sequenzen berücksichtigen. Mark Stoneking und Allan C. Wilson, die zu den Begründern der molekularen Anthropologie zählen, verlangten in einem Aufsatz als erste die Kombinationsanalyse mütterlich, väterlich und biparental vererbter Sequenzen in denselben Populationsstichproben (Stoneking & Wilson, 1989, In: The Colonization of the Pacific, A Genetic Trail, Clarendon Press, Oxford, pp. 215-245). Dies geschah zu einer Zeit, als das Mutationsscreening matrilinearer mitochondrialer DNA-Sequenzen die Spalten der Fachpresse beherrschte und spektakuläre Theorien auf einem Fundament von einigen hundert Nukleotiden extranukleärer DNA aufbauten. Gemeint ist vor allem die „Out of Africa“ - Hypothese, die den Ursprung des modernen Menschen, bzw. der ersten Frau („Eva“) an einen einzigen Ort verlegt, nach Ostafrika. Vor ca. 200.000 Jahren wäre der *Homo sapiens sapiens* hier zuerst aufgetreten, hatte 100.000 Jahre später den Kontinent erstmals verlassen und sich dann weltweit verbreitet. Dabei wurden andere Formen der Gattung *Homo*, die in der „Neuen Welt“ ursprünglich siedelten, nach einer Phase isolierten Zusammenlebens verdrängt, so z.B. der in Europa und im Nahen Osten lebende *Homo sapiens neanderthalensis* (Krings et al. 1997, Cell 90: 19-30). Dieses Verdrängungs *(replacement)* - Modell (die Gegenhypothese ist das polyzentrische Modell einer unabhängigen Entwicklung des modernen Menschen in Afrika, Asien, Europa und Australasien) beruht überwiegend auf der Untersuchung einer einzigen hypervariablen Sequenz des extranukleären Mitochondrien-Genoms und beschreibt strenggenommen nur die weibliche Seite der Evolution. Geeignete Y-chromosomale Polymorphismen waren zu dieser Zeit nicht bekannt, so daß diesem Modell letztendlich die Legitimation fehlte, die Evolution der bisexuellen Gattung Mensch adäquat zu beschreiben.

Knapp 10 Jahre nach der oben erwähnten Empfehlung unterschiedlich evolvierende Marker in denselben Populationsstichproben zu untersuchen, veröffentlichten Seielstadt et al. (1998, Nat Genet 20: 278-280) eine Studie, in der sie autosomale und Y-chromosomale Mikrosatelliten sowie mt-DNA-Sequenzen in Populationen aus Afrika, Ozeanien, Zentral- und Ostasien, Indien/Pakistan, Europa und Amerika miteinander verglichen. Die Autoren postulierten daraufhin eine höhere Migrationsaktivität von Frauen gegenüber Männern, d.h. Frauen verteilen ihre Allele stärker, während männliche Sequenzen eine höhere Populationsspezifität oder Lokalität aufweisen. Sie interpretierten dies als Ausdruck des traditionellen patrilokalen Gesellschaftssystems: die Frauen treten in den Hausstand der Sippe des Mannes ein und nicht umgekehrt. Mark Stoneking kritisierte den Artikel in einem Editorial (1998, Nat Genet 20: 219-220) zu recht, da die Autoren beispielsweise je Population im Schnitt nur 13.3 Männer aber 67.2 Frauen untersucht hatten. Unterschiedliche Marker wurden in unterschiedlicher Dichte für unterschiedliche Populationen analysiert. Stoneking kommt zu dem Schluß, daß es sicherlich ein unterschiedliches Migrationsverhalten von Männern und Frauen gibt, welches sich bei Wahl der geeigneten Marker mit ähnlichen Mutationsraten auch reflektieren ließe. Voraussetzung dafür aber ist die Untersuchung dieser Marker in den gleichen Populationen die sorgfältig ausgewählt werden müssen, wobei auch der Stichprobenumfang und die internen Verwandtschaftsbeziehungen eine wichtige Rolle spielen. In unseren Untersuchungen zur Besiedelung des Westpazifik durch austronesisch-sprachige Einwanderer wurde erstmals versucht, diesen Forderungen annähernd zu entsprechen [25].

Die austronesische Sprachfamilie ist wahrscheinlich die größte der Welt (Tyron, 1994, Mouton de Gruyter, Berlin). 270 Millionen Menschen eines riesigen überwiegend insularen Siedlungsgebietes zwischen Madagaskar, Taiwan, Neuseeland und der Osterinsel verständigen sich in ca. 1200 verschiedenen Sprachen. Der Ursprung dieser Völker wird in Südost-Asien vermutet. Die Expansion begann vor 5000-6000 Jahren und erreichte die entferntesten Punkte im pazifischen und indischen Ozean vor gerade 1000 Jahren (Bellwood, 1995, The Austronesians: historical and comparative perspectives. National Library of Australia, Canberra). Dabei trafen sie auf Völker, die in der ersten Einwanderungswelle etwa vor 40.000 – 60.000 Jahren den indo-malaiischen Archipel südwest- und südostwärts verlassen und über eiszeitliche Landbrücken aber auch schon auf dem Seeweg die Philippinen, Papua-Neuguinea, die Salomon-Inseln und Australien erreicht hatten. Ohne Zweifel waren die „Austronesier“ äußerst

erfolgreiche Kolonisatoren, die aufgrund ihrer überlegenen Wirtschaftsformen (Landwirtschaft, Handel), hochentwickelter Technik (Bootsbau, Töpfermanufaktur) und der hierarchischen Sozialstruktur die ursprünglichen Populationen zunehmend verdrängten. Nicht-austronesisch-sprachige Populationen (NAN), die sich nicht nur in der Sprache sondern auch hinsichtlich der Physis von den Austronesiern (AN) deutlich unterscheiden, sind heute vor allem noch im zentralen Hochland Papua-Neuguineas, als Aborigines in Australien und Maori in Neuseeland oder auf den Philippinen und den Andamanen heimisch. Neben der völligen Verdrängung der ursprünglichen Bewohner, wie vor allem an den Küsten Melanesiens geschehen, gab es ein Aufgehen der Populationen ineinander. Die Mischung der verschiedenen Genpools wurde vor allem in den lange und kontinuierlich besiedelten kontinentnahen Gebieten festgestellt, während die Polynesier kaum Verwandtschaft mit ursprünglichen nicht-austronesischen Populationen der Region zeigten. Neben der Archäologie, der Linguistik und der Ethnologie war es zunehmend die Populationsgenetik, die Erkenntnisse über den soeben grob skizzierte Ablauf einer der großen Völkerwanderungen beisteuerte. Dabei wurden vor allem klassische serologische Marker (Überblick in L. Cavalli-Sforza, P. Menozzi, A.Piazza, 1994, The History and Geography of Human Genes, Princeton University Press, Princeton), mt-DNA (Überblick in Hagelberg, 1997, Electrophoresis 18: 1529-1533), HLA-Sequenzen (Serjeantson & Gao X, 1995, In: The Austronesians: historical and comparative perspectives. Herausgeber: P. Bellwood, J.J. Fox, D. Tyron, National Library of Australia, Canberra, pp. 165-191) und Globin-Gene (O'Shaughnessy et al. 1990, Am J Hum Genet 46: 144-155) untersucht.

In unserem Projekt wurden matrilineare und patrilineare, nichtcodierende Marker (HVRI des mitochondrialen Genoms und der Yh1-Haplotyp des Y-Chromosoms) sowie selektionsempfindliche Sequenz-Polymorphismen in der codierenden HLA-Klasse II Sequenz des Chromosoms 6 (*HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1, -DPB1*) analysiert [25,26]. Besonderes Augenmerk wurde auf die Auswahl der Populationsstichproben gelegt, um z.B. die Beeinträchtigung der genetischen Distanzanalyse bei der Untersuchung linearer Marker durch Verwandtschaft oder bei Selektionsmarkern durch Krankheit auszuschließen oder zu minimieren (u.a. Angaben in Fragebögen zu matrilinearer und patrilinearer Verwandtschaft und Krankheiten). Es wurde versucht, repräsentative Stichproben für AN- und NAN-Gruppen der Region auszuwählen, darunter die Außengruppe der Han-Chinesen, eingeborene Gruppen aus dem hypothetischen Herkunftsgebiet Taiwan, den kleineren melanesischen Inseln (Trobriand, Bismarck-

Archipel), der Landmassen Papua-Neuguinea, Borneo und Java (Hochland und Küste) und der äußeren polynesischen Peripherie (Westsamoa, Abb. 5). Es wurden bewußt keine anonymen DNA-Proben (z.B. aus Repositorien des *Human Genome Diversity Project*) verwendet, stattdessen konnte mit Hilfe des jahrzehntelang in der Region als Arzt und Ethologe tätigen Prof. Wulf Schiefenhövel (MPI für Humanethologie, Andechs-Erling) im Einverständnis mit den Einzelpersonen und dem Stammesverband Blut entnommen werden.

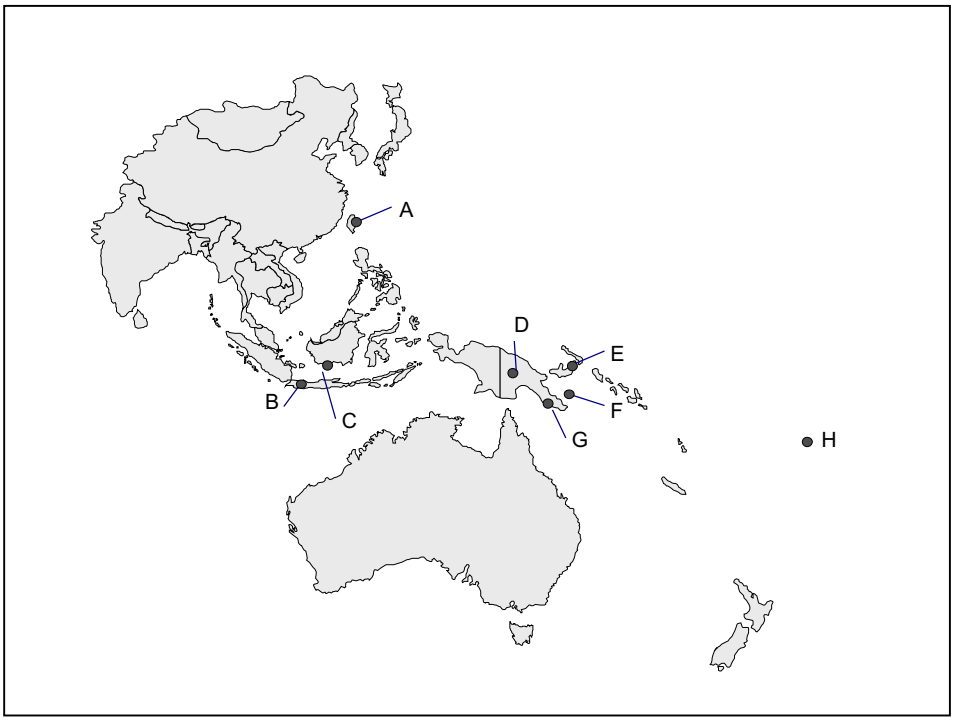

Abb. 5 Herkunft der im Rahmen des Projekts *„The Austronesian Arrival“* untersuchten Populationen (A - Taiwan, B - Java, C - Südborneo, D - Hochland Papua Neuguinea, E – Bismarck-Archipel, F - Trobriand-Inseln, G – Küste Papua Neuguinea, H - Westsamoa)

In freier Analogie zur Heisenbergschen Unschärferelation, wo der Gegenstand der experimentellen Untersuchung mit der Verfeinerung der Meßmethoden immer weniger exakt zu fassen ist, führte gerade dieses Vorgehen nicht zu eindimensional und schlagwortartig faßbaren Ergebnissen (als Beispiel sei der Begriff „*express train to Polynesia*“ genannt, siehe: Diamond, 1988, Nature 336: 307-308). Eindeutig war mit allen Markern eine Verwandtschaft innerhalb der austronesischen Populationen festzustellen. Mt-DNA und HLA-Daten belegen die genetische Nähe der untersuchten Austronesier von Taiwan, der Südküste von Neu-Guinea (Roro), der westlich davon gelegenen Trobriand-Inseln und der polynesischen Samoa-Inseln. Deutlich lassen sich

Hochland-Papua von ihnen abgrenzen. Gemischte Genpools gibt es bei den Bewohnern des Bismarck-Archipels (Tolai) und der Trobriand-Inseln, aber auch bei den Roro, die austronesisch sprechen, aber einen Papua-Phänotyp besitzen. Unsere Untersuchungen der Roro legen nahe, daß es eine starke Rückmigration von den kleineren melanesischen Inseln zurück zum Festland gibt. Y- und mt-DNA-Analyse zeigten teilweise dramatisch unterschiedliche Diversitätswerte: in West-Samoa war die Yh1-Diversität hoch und die mt-DNA Haplotyp-Diversität niedrig, umgekehrt war die Situation bei den Hochland-Papua. Dies illustriert deutlich die Unterschiedlichkeit männlicher und weiblicher Migrationsaktivität. Die Herkunft der heutigen austronesisch-sprachigen Populationen aus Asien können die HLA- und mt-DNA-Ergebnisse belegen, nicht dagegen die Y-STR-Haplotypisierungs-Daten, was dem Einfluß rekurrenter Mutationen zugeschrieben wurde. In [29] wurden daher 8 Basensubstitutions-Polymorphismen des Y-Chromosoms in die Untersuchung einbezogen und in einer erweiterten Studie bei 611 Männern aus 18 Populationen Asiens, Polynesiens, Melanesiens und Australiens analysiert. Die Daten belegen wiederum die ostasiatische Herkunft der melanesischen und polynesischen Y-Chromosomen. Die Migration erfolgte jedoch weder auf dem schnellsten noch auf direkten Wege. Alle bisher im Rahmen dieses Projekts erhobenen populationsgenetischen Daten sprechen dafür, daß Melanesien lange Zeit von Populationen unterschiedlicher Herkunft, Sprache und Kultur bewohnt wurde, wobei es zu einer engen Interaktion und zur Vermischung der Genpools kam, noch ehe die schrittweise Eroberung der pazifischen Inselwelt begann.

6.3 Weitere Y-chromosomale Marker singulären Ursprungs für die Haplotypisierung

Die irreversiblen Strukturveränderungen, die nicht-rekurrente Mutationen in haploiden Bestandteilen des Genoms hervorrufen und die uniparental und linear vererbt werden, sind, wie bereits im Kapitel 6.1 ausgeführt, von hohem diagnostischen Wert für Populationsgenetiker und Anthropologen. So wurde in der bereits ausführlich vorgestellten Studie zur Besiedelung des pazifischen Raumes mit dem sog. „polynesischen Motiv“, einem unverwechselbaren mitochondrialen Mutationsmuster bestehend aus einer 9bp-Deletion und 3 Transitionen, ein Marker verwendet, der die Abgrenzung der Polynesier von ihren Vorfahren und eine Datierung der letzten Etappe der austronesischen Expansion ermöglicht [25].

Ähnliche Bedeutung als Populationsmarker wie das mitochondriale „polynesische Motiv“ könnten das männliche „Australien-Motiv“ und das „Papua-Polynesien-Motiv“ erlangen, die bei der Untersuchung des Y-chromosomalen Mikrosatelliten-Lokus DYS390 im Rahmen des Austronesien-Projektes entdeckt wurden [27,29]. Durch sukzessiven Repeat-Verlust („Papua-Polynesien-Motiv“) oder Reduktion *en bloc* („Australien-Motiv“) entstanden aus dem typischen repetitiven Block, der überwiegend 22-25 Motive enthält, deletierte Allele (19-21 Motive) mit veränderter interner Struktur, die heute nur bei Bewohnern der Pazifik-Region existieren. Da moderne Menschen hier erst seit ca. 60.000 Jahren siedeln, kann die Deletion, deren Neutralität gegen Selektion aufgrund der Mikrosatelliten-Struktur vorausgesetzt werden kann, nicht nur räumlich sondern auch zeitlich eingeordnet werden. Nicht-rekurrente, fixierte Mutationen an Mikrosatelliten-Loci können wie populationsspezifische Basensubstitutionen, deren Zahl auch für Ozeanien steigt (Underhill et al. 1997, Genome Res 7: 996-1005), zukünftig die Marker der Wahl sein, um das Schicksal männlicher Linien über sehr lange Zeiträume zu verfolgen.

Die Besiedelungsgeschichte des Westpazifik ist von äußerster Dynamik geprägt. Handel mit landwirtschaftlichen Gütern, kriegerische Kolonisation und hochentwickelte navigatorische Fähigkeiten der Austronesier beseitigten fast alle Nischen und vereinheitlichten den pazifischen Lebensraum, in dem es ohnehin keine klimatischen und zunehmend weniger unüberwindbare geographische Barrieren gab. Papua-Populationen sahen sich in abgelegene Gebiete zurückgedrängt, z.B. in die unwirtlichen zentralen Bergländer von Papua Neu-Guinea und Irian-Jaya, wo sie heute noch in vergleichsweise großer Isolation als Jäger und Sammler subsistieren. Auf den Andamanen hat die Abgeschiedenheit der Inseln und die extreme Feindseligkeit der Eingeborenenen zum Überleben einer negriden NAN-Population beigetragen, die allerdings die indische Immigration heutiger Zeit kaum überdauern wird. Sprache, Erscheinungsbild und DNA-Sequenzen allein sind bei den Bewohnern dieser völkerreichen Region kein ausreichendes Kriterium, um Abstammung zu belegen. Ein interdisziplinäres Herangehen unter Einschluß von Natur- und Kulturwissenschaften, wie in unserem Versuch unternommen, kann helfen, die Geschichte von Völkern zu schreiben, deren Überleben in Frage steht.

7 Abschließende Diskussion und Ausblick

In den letzten fünf Jahren hat unser Wissen über das Y-Chromosom sprunghaft zugenommen, und es könnte nun, nach den Chromosomen 22 (November 1999) und 21 (Mai 2000), das dritte menschliche Chromosom sein, dessen vollständige (euchromatische) Sequenz entschlüsselt wird. Nicht nur die endgültige Zahl seiner Gene wird dann feststehen, sondern auch seine polymorphen Loci werden leicht *in silico*, nämlich über computergestützte Suchprogramme, z.B. dem „*Tandem Repeat Finder*" für STRs (Benson, 1999, Nucleic Acids Res 27: 573-580) aufzufinden sein. Vor allem die anthropologische Forschung wird auf Grundlage besserer Kenntnis der Genese polymorpher Strukturen des Y-Chromosoms ihre Modellannahmen zur menschlichen Evolution präzisieren können. Der Zugang zu einer großen Zahl bialleler Polymorphismen (SNPs) wird die forensische Diagnostik nicht unbeeinflußt lassen, darauf basierende Biochips machen Instrumente zur DNA-Identifizierung mittels tragbarer Geräte direkt am Tatort technisch denkbar (z.B. Schmalzing et al., 1999, Anal Biochem 270: 148-152). Für autosomale Analysen gilt, daß bereits 60 SNPs maximaler Informativität (Frequenz der beiden Allele je 0.5) die 14 STRs, die heute routinemäßig eingesetzt werden, bei Individualisierungs- und Paternitätsanalysen voll ersetzen können (Krawczak, 1999, Electrophoresis 20 (8): 1676-1681).

Mit den im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Y-STR-Polymorphismen und der Haplotypisierungstechnik steht den forensisch Tätigen schon heute ein wertvolles Instrument für die Identifizierung des Y-Chromosoms bzw. männlicher DNA zur Verfügung. Von einer vollständigen Etablierung der Technik kann und darf jedoch erst gesprochen werden, wenn die Evaluation systematisch fortgeführt und die Mindestanforderungen an die praktizierenden Labors national und international soweit möglich verbindlich festgelegt sind. Im Bereich der Rechtspflege und insbesondere auf dem Gebiet der Strafverfolgung ist die Sicherheit beim Umgang mit neuen labordiagnostischen Methoden von grundsätzlicher Bedeutung. Nötig für eine breite Akzeptanz sind nicht nur ein wissenschaftlich gesicherten Fundament, sondern auch die Erfahrungen der täglichen Fallarbeit, die sowohl im Labor als auch im Gerichtsaal gesammelt werden. Diese Einsicht ist in den letzten 15 Jahren in Anbetracht des nicht einfach zu beherrschenden rasanten Wechsels der molekulargenetischen Methodengenerationen gewachsen. Die interdisziplinären „*Forensic Y-User Workshops*" in Berlin (1997 und 2000) haben nicht unwesentlich dazu beigetragen, die Standards für

die Y-chromosomale Untersuchung einem breiten Anwenderkreis zu vermitteln und sie international zu harmonisieren, Qualitätskontrollen einzuführen, neuen Forschungsergebnissen frühzeitig den Weg in die Routinelabors zu bahnen und diese in der Fallarbeit konsiliarisch zu beraten.

Diese Entwicklung ist nicht selbstverständlich. Die Entscheidung nationaler Behörden in Großbritannien, den USA, mehreren anderen europäischen Ländern und Südafrika, die STR-Technologie zur Etablierung sog. DNA-Datenbanken zu nutzen, mit dem Ziel, (autosomale) DNA-Profile von Straftätern, biologischen (Tatort-) Spuren oder auch von vermißten Personen in Ermittlungsverfahren abrufbar zu machen führt fast unweigerlich zu einem „Einfrieren“ von Untersuchungsmethoden auf dem gegenwärtigen Stand der Technik (For Sci International, 1997, Sonderheft 88, Herausgeber: P. M. Schneider). Gleichzeitig wird die Untersuchung der Proben zunehmend von behördlichen oder auch von privatwirtschaftlichen Einrichtungen durchgeführt, deren Interesse an einer „forschenden“ forensischen Molekulargenetik strukturell begrenzt ist. Die Entwicklungen, die durch das Jeffreys´sche Laborexperiment aus dem Jahre 1985 ausgelöst wurden, wären jedoch ohne intensive Forschung auf den Gebieten Genomanalyse, Mutationsmechanismen, Populationsgenetik und Biostatistik nicht möglich gewesen. Ein enges und dauerhaftes Zusammenwirken von Wissenschaftlern und Praktikern, wie es bei der schrittweisen Etablierung der Y-chromosomalen Haplotypisierungstechnik praktiziert wurde, kann für eine erfolgreiche Zukunft des Fachgebietes der forensischen Genetik beispielgebend sein.

8 Abkürzungsverzeichnis

AMOVA	analysis of molecular variance
AN	Austronesian speaking
bp	Basenpaare
CIL	confidence interval limit(s)
cos	cosmid clone
DNA	deoxyribonucleic acid
EDNAP	European DNA Profiling Group
GEDNAP	German DNA Profiling Group
HLA	human leukocyte antigene
HVR	hypervariable region
IBD	identity by descent
IBS	identity by state
ISFG	International Society of Forensic Genetics
kb	Kilobasen
LR	likelihood ratio
Mb	Megabasen
MHC	major histocompatibility complex
MRCA	most recent common ancestor
mt-DNA	mitochondrial deoxyribonucleic acid
NAN	non-Austronesian speaking
PCR	polymerase chain reaction
PIC	polymorphism information content
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
SMM	single step mutation
SNP	single nucleotide polymorphism
STR	short tandem repeat
STS	sequence tagged site
VNTR	variable number of tandem repeats
Yh	Y chromosomaler Haplotyp
Yp	Y Chromosom, kurzer Arm
Yq	Y Chromosom, langer Arm

II Publikationen zur ausführlichen Zusammenfassung

1. NÜRNBERG, P., **ROEWER, L.,** NEITZEL, H., SPERLING, K., PÖPPERL, A., HUNDRIESER J., PÖCHE H., EPPLEN, C., ZISCHLER, H. & EPPLEN, J.T. (1989). DNA fingerprinting with the oligonucleotide probe $(CAC)_5/(GTG)_5$: somatic stability and germline mutations. Hum Genet **84**, 75-78.
   Impact-Faktor: 3.1

2. **ROEWER, L.,** NÜRNBERG, P., FUHRMANN, E., ROSE, M., PROKOP, O. & EPPLEN, J.T. (1990). Stain analysis using oligonucleotide probes specific for simple repetitive DNA sequences. For Sci International **47**, 59-70.
   Impact-Faktor: 1.4

3. EPPLEN, J.T., AMMER, H., EPPLEN, C., KAMMERBAUER, C., MITREITER, R., **ROEWER, L.,** SCHWAIGER, W., STEIMLE, V., ZISCHLER, H., ALBERT, E., ANDREAS, A., BEYERMANN, B., MEYER, W., BUITKAMP, J., NANDA, I., SCHMID, M., NÜRNBERG, P., PENA, S.D.J., PÖCHE, H., SPRECHER, W., SCHARTL, M., WEISING, K. & YASSOURIDIS, A. (1991). Oligonucleotide fingerprinting using simple repeat motifs: A convenient, ubiquitously applicable method to detect hypervariability for multiple purposes. In: DNA fingerprinting: Approaches and applications. Edited by BURKE, T., DOLF, G., JEFFREYS, A.J. & WOLFF, R., Birkhäuser-Verlag Basel/Switzerland, pp. 50-69.

4. EPPLEN, J.T., MELMER, G., SCHMIDT, P., **ROEWER, L.,** HUNDRIESER, J., EPPLEN, C. & BUITKAMP, J. (1992). On the potential of simple repetitive DNA for fingerprinting in clinical, forensic and evolutionary dynamic studies. Clin Investigator **70**, 1043-1051.
   Impact-Faktor: 1.1

5. **ROEWER, L.,** RIEß, O. & PROKOP, O. (1991). Hybridization and PCR amplification of simple repeated DNA sequences for the analysis of forensic stains. Electrophoresis **12**, 181-186.
   Impact-Faktor: 3.5

6. KUNSTMANN, E., BOCKER, T., **ROEWER, L.,** SAUER, H., MEMPEL, W. & EPPLEN, J.T. (1992). Diagnosis of transfusion-associated graft-versus-host disease by genetic fingerprinting and polymerase chain reaction. Transfusion **32**, 766-770.
   Impact-Faktor: 3.8

7. **ROEWER, L.,** ARNEMANN, J., SPURR, N.K., GRZESCHIK, K.H. & EPPLEN, J.T. (1992). Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. Hum Genet **89**, 389-394.
   Impact-Faktor: 3.1

8. GOMOLKA, M., HUNDRIESER, J., NÜRNBERG, P., **ROEWER, L.,** EPPLEN, J.T. & EPPLEN, C. (1994). Selected di- and tetranucleotide microsatellites from chromosomes 7, 12, 14 and Y in various Eurasian populations. Hum Genet **93**, 592-596.

Impact-Faktor: 3.1

9. KAYSER, M., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FRETWELL, N., GEHRIG, C., GRAZIOSI, G., HEIDORN, F., HERRMANN, S., HERZOG, B., HIDDING, M., HONDA, K., JOBLING, M., KRAWCZAK, M., LEIM, K., MEUSER, S., MEYER, E., OESTERREICH, W., PANDYA, A., PARSON, W., PICCININI, A., PEREZ-LEZAUN, A., PRINZ, M., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P.M., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., WEICHHOLD, G., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.** (1997). Evaluation of Y chromosomal STRs: A Multicenter Study. Int J Legal Med **110** (3), 125-133.

Impact-Faktor: 1.6

10. KAYSER, M., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FRETWELL, N., GEHRIG, C., GRAZIOSI, G., HEIDORN, F., HERRMANN, S., HERZOG, B., HIDDING, M., HONDA, K., JOBLING, M., KRAWCZAK, M., LEIM, K., MEUSER, S., MEYER, E., OESTERREICH, W., PANDYA, A., PARSON, W., PICCININI, A., PEREZ-LEZAUN, A., PRINZ, M., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P.M., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., WEICHHOLD, G., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.** (1997). Y-chromosomal STRs: Reference tables. Int J Legal Med **110** (3),141-149.

Impact-Faktor: 1.6

11. KAYSER, M., NÜRNBERG, P., BERCOVITCH, F., NAGY, M. & **ROEWER, L.** (1995). Increased microsatellite variability in *Macaca mulatta* compared to human due to a large scale deletion/insertion event during primate evolution. Electrophoresis **16**, 1607-1611.

Impact-Faktor: 3.4

12. KAYSER, M., RITTER, H., BERCOVITCH, F., MRUG, M., **ROEWER, L.** & NÜRNBERG, P. (1996). Identification of five highly polymorphic microsatellites in rhesus macaque *Macaca mulatta* by cross-species amplification. Mol Ecol **5**, 157-159.

Impact-Faktor: 3.0

13. RIEß, O., KAMMERBAUER, C., **ROEWER, L.,** STEIMLE, V., ANDREAS A., ALBERT, E., NAGAI, T. & EPPLEN, J.T. (1990). Hypervariability of intronic simple $(gt)_n(ga)_m$ repeats in *DRB* genes. Immunogenetics **32**, 110-116.

Impact-Faktor: 2.9

14. KAYSER, M., **ROEWER, L.**, HEDMAN, M., HENKE, L., HENKE, J., BRAUER, S., KRÜGER, C., KRAWCZAK, M., NAGY, M., DOBOSZ, T., SZIBOR, R., DE KNIJFF, P., STONEKING, M. & SAJANTILA, A. (2000) Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father / son pairs. Am J Hum Genet **66**, 1580-1588.

Impact-Faktor: 10.4

15. DE KNIJFF, P., KAYSER, M., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FRETWELL, N., GEHRIG, C., GRAZIOSI, G., HEIDORN, F., HERRMANN, S., HERZOG, B., HIDDING, M., HONDA, K., JOBLING, M., KRAWCZAK, M., LEIM, K., MEUSER, S., MEYER, E., OESTERREICH, W., PANDYA, A., PARSON, W., PICCININI, A., PEREZ-LEZAUN, A., PRINZ, M., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P.M., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., WEICHHOLD, G. & **ROEWER, L.** (1997). Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. Int J Legal Med **110** (3), 134-140.
Impact-Faktor: 1.6

16. **ROEWER, L.**, KAYSER, M., DIELTJES, P., NAGY, M., BAKKER, E., KRAWCZAK, M. & DE KNIJFF, P. (1996). Analysis of Molecular Variance (AMOVA) of Y-chromosome specific microsatellites in two closely related human populations. Hum Mol Genet **5** (7), 1029-1033.
Corrigendum (1997). Hum Mol Genet **6** (5), 828.
Impact-Faktor: 9.4

17. **ROEWER, L.,** KAYSER, M., DE KNIJFF, P., ANSLINGER, K., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FÜREDI, S., HENKE, L., HIDDING, M., KÄRGEL, H.-J., LESSIG, R., NAGY, M., PASCALI, V.L., PARSON, W., ROLF, B., SCHMITT, C., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J. & KRAWCZAK, M. (2000). A new method for the evaluation of matches in non-recombining genomes: application to Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes in European males. For Sci International 114 (1): 31- 43.
Impact-Faktor: 1.4

18. KAYSER, M., DE KNIJFF, P., DIELTJES, P., KRAWCZAK, M., NAGY, M., ZERJAL, T., PANDYA, A., TYLER-SMITH, C. & **ROEWER, L.** (1997). Applications of microsatellite based Y chromosome haplotyping. Electrophoresis **18**, 1602-1607.
Impact-Faktor: 3.4

19. **ROEWER, L.** & EPPLEN, J.T. (1992). Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. For Sci International **53**, 163-171.
Impact-Faktor: 1.4

20. HONDA, K., **ROEWER, L.** & DE KNIJFF, P. (1999). Male DNA typing from 25-year-old vaginal swabs using Y STR polymorphisms in retrial request case. J Forensic Sci **44** (4), 868-872.
Impact-Faktor: 1.0

21. ROLF, B., KEIL, W., BRINKMANN, B., **ROEWER, L.** & FIMMERS, R. (2000). Paternity testing using Y-STR haplotypes: Assigning a probability for paternity in cases of mutations. Int J Legal Med (in press)

22. SZIBOR, R., KAYSER, M. & **ROEWER, L.** (2000). Identification of the Human Y-Chromosomal Microsatellite DYS19 from degraded DNA. Am J Foren Med Path 21(3): 252-254.
Impact-Faktor: 0.6

23. **ROEWER, L.,** NAGY, M., SCHMIDT, P., EPPLEN, J.T. & HERZOG-SCHRÖDER, G. (1993). Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomami Indians. In: DNA fingerprinting: State of the Science. Edited by PENA, S.D.J., CHAKRABORTY, R., EPPLEN, J.T., JEFFREYS, A.J., Birkhäuser Verlag Basel Boston Berlin, pp. 221-230.

24. ZERJAL, T., DASHNYAM, B., PANDYA, A., KAYSER, M., **ROEWER, L.**, SANTOS, F.R., SCHIEFENHÖVEL, W., FRETWELL, N., JOBLING, M.A., HARIHARA, S., SHIMIZU, K., SEMJIDMAA, D., SAJANTILA, A., SALO, P., CRAWFORD, M.H., GINTER, E.K., EVGRAFOV, O.V. & TYLER-SMITH, C. (1997). Genetic Relationships of Asians and Northern Europeans, revealed by Y-chromosomal DNA analysis. Am J Hum Genet **60**, 1174-1183.
Impact-Faktor: 10.4

25. HAGELBERG, E., KAYSER, M., NAGY, M., **ROEWER, L.**, ZIMDAHL, H., KRAWCZAK, M., LIÓ, P. & SCHIEFENHÖVEL, W. (1999). Molecular genetic evidence for the human settlement of the Pacific: analysis of mitochondrial DNA, Y chromosome and HLA markers. Philos T Roy Soc B **354**, 141-152.
Impact-Faktor: 2.9

26. ZIMDAHL, H., SCHIEFENHÖVEL, W., KAYSER, M., **ROEWER, L.** & NAGY, M. (1999). Towards understanding the origin and dispersal of Austronesians in the Solomon Sea: HLA class II polymorphism in eight distinct populations of Asia-Oceania. Eur J Immunogenet **26**, 405-416.
Impact-Faktor: 1.7

27. FORSTER, P., KAYSER, M., MEYER, E., **ROEWER, L.,** PFEIFFER, H., BENKMANN, H. & BRINKMANN, B. (1998). Phylogenetic resolution of complex mutational features at Y-STR DYS390 in aboriginal Australians and Papuans. Mol Biol Evol **15**, 1108-1114.
Impact-Faktor: 5.3

28. KAYSER, M., KRAWCZAK, M., EXCOFFIER, L., DIELTJES, P., CORACH, D., PASCALI, V., GEHRIG, C., BERNINI, L.F., JESPERSEN, J., BAKKER, E., **ROEWER, L.** & DE KNIJFF, P. (2001). Extensive analysis of chromosome Y microsatellite haplotypes from globally dispersed human populations. Am J Hum Genet **68**, 990-1018.
Impact-Faktor: 10.4

29. KAYSER, M., BRAUER, S., WEISS, G., UNDERHILL, P., **ROEWER, L.**, SCHIEFENHÖVEL, W. & STONEKING, M. (2000). Melanesian Origin of Polynesian Y Chromosomes. Curr Biol **10**, 1237 – 1246.
Corrigendum (2001). Curr Biol, **11**(2).
Impact-Faktor: 8.7

30. ROSSER, Z.H., ZERJAL, T., HURLES,M.E., ADOJAAN, M., ALAVANTIC, D., AMORIM, A., AMOS, W., ARMENTEROS, M., ARROYO, E., BARBUJANI, G., BECKMAN, L., BERTRANPETIT, J., BOSCH, E., BRADLEY, D.G., BREDE, G., COOPER, G.C., CORTE-REAL, H., DE KNIJFF, P., DECORTE, R., DUBROVA, Y.E., EVGRAFOV, O., GILISSEN,

A., GLISIC, S., GÖLGE, M., HILL, E.W., JEZIOROVSKA, A., KALAYDIJEVA, L., KAYSER, M., KRAVCHENKO, S.A., LAVINHA, J., LIVSHITS, L.A., MARIA, S., MCELREAVEY, K., MEITINGER, T.A., MELEGH, B., MITCHELL, R.J., NICHOLSON, J., NORBY, S., NOVELETTO, A., PANDYA, A., PARIK, J., PATSALIS, P.C., PEREIRA, L., PETERLIN, B., PIELBERG, G., PRATA, M.J., PREVIDERÉ, C., RAJCZY, K., **ROEWER, L.,** ROOTSI, S., RUBINSZTEIN, D.C., SAILLARD, J., SANTOS, F.R., SHLUMUKOVA, M., STEFANESCU, G., SYKES, B.C., TOLUN, A., VILLEMS, R., TYLER-SMITH, C. & JOBLING, M.A. (2000). Y-chromosomal diversity within Europe is clinal and influenced primarily by geography rather than language. Am J Hum Genet **67**, 1526-1543. Erratum (2001). Am J Hum Genet **68**, 1075.

Impact-Faktor: 10.4

Σ Impact-Faktoren: ***112***

III Verzeichnis sämtlicher Publikationen

1. KEIL, W., MADEA B. & **ROEWER L.** (1988). Zur Hämagglutinationsaktivität des Lektins aus *Evonymus europaea*. Haima Immunreport **3**, 6-7.

2. **ROEWER, L.,** ROSE M., SEMM, K. CORRENS, A. & EPPLEN, J.T. (1989). Typisierung gelagerter, hämolysierter Blutproben durch „DNA-Fingerprinting“. Arch Kriminol **184**, 103-107.

3. **ROEWER, L.,** NAGAI, T., PROKOP, O. & EPPLEN J.T. (1989). Oligonucleotide Fingerprints from human urine. Fingerprint News **4**, 8.

4. NÜRNBERG, P., **ROEWER, L.,** NEITZEL, H., SPERLING, K., PÖPPERL, A., HUNDRIESER J., PÖCHE H., EPPLEN, C., ZISCHLER, H. & EPPLEN, J.T. (1989). DNA fingerprinting with the oligonucleotide probe $(CAC)_5/(GTG)_5$: somatic stability and germline mutations. Hum Genet **84**, 75-78.

5. **ROEWER, L.,** NAGAI, T., KRÜGER, C. & ROSE, M. (1990). DNA-Analyse aus dem Urin. Krim Forens Wiss **77/78**, 181-182.

6. **ROEWER, L.,** NÜRNBERG, P., FUHRMANN, E., ROSE, M., PROKOP, O. & EPPLEN, J.T. (1990). Stain analysis using oligonucleotide probes specific for simple repetitive DNA sequences. Forensic Sci Int **47**, 59-70.

7. ROSE, M., NAGAI, T., **ROEWER, L.,** KRÜGER, C. & EPPLEN, J.T. (1990). Praktikabilität digoxigenierter Oligonukleotid-Sonden für den DNA-Fingerprint. Haima Immunreport **5**, 9-12.

8. RIEß, O., KAMMERBAUER, C., **ROEWER, L.,** STEIMLE, V., ANDREAS A., ALBERT, E., NAGAI, T. & EPPLEN, J.T. (1990). Hypervariability of intronic simple $(gt)_n(ga)_m$ repeats in *DRB* genes. Immunogenetics **32**, 110-116.

9. ZISCHLER, H., NÜRNBERG, P., **ROEWER, L.,** PÖCHE, H., NANDA, I., SCHMID, M. & EPPLEN, J.T. (1990). Application of simple repeat oligonucleotides for DNA fingerprinting. In: Advances in Forensic Haemogenetics 3. Edited by POLESKY, H.F. & MAYR, W.R., Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, pp. 125-127.

10. PROKOP, O., ROSE, M. & **ROEWER, L.** (1990). Cesare LOMBROSO, die Serogenetik, DNA, RFLP und kein Ende. In: Past, Present and Future of Forensic Medicine. Tagungsband zum Satellite Symposium anläßlich des 100th Anniversary of the Opening of Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, University of Tokyo, 9.10.1990.

11. **ROEWER, L.** (1990). Zur Darstellung und Anwendung simpler repetitiver Oligonukleotidsequenzen in der Gerichtlichen Medizin. Dissertation, Institut für Gerichtliche Medizin der Charité, Humboldt-Universität zu Berlin.

12. EPPLEN, J.T., KAMMERBAUER, C., ZISCHLER, H., STEIMLE, V., EPPLEN, C., **ROEWER, L.,** RIEß, O., ANDREAS, A., ALBERT, E., NANDA,

I. & SCHMID, M. (1991). On the meaning of individual hypervariable DNA loci containing stretches of simple repeat sequences. In: Molecular Biology of Tumour Research. Edited by ISSINGER, O.G., HENKE, J., KÖMPF, J. & DRIESEL, A.J., Hüthig-Buch-Verlag Heidelberg, Adv Mol Genet **3**, 119-120.

13. **ROEWER, L.,** RIEß, O. & PROKOP, O. (1991). Hybridization and PCR amplification of simple repeated DNA sequences for the analysis of forensic stains. Electrophoresis **12**, 181-186.

14. EPPLEN, J.T., AMMER, H., EPPLEN, C., KAMMERBAUER, C., MITREITER, R., **ROEWER, L.,** SCHWAIGER, W., STEIMLE, V., ZISCHLER, H., ALBERT, E., ANDREAS, A., BEYERMANN, B., MEYER, W., BUITKAMP, J., NANDA, I., SCHMID, M., NÜRNBERG, P., PENA, S.D.J., PÖCHE, H., SPRECHER, W., SCHARTL, M., WEISING, K. & YASSOURIDIS, A. (1991). Oligonucleotide fingerprinting using simple repeat motifs: A convenient, ubiquitously applicable method to detect hypervariability for multiple purposes. In: DNA fingerprinting: Approaches and applications. Edited by BURKE, T., DOLF, G., JEFFREYS, A.J. & WOLFF, R., Birkhäuser-Verlag Basel/Switzerland, pp. 50-69.

15. EPPLEN J.T., ZISCHLER, H., **ROEWER, L.** & NÜRNBERG, P. (1991). Anwendungen des Genetischen Fingerabdruckes in der Medizin. Deutsches Ärzteblatt **88** (7), D372-D376.

16. EPPLEN, J.T., MÄUELER, W., BUITKAMP, J., GOMOLKA M., PIRCHNER, C., **ROEWER, L.,** SCHWAIGER, F.W., & EPPLEN, C. (1991). On hypervariable, simple, repetitive DNA elements in eucaryote genomes: fact, function, fiction. In: Electrophoresis Forum ´91. Edited by RADOLA, B.J., Bode Verlag München, pp. 97-108.

17. KUNSTMANN, E., BOCKER, T., **ROEWER, L.,** SAUER, H., MEMPEL, W. & EPPLEN, J.T. (1992). Diagnosis of transfusion-associated graft-versus-host disease by genetic fingerprinting and polymerase chain reaction. Transfusion **32**, 766-770.

18. **ROEWER, L.** & NÜRNBERG, P. (1992). DNA Fingerprinting. In: Transfusionsmedizin - Aktuell (2.Auflage). Hrsg. KÖHLER, M. & MAYR, W.R., Verlag Ermer KG, Homburg-Saar, pp. 137-144.

19. NAGY, M. & **ROEWER, L.** (1992). Die PCR-Analyse. In: Transfusionsmedizin - Aktuell (2.Auflage). Hrsg. KÖHLER, M. & MAYR, W.R., Verlag Ermer KG, Homburg-Saar, pp. 137-144.

20. **ROEWER, L.,** ARNEMANN, J., SPURR, N.K., GRZESCHIK, K.H. & EPPLEN, J.T. (1992). Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. Hum Genet **89**, 389-394.

21. **ROEWER, L.** & EPPLEN, J.T. (1992). Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. Forensic Sci Int **53**, 163-171.

22. **ROEWER, L.,** ARNEMANN, J. & EPPLEN, J.T. (1992). Analysis of forensic stains via PCR amplification of polymorphic simple $(gata)_n$ repeats. In: Advances in Forensic Haemogenetics 4. Edited by RITTNER, C. & SCHNEIDER, P.M., Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, pp. 115-117.

23. EPPLEN, J.T., MELMER, G., SCHMIDT, P., **ROEWER, L.,** HUNDRIESER, J., EPPLEN, C. & BUITKAMP, J. (1992). On the potential of simple repetitive DNA for fingerprinting in clinical, forensic and evolutionary dynamic studies. Clin Investigator **70**, 1043-1051.

24. **ROEWER, L.,** NAGY, M., SCHMIDT, P., EPPLEN, J.T. & HERZOG-SCHRÖDER, G. (1993). Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomami Indians. In: DNA fingerprinting: State of the Science. Edited by PENA, S.D.J., CHAKRABORTY, R., EPPLEN, J.T., JEFFREYS, A.J., Birkhäuser Verlag Basel Boston Berlin, pp. 221-230.

25. GOMOLKA, M., HUNDRIESER, J., NÜRNBERG, P., **ROEWER, L.,** EPPLEN, J.T. & EPPLEN, C. (1994). Selected di- and tetranucleotide microsatellites from chromosomes 7, 12, 14 and Y in various Eurasian populations. Hum Genet **93**, 592-596.

26. **ROEWER, L.** (1994). DNA - The code of life. In: The illustrated history of humankind (Volume 5), Weldon Owen Pty Ltd./Bra Bröcker AB, Sydney Australia, pp. 22-23.

27. NAGY, M., **ROEWER, L.**, NÜRNBERG, P., BOCKEL, B, KRAWCZAK, M. & GESERICK, G. (1995). Strategies in paternity testing and forensic case work - the Charité experience. In: Advances in Forensic Sciences 6, Edited by JACOB, B. & BONTE, W., Verlag Dr. Köster Berlin, pp. 90-96.

28. KAYSER, M., NÜRNBERG, P., BERCOVITCH, F., NAGY, M. & **ROEWER, L.** (1995). Increased microsatellite variability in *Macaca mulatta* compared to human due to a large scale deletion/insertion event during primate evolution. Electrophoresis **16**, 1607-1611.

29. KAYSER, M., RITTER, H., BERCOVITCH, F., MRUG, M., **ROEWER, L.** & NÜRNBERG, P. (1996). Identification of five highly polymorphic microsatellites in rhesus macaque *Macaca mulatta* by cross-species amplification. Mol Ecol **5**, 157-159.

30. **ROEWER, L.**, KAYSER, M., NAGY, M. & DE KNIJFF, P. (1996). Male identification using Y-chromosomal STR polymorphisms. In: Advances in Forensic Haemogenetics 6, Edited by CARRACEDO, A., BRINKMANN, B., BÄR, W., Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, pp. 124-126.

31. **ROEWER, L.**, KAYSER, M., DIELTJES, P., NAGY, M., BAKKER, E., KRAWCZAK, M. & DE KNIJFF, P. (1996). Analysis of Molecular Variance (AMOVA) of Y-chromosome specific microsatellites in two closely related human populations. Hum Mol Genet **5 (7)**, 1029-1033.

32. DE KNIJFF, P., **ROEWER, L.,** KAYSER, M. & BAKKER, E.B. (1996). Chromosome Y microsatellites and their use in determining population affinities. Am J Hum Genet **59** (4) (suppl.).

33. KAYSER, M., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FRETWELL, N., GEHRIG, C., GRAZIOSI, G., HEIDORN, F., HERRMANN, S., HERZOG, B., HIDDING, M., HONDA, K., JOBLING, M., KRAWCZAK, M., LEIM, K., MEUSER, S., MEYER, E., OESTERREICH, W., PANDYA, A., PARSON, W., PICCININI, A., PEREZ-LEZAUN, A., PRINZ, M., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P.M., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., WEICHHOLD, G., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.** (1997). Evaluation of Y chromosomal STRs: A Multicenter Study. Int J Legal Med **110** (3), 125-133, 141-149.

34. DE KNIJFF, P., KAYSER, M., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FRETWELL, N., GEHRIG, C., GRAZIOSI, G., HEIDORN, F., HERRMANN, S., HERZOG, B., HIDDING, M., HONDA, K., JOBLING, M., KRAWCZAK, M., LEIM, K., MEUSER, S., MEYER, E., OESTERREICH, W., PANDYA, A., PARSON, W., PICCININI, A., PER EZ-LEZAUN, A., PRINZ, M., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P.M., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., WEICHHOLD, G. & **ROEWER, L.** (1997). Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. Int J Legal Med **110** (3), 134-149.

35. ZERJAL, T., DASHNYAM, B., PANDYA, A., KAYSER, M., **ROEWER, L.**, SANTOS, F.R., SCHIEFENHÖVEL, W., FRETWELL, N., JOBLING, M.A., HARIHARA, S., SHIMIZU, K., SEMJIDMAA, D., SAJANTILA, A., SALO, P., CRAWFORD, M.H., GINTER, E.K., EVGRAFOV, O.V. & TYLER-SMITH, C. (1997). Genetic Relationships of Asians and Northern Europeans, revealed by Y-chromosomal DNA analysis. Am J Hum Genet **60**, 1174-1183.

36. KAYSER, M., DE KNIJFF, P., DIELTJES, P., KRAWCZAK, M., NAGY, M., ZERJAL, T., PANDYA, A., TYLER-SMITH, C. & **ROEWER, L.** (1997). Applications of microsatellite based Y chromosome haplotyping. Electrophoresis **18**, 1602-1607.

37. DE KNIJFF, P., KAYSER, M., HEYER, E., DIELTJES, P., BAKKER, E.B. & **ROEWER, L.**: Sequence structure, mutation rates and chromosomal localization of a set of Y chromosome microsatellites (Vortrag). 3rd International HUGO Single Chromosome Workshop on the Y Chromosome, 13.-16.4.1997, Heidelberg, Abstract in: Genome Data Base, accession number CIT 766063, Cytogenetic Cell Genet **79**, 1-20.

38. **KAYSER, M., ROEWER, L.,** TYLER-SMITH, C. & DE KNIJFF, P.: Genetic variation at Y chromosomal microsatellite loci (Poster). 3rd International HUGO Single Chromosome Workshop on the Y Chromosome, 13.-16.4.1997, Heidelberg, Abstract in: Genome Data Base, accession number CIT 765978, Cytogenetic Cell Genet **79**, 1-20.

39. NAGY, M., ZIMDAHL, H., KRÜGER, C., ANDERS, P., KAYSER, M., **ROEWER, L.** & SCHIEFENHÖVEL, W. (1998). Are the Trobriands emigrants of South East Asia? In: Genetic Diversity of HLA: Functional and medical

implications. Proceedings of the 12th International Histocompatibility Workshop and Conference. Edited by CHARRON, D.J., EDK Medical and Scientific International Publisher, Sevres, pp. 185-188.

40. **ROEWER, L.** (1998). Beiträge der modernen Hämogenetik zur Identifikation. DNA-Merkmale. In: Identifikation unbekannter Toter. Interdisziplinäre Methodik, forensische Osteologie. Hrsg. LEOPOLD, D., Verlag Schmidt-Römhild, Lübeck, pp. 327-354.

41. FORSTER, P., KAYSER, M., MEYER, E., **ROEWER, L.,** PFEIFFER, H., BENKMANN, H. & BRINKMANN, B. (1998). Phylogenetic resolution of complex mutational features at Y-STR DYS390 in aboriginal Australians and Papuans. Mol Biol Evol **15**, 1108-1114.

42. **ROEWER, L.** (1998). The Y chromosome: Forensic application and evolutionary aspects. In: Progress in Forensic Genetics 7. Proceedings of the 17th International ISFH Congress, Oslo, 2-6 September 1997. Edited by OLAISEN B, BRINKMANN B, LINCOLN PJ, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 407-412.

43. CORACH, D., PENACINO, G., SALA, A., IANUCCI, N., MARTINEZ, M., VILLAFANE, A., KAYSER, M. & **ROEWER, L.** (1998). Validation studies of Y-specific STRs: Forensic casework evaluation. In: Progress in Forensic Genetics 7. Proceedings of the 17th International ISFH Congress, Oslo, 2-6 September 1997. Edited by OLAISEN B, BRINKMANN B, LINCOLN PJ, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 407-412.

44. KAYSER, M., KRÜGER, C., NAGY, M., GESERICK, G., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.** (1998). Chromosome Y analysis in paternity testing: Experiences and recommendations. In: Progress in Forensic Genetics 7. Proceedings of the 17th International ISFH Congress, Oslo, 2-6 September 1997. Edited by OLAISEN B, BRINKMANN B, LINCOLN PJ, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 407-412.

45. ZIMDAHL, H., KRÜGER, C., ANDERS, P., GESERICK, G., **ROEWER, L.** & NAGY, M. (1998). Evaluation and application of highly informative and sensitive HLA-*DRB* and -*DPB* INNO-LIPA typing systems in forensic practice. In: Progress in Forensic Genetics 7. Proceedings of the 17th International ISFH Congress, Oslo, 2-6 September 1997. Edited by OLAISEN B, BRINKMANN B, LINCOLN PJ, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 407-412.

46. **ROEWER, L.** (1998) Paternitätsdiagnostik. DNA Short Tandem repeat (STR) Systeme. In: DGI Technisches Handbuch Histokompatibilität & Immungenetik. Hrsg. BEIN, G., NAGY, M., WAßMUTH, R., WEGENER, S., Methodenkommission der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik, pp. 230-234.

47. **ROEWER, L**., DE KNIJFF, P. & KAYSER, M. (1999) Y chromosome STR analysis in Forensic Practice. In: Proceedings from the Second European

Symposium on Human Identification. Ed. Promega Corporation, Madison, USA, pp. 13-16.

48. HAGELBERG, E., KAYSER, M., NAGY, M., **ROEWER, L.**, ZIMDAHL, H., KRAWCZAK, M., LIÓ, P. & SCHIEFENHÖVEL, W. (1999) Molecular genetic evidence for the human settlement of the Pacific: analysis of mitochondrial DNA, Y chromosome and HLA markers. Philos T Roy Soc B **354**, 141-152.

49. **ROEWER, L**., NAGY, M. & GESERICK, G. (1999) Der genetische Fingerabdruck. Humboldt-Spektrum **6 (1)**, 4-15.

50. HONDA, K., **ROEWER, L.** & DE KNIJFF, P. (1999). Male DNA typing from 25-year-old vaginal swabs using Y STR polymorphisms in retrial request case. J Forensic Sci **44(4)**, 868-872.

51. KRAWCZAK, M. & **ROEWER,L.** (1999) Frequency estimation for rare Y-chromosomal haplotypes. (Poster) Abstract cited in: Am J Hum Genet **65 (4)**, A 208.

52. ZIMDAHL, H., SCHIEFENHÖVEL, W., KAYSER, M., **ROEWER, L.** & NAGY, M. (1999) Towards understanding the origin and dispersal of Austronesians in the Solomon Sea: HLA class II polymorphism in eight distinct populations of Asia-Oceania. Eur J Immunogenet **26**, 405-416.

53. **ROEWER, L**., KAYSER, M., ANSLINGER, K., AUGUSTIN, C., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FÜREDI, S., GESERICK, G., HENKE, L., HIDDING, M., KÄRGEL, H.-J., DE KNIJFF, P., LESSIG, R., PASCALI, V.L., PARSON, W., PRINZ, M., ROLF, B., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., KRAWCZAK, M. (1999). Caucasian Y-STR haplotype reference database for forensic application. In: Progress in Forensic Genetics 8. Proceedings of the 18th International ISFH Congress, San Francisco, 17-21 August 1999. Edited by SENSABAUGH, G.F., LINCOLN, P.J., OLAISEN B, Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp. 613-615.

54. KAYSER, M., **ROEWER, L.**, HEDMAN, M., HENKE, L., HENKE, J., BRAUER, S., KRÜGER, C., KRAWCZAK, M., NAGY, M., DOBOSZ, T., SZIBOR, R., DE KNIJFF, P., STONEKING, M. & SAJANTILA, A. (2000) Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father / son pairs. Am J Hum Genet **66**, 1580-1588.

55. SZIBOR, R., KAYSER, M. & **ROEWER, L.** (2000). Identification of the Human Y-Chromosomal Microsatellite DYS19 from degraded DNA. Am J Foren Med Path **21(3)**, 252-254.

56. **ROEWER, L.,** KAYSER, M., DE KNIJFF, P., ANSLINGER, K., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FÜREDI, S., HENKE, L., HIDDING, M., KÄRGEL, H.-J., LESSIG, R., NAGY, M., PASCALI, V.L., PARSON, W., ROLF, B., SCHMITT, C., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J. & KRAWCZAK, M. (2000). A new method for the evaluation of matches in non-recombining

application to Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes in European males. For Sci International **114 (1)**, 31- 43.

57. ROLF, B., KEIL, W., BRINKMANN, B., **ROEWER, L.**, FIMMERS, R. (2000) Paternity testing using Y-STR haplotypes: Assigning a probability for paternity in cases of mutations. Int J Legal Med (in press)

58. KAYSER, M., KRAWCZAK, M., EXCOFFIER, L., DIELTJES, CORACH, D., PASCALI, V., GEHRIG, C., SCHIEFENHÖVEL, W., BERNINI, JESPERSEN, BAKKER, **ROEWER, L**., DE KNIJFF, P. (2001) Extensive analysis of chromosome Y microsatellite haplotypes from globally dispersed human populations. Am J Hum Genet 68, 990-1018.

59. KAYSER, M., BRAUER, S., WEISS, G., UNDERHILL, P., **ROEWER, L.**, SCHIEFENHÖVEL, W. & STONEKING, M. (2000). Melanesian Origin of Polynesian Y Chromosomes. Curr Biol 10, 1237-1246. Corrigendum (2001) Curr Biol, 11(2).

60. ROSSER, Z.H., ZERJAL, T., HURLES,M.E., ADOJAAN, M., ALAVANTIC, D., AMORIM, A., AMOS, W., ARMENTEROS, M., ARROYO, E., BARBUJANI, G., BECKMAN, L., BERTRANPETIT, J., BOSCH, E., BRADLEY, D.G., BREDE, G., COOPER, G.C., CORTE-REAL, H., DE KNIJFF, P., DECORTE, R., DUBROVA, Y.E., EVGRAFOV, O., GILISSEN, A., GLISIC, S., GÖLGE, M., HILL, E.W., JEZIOROVSKA, A., KALAYDIJEVA, L., KAYSER, M., KRAVCHENKO, S.A., LAVINHA, J., LIVSHITS, L.A., MARIA, S., MCELREAVEY, K., MEITINGER, T.A., MELEGH, B., MITCHELL, R.J., NICHOLSON, J., NORBY, S., NOVELETTO, A., PANDYA, A., PARIK, J., PATSALIS, P.C., PEREIRA, L., PETERLIN, B., PIELBERG, G., PRATA, M.J., PREVIDERÉ, C., RAJCZY, K., **ROEWER, L.**, ROOTSI, S., RUBINSZTEIN, D.C., SAILLARD, J., SANTOS, F.R., SHLUMUKOVA, M., STEFANESCU, G., SYKES, B.C., TOLUN, A., VILLEMS, R., TYLER-SMITH, C. & JOBLING, M.A. (2000). Y-chromosomal diversity within Europe is clinal and influenced primarily by geography rather than language. Am J Hum Genet 67, 1526-1543. Erratum (2001). Am J Hum Genet 68, 1075.

IV Gesondertes Verzeichnis der Buchbeiträge

1. EPPLEN, J.T., AMMER, H., EPPLEN, C., KAMMERBAUER, C., MITREITER, R., **ROEWER, L.,** SCHWAIGER, W., STEIMLE, V., ZISCHLER, H., ALBERT, E., ANDREAS, A., BEYERMANN, B., MEYER, W., BUITKAMP, J., NANDA, I., SCHMID, M., NÜRNBERG, P., PENA, S.D.J., PÖCHE, H., SPRECHER, W., SCHARTL, M., WEISING, K. & YASSOURIDIS, A. (1991). Oligonucleotide fingerprinting using simple repeat motifs: A convenient, ubiquitously applicable method to detect hypervariability for multiple purposes. In: DNA fingerprinting: Approaches and applications. Edited by BURKE, T., DOLF, G., JEFFREYS, A.J. & WOLFF, R., Birkhäuser-Verlag Basel/Switzerland, pp. 50-69.

2. **ROEWER, L.** & NÜRNBERG, P. (1992). DNA Fingerprinting. In: Transfusionsmedizin - Aktuell (2.Auflage). Hrsg. KÖHLER, M. & MAYR, W.R., Verlag Ermer KG, Homburg-Saar, pp. 137-144.

3. NAGY, M. & **ROEWER, L.** (1992). Die PCR-Analyse. In: Transfusionsmedizin - Aktuell (2.Auflage). Hrsg. KÖHLER, M. & MAYR, W.R., Verlag Ermer KG, Homburg-Saar, pp. 137-144.

4. **ROEWER, L.,** NAGY, M., SCHMIDT, P., EPPLEN, J.T. & HERZOG-SCHRÖDER, G. (1993). Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomami Indians. In: DNA fingerprinting: State of the Science. Edited by PENA, S.D.J., CHAKRABORTY, R., EPPLEN, J.T., JEFFREYS, A.J., Birkhäuser Verlag Basel Boston Berlin, pp. 221-230.

5. **ROEWER, L.** (1994). DNA - The code of life. In: The illustrated history of humankind (Volume 5), Weldon Owen Pty Ltd./Bra Bröcker AB, Sydney Australia, pp. 22-23.

6. **ROEWER, L.** (1998). Beiträge der modernen Hämogenetik zur Identifikation. DNA-Merkmale. In: Identifikation unbekannter Toter. Interdisziplinäre Methodik, forensische Osteologie. Hrsg. LEOPOLD, D., Verlag Schmidt-Römhild, Lübeck, pp. 327-354.

7. **ROEWER, L.** (1998) Paternitätsdiagnostik. DNA Short Tandem repeat (STR) Systeme. In: DGI Technisches Handbuch Histokompatibilität & Immungenetik. Hrsg. BEIN, G., NAGY, M., WAßMUTH, R., WEGENER, S., Methodenkommission der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik, pp. 230-234.

V Verzeichnis sämtlicher Vorträge und Poster

1. ROSE, M. & **ROEWER, L**.: RFLP humaner DNA (Vortrag). I. Regionaltagung Mitte der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, 11.-12.7.1988, Berlin.

2. ROSE, M. PROKOP, O. & **ROEWER, L**.: Erste Erfahrungen mit DNA-Polymorphismen (DNA-Fingerprint) (Vortrag). IX. Tagung der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, 5.-9.9.1988, Schwerin.

3. SEMM, K., **ROEWER, L**., CORRENS, A. & EPPLEN, J.T.: Möglichkeiten der Identifizierung von Blutproben unter Einbeziehung der DNA-Polymorphismen (Vortrag). Arbeitstagung der AG Spurenkunde der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, Februar 1989, Schwerin.

4. ZISCHLER, H., NÜRNBERG, P., **ROEWER, L**., PÖCHE, H., NANDA, I., SCHMID, M. & EPPLEN, J.T.: Application of simple repeat oligonucleotides for DNA Fingerprinting (Vortrag). 13th Congress of the International Society for Forensic Haemogenetics, September1989, New Orleans, USA.

5. **ROEWER, L.** & ROSE, M.: DNA-Fingerprint in einem Tötungsverbrechen (Vortrag). 3. Tagung der Regionalgruppen Mitte/Nord der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, 10.10.1989, Magdeburg.

6. ROSE, M. & **ROEWER, L**.: Zur Praktikabilität nicht-radioaktiv markierter Gensonden in der rekombinanten DNA-Technologie (Vortrag). 3. Tagung der Regionalgruppen Mitte/Nord der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, 10.10.1989, Magdeburg.

7. STEIMLE, V., RIEß, O., **ROEWER, L**., KAMMERBAUER, C., ANDREAS, A., ALBERT, V. & EPPLEN, J.T.: Hypervariability of $(gt)_n(ga)_m$ simple repetitive DNA sequences in an intron of HLA-*DRB* gene (Vortrag). 2. Tagung der Gesellschaft für Humangenetik der BRD, 28.3.-31.3.1990, Bonn.

8. ROSE, M., **ROEWER, L.** & KRÜGER, C.: Täteridentifizierung durch DNA-Fingerprinting: Fallbeschreibung (Vortrag). 21. Jahrestagung des Nord- und Westdeutschen Arbeitskreises der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 18.-19.5.1990, Düsseldorf.

9. **ROEWER, L**., NAGAI, T., RIEß, O. & EPPLEN, J.T.: Typing of forensic microstains and mummy tissue using a hypervariable simple repeat locus in the HLA-*DRB1* gene (Vortrag). International Symposion DNA technology and its forensic application, 13.-14.9.1990, Köln.

10. ROSE, M., **ROEWER, L**., PROKOP, P. & GESERICK, G.: Individual diagnostics by DNA fingerprinting and RFLP typing (Vortrag). International Symposion DNA technology and its forensic application, 13.-14.9.1990, Köln.

11. **ROEWER, L**., RIEß, O., NAGAI, T., ROSE, M. & EPPLEN, J.T.: Analysis of hypervariable simple repeat sequences in stains using DNA-Fingerprinting and PCR methods (Vortrag). First International Conference on DNA Fingerprinting, 1.3.10.1990, Bern.

12. EPPLEN, J.T., AMMER, H., EPPLEN, C., KAMMERBAUER, C., MITREITER, R., **ROEWER, L.,** SCHWAIGER, W., STEIMLE, V., ZISCHLER, H., ALBERT, E., ANDREAS, A., BEYERMANN, B., MEYER, W., BUITKAMP, J., NANDA, I., SCHMID, M., NÜRNBERG, P., PENA, S.D.J., PÖCHE, H., SPRECHER, W., SCHARTL, M., WEISING, K. & YASSOURIDIS, A.: Oligonucleotide fingerprinting using simple repeat motifs: A convenient, ubiquitously applicable method to detect hypervariability for multiple purposes (Vortrag). First International Conference on DNA Fingerprinting, 1.-3.10.1990, Bern.

13. ROSE, M., **ROEWER, L**., KRÜGER, C. & EPPLEN, J.T.: DNA profiling serve as a model for individual diagnostics (Vortrag). First International Conference on DNA Fingerprinting, 1.-3.10.1990, Bern.

14. ROSE, M., **ROEWER, L.** & GESERICK, G.: Einsatz unterschiedlich markierter DNA-Multi- bzw. Single-Locus-Sonden in der forensischen Praxis (Vortrag). X. Tagung der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, 27.11.1990, Dresden.

15. **ROEWER, L**., ROSE, M., PROKOP, O. & EPPLEN, J.T.: Identifizierung biologischer Spuren durch Oligonukleotid-Fingerprinting bzw. PCR-Technik (Vortrag). X. Tagung der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR, 27.11.1990, Dresden.

16. EPPLEN, J.T., AMMER, H., EPPLEN, C., KAMMERBAUER, C., NANDA, I., **ROEWER, L**., SCHWAIGER, W. & ZISCHLER, H.: Who cares about polymorphisms when there is hypervariability (Vortrag). 7. Jahrestagung der AG für Gen-Diagnostik e.V., 2.-4.9.1991, Frankfurt am Main.

17. **ROEWER, L.,** ARNEMANN, J. & EPPLEN, J.T.: Analysis of forensic stains via PCR amplification of polymorphic simple $(gata)_n$ repeats (Vortrag). 14th Congress of the International Society for Forensic Haemogenetics, 18.-21.9.1991, Mainz.

18. **ROEWER, L**.: Typisierung forensischer Spuren durch PCR-Amplifikation polymorpher simpler repetitiver DNA-Sequenzen (Vortrag). 12. Spuren-Workshop der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 7.-8.2.1992, München.

19. NAGY, M., **ROEWER, L**. & GESERICK, G.: Neue PCR-Marker in der gerichtsmedizinischen Praxis (Vortrag). 1. Frühjahrstagung-Region Nord der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 15.-16.5.1992, Gießen.

20. EPPLEN, J.T., MELMER, G. & **ROEWER, L**.: Kann jede Spur (aller möglicher Organismen) individualisiert werden ? (Vortrag) 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 15.-19.9.1992, Berlin.

21. **ROEWER, L**., NAGY, M., KRÜGER, C., EPPLEN, J.T. & GESERICK, G.: Populationsgenetik und gerichtsmedizinische Anwendung von drei neuen Mikrosatellit-Polymorphismen (Vortrag). 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 15.-19.9.1992, Berlin.

22. NAGY, M., **ROEWER, L**., KRÜGER, C., ANDERS, P., & GESERICK, G.: Populationsstudie und gerichtsmedizinische Anwendung von HLA-Klasse II Polymorphismen (Vortrag). 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 15.-19.9.1992, Berlin.

23. **ROEWER, L**.: Die Mikrosatelliten - eine neue Generation von DNA-Polymorphismen (Vortrag). Immunhämatologisches Symposium, Institut für Gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität Berlin, 29.10.1992, Berlin.

24. **ROEWER, L.,** NAGY, M., SCHMIDT, P., EPPLEN, J.T. & HERZOG-SCHRÖDER, G.: Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomami Indians (Vortrag). 2nd International DNA Fingerprinting Conference, 9.-12. 11.1992, Belo Horizonte, Brazil.

25. NAGY, M., **ROEWER, L.**, NÜRNBERG, P., BOCKEL, B, KRAWCZAK, M. & GESERICK, G.: Strategies in paternity testing and forensic case work - the Charité experience (Poster). 13th Meeting of the International Association of Forensic Sciences, 22.-28.8.1993, Düsseldorf.

26. **ROEWER, L**., GOMOLKA, M., MÜLLER, S., KRÜGER, C., NÜRNBERG, P., HERZOG-SCHRÖDER, G., EPPLEN, C. & NAGY, M.: Characteristics and applications of two autosomal and a Y chromosomal microsatellite (Poster). 4th International PROMEGA Symposium on Human Identification, 26.-29.9.1993, Scottsdale, USA.

27. NAGY, M., **ROEWER, L.,** KRÜGER, C. & ANDERS, P.: Die Bedeutung des HLA-Klasse II DNA Typings in der forensischen Spurenanalyse (Poster). 25. Jahrestagung der AG für Histokompatibilitätstestung und 1. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik, 28.-30.10.1993, München.

28. **ROEWER, L**., KRÜGER, C. & NAGY, M.: Validierung von PCR-Systemen und praktische Anwendung (Vortrag). 14.Spuren-Workshop der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 11.-12.2.1994, Freiburg/Breisgau.

29. **ROEWER, L**.: Jurassic Parc - Science goes Hollywood (Vortrag). Rotary Club Dinkelsbühl/Feuchtwangen, 10.5.1994, Dinkelsbühl.

30. KAYSER, M. & **ROEWER, L**.: How many alleles has an allele ? Results and consequences of STR-sequence analysis (Vortrag). 73. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 06.-10.09.1994, München.

31. KAYSER, M., NÜRNBERG, P., BERCOVITCH, F., NAGY, M. & **ROEWER, L.**: Increased variability of a human microsatellite in *Macaca mulatta* due to a large scale deletion / insertion event during primate evolution (Vortrag). 3rd International Conference on DNA Fingerprinting, 12.-16.12.1994, Hyderabad, India.

32. **ROEWER, L.** & **KAYSER, M.**: Haplotyping the human Y chromosome by 5 different microsatellite markers (Poster). 3rd International Conference on DNA Fingerprinting, 12.-16.12.1994, Hyderabad, India.

33. **ROEWER, L.** & KAYSER, M.: Individualisierung des menschlichen Y-Chromosoms mit 5 verschiedenen STR´s (Vortrag). 15. Spuren-Workshop der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 03.-04.02.1995, Berlin.

34. **ROEWER, L.**, KAYSER, M., DE KNIJFF, P., NAGY, M. & KRAWCZAK, M.: Variability and segregation of Y chromosome haplotypes defined by 8 polymorphic short tandem repeats (STR) (Vortrag). 16th International Congress of the International Society for Forensic Haemogenetics, 12.-16.09.1995, Santiago de Compostela, Spain.

35. EBELING, V., **ROEWER, L**. & NAGY, M.: Ein isolierter Ausschluß im HLA-*DRB1*-System: ein Fallbeispiel aus der Paternitätsbegutachtung (Vortrag). 74.Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. 19.-23.9.1995, Aachen.

36. PRINZ, M., **ROEWER, L.** & BAUM, H.: Performance of a Y chromosome specific STR for mixed samples (Poster). 6th International Symposium on Human Identification, 12.-14.10.1995, Scottsdale, USA.

37. **ROEWER, L.**: Male Identification using Y chromosomal STR polymorphisms (Vortrag). New York University Medical Center, Dept. Forensic Medicine, 1.11.1995, New York.

38. DE KNIJFF, P., KAYSER, M., KRAWCZAK, M., DIELTJES, P., VAN LEEUWEN, K., BALDER, E. & **ROEWER, L.**: Y typing using STR's (Vortrag). Human Genome Variation in Europe: DNA markers (HUGO-Conference), 9.-10.11.1995, Barcelona, Spain.

39. **ROEWER, L.**: Ergebnisse des Berliner Spurenringversuchs zum Y-chromosomalen STR-System DYS19 (Vortrag). 16.Spuren-Workshop der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 2.-3.2.1996, Würzburg.

40. **ROEWER, L.**: Identifizierung männlicher DNA mit Hilfe Y-chromosomen-spezifischer Mikrosatelliten (Vortrag). Kolloquium am Institut für Humangenetik und Anthropologie des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena, 7.2.1996, Jena.

41. KAYSER, M., **ROEWER, L. &** DE KNIJFF P.: Towards individualization of any human male and patrilineage using Y chromosomal STR polymorphisms (Vortrag).First Forensic Y User Workshop, 19.-20.4.1996, Berlin.

42. **ROEWER, L.**, NAGY, M., KAYSER, M. & GESERICK, G.: Y-chromosomale STR-Systeme in der Abstammungsbegutachtung (Vortrag). Tagung der AG der Sachverständigen für Abstammungsbegutachtung der Bundesrepublik Deutschland, 7.-8.6.1996, Dortmund.

43. NAGY, M., ZIMDAHL, H., KRÜGER, C., ANDERS, P., KAYSER, M., **ROEWER, L.** & SCHIEFENHÖVEL, W.: Are the Trobriands emigrants of South East Asia? 12th International Histocompatibility Workshop and Conference, 3.-12.6.1996, Saint-Malo, France.

44. PENACINO, G., KAYSER, M., SALA, A., **ROEWER, L.** & CORACH, D.: Y chromosome specific STRs attributes in different ethnic groups (Poster). 9th International Congress on Human Genetics, 18.-23.8.1996, Rio de Janeiro, Brazil.

45. SZIBOR, R., PLATE, I., KRAUSE, D., **ROEWER, L.** & KAYSER, M.: Nachweis des multiplen Ursprungs der Namen Luther, Lutter und Luder mittels Y-Markern - ein Beitrag zur Entwicklung der Y-chromosomalen Genealogie im Lutherjahr 1996 (Vortrag). 75.Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 24.-28.9.1996, Zürich.

46. **ROEWER, L.**, KAYSER, M., NAGY, M. & GESERICK, G.: Y-chromosomale STR-Systeme in der forensischen Praxis - eine Fünfjahresbilanz 1991-1996 (Vortrag). 75.Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 24.-28.9.1996, Zürich.

47. NAGY, M., ZIMDAHL, H., SHAILER, N.F.J., HAGELBERG, E., KAYSER, M., **ROEWER, L.**, MEDICUS, G. & SCHIEFENHÖVEL, W.: Zur Besiedlungsgeschichte der Trobriandinseln - Molekularbiologische Analyse der HLA-Region sowie mitochondrialer und Y-chromosomaler Sequenzen (Vortrag). 2.Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Anthropologie, 3.10.-6.10.1996, Berlin.

48. KAYSER, M., ZERJAL, T., TYLER-SMITH, C., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.**: Y-chromosomale Marker in der molekularen Anthropologie (Poster). 2. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Anthropologie, 3.-6.10.1996, Berlin.

49. KAYSER,M., DIELTJES, P., NAGY, M., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.** Variation and distribution of human Y-haplotypes revealed by microsatellite analysis (Vortrag). 4th International DNA Fingerprinting Conference, 2.-7.12.1996, Melbourne, Australia.

50. PRINZ, M., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.**: Y chromosome specific STRs as a new approach to forensic DNA typing (Vortrag). New Technology Workshop of the Association of American Forensic Scientists (AAFS), Februar 1997, New York.

51. DE KNIJFF, P., **KAYSER, M.**, HEYER, E., DIELTJES, P., BAKKER, E.B. & **ROEWER, L.**: Sequence structure, mutation rates and chromosomal localization of a set of Y chromosome microsatellites (Vortrag). 3rd International HUGO Single Chromosome Workshop on the Y Chromosome, 13.-16.4.1997, Heidelberg, Abstract cited in Genome Data Base, accession number CIT 766063, Cytogenetic Cell Genet 79: 1-20.

52. **KAYSER, M., ROEWER, L.,** TYLER-SMITH, C. & DE KNIJFF, P.: Genetic variation at Y chromosomal microsatellite loci (Poster). 3rd International HUGO

Single Chromosome Workshop on the Y Chromosome, 13.-16.4.1997, Heidelberg, Abstract cited in Genome Data Base, accession number CIT 765978, Cytogenetic Cell Genet 79: 1-20.

53. KAYSER, M., **ROEWER, L.**, NAGY, M. & GESERICK, G.: Y-chromosomale STR-Systeme in der Abstammungsbegutachtung unter besonderer Berücksichtigung von Defizienzfällen (Vortrag). 6. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Region Nord, 23.-24.5.1997, Berlin.

54. CORACH, D., PENACINO, G., SALA, A., IANNUCCI, M.M., VILLAFANE, A., KAYSER, M. & **ROEWER, L.**: Y specific STR in Forensic Casework: Validation Studies (Vortrag). 17th International Congress of the Society of Forensic Haemogenetics, 2.-6.9.1997, Oslo.

55. **ROEWER, L.:** The Y Chromosome: Forensic Analysis and evolutionary aspects (Vortrag). 17th International Congress of the Society of Forensic Haemogenetics, 2.-6.9.1997, Oslo.

56. ZIMDAHL, H., KRÜGER, C., ANDERS, P., GESERICK, G., **ROEWER, L.** & NAGY, M.: Evaluation and application of highly informative and sensitive HLA-*DRB* and -*DPB* INNO-LIPA typing systems in forensic practice (Poster). 17th International Congress of the Society of Forensic Haemogenetics, 2.-6.9.1997, Oslo.

57. KAYSER, M., KRÜGER, C., NAGY, M., GESERICK, G., DE KNIJFF, P. & **ROEWER, L.**: Chromosome Y analysis in paternity testing: Experiences and recommendations (Vortrag). 17th International Congress of the Society of Forensic Haemogenetics, 2.-6.9.1997, Oslo.

58. PANDYA, A., SANTOS, F.R., ZERJAL, T., KAYSER, M., **ROEWER, L.**, EVGRAFOV, O.V., MITCHELL, R.J., SAJANTILA, A. & TYLER-SMITH, C. (Poster) The use of Y-chromosomal DNA haplotypes to investigate human population history. HUGO-Conference - Human Genome Variation in Europe, 12.-16.09.1997, Helsinki.

59. KAYSER, M., **ROEWER, L.,** NAGY, M. & GESERICK, G.: Zum Forensischen Beweiswert der Y-chromosomalen DNA-Analyse (Vortrag). 76.Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 16.-20.9.1997, Jena.

60. KAYSER, M., DIELTJES, P., CORACH, D., PENACINO, G., CAGLIÁ, A., GEHRIG, C., PASCALI, V., BAKKER, E., **ROEWER, L**., KRAWCZAK, M. & DE KNIJFF, P.: Haplotype and phylogenetic analysis of polymorphic Y-chromosomal microsatellites in global populations (Vortrag). Cold Spring Harbor Meeting on Human Evolution, 4.-8.10.1997, Cold Spring Harbor Laboratory, USA.

61. DE KNIJFF, P., KAYSER, M., **ROEWER, L.** & BAKKER, E.: Chromosome Y microsatellites: Sequence structure, mutation rates, chromosomal localization and their use in human evolutionary studies (Vortrag). Cold Spring Harbor

Meeting on Human Evolution, 4.-8.10.1997, Cold Spring Harbor Laboratory, USA.

62. ZIMDAHL, H., KRÜGER, C., ANDERS, P., KAYSER, M., **ROEWER, L**., HAGELBERG, E., SCHIEFENHÖVEL, W. & NAGY, M.: The origin of Austronesian populations: HLA class II polymorphism in seven populations of Asia-Oceania (Vortrag). 5.Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik, 23.-25.10.1997, Berlin.

63. KAYSER, M., NAGY, M. & **ROEWER, L**.: Genetische Variabilität humaner Y Chromosomen und ihre Anwendung von der forensischen DNA-Individualisierung bis zur evolutionären Anthropologie (Vortrag). 8. Pharmacia ALF User Meeting, 18.-19.11.1997, Heidelberg.

64. **ROEWER, L**., DE KNIJFF, P. & KAYSER, M.: Y chromosome STR analysis in Forensic Practice (Vortrag). The Second European Symposium on Human Identification, 9.-12. Juni 1998, Innsbruck

65. **ROEWER, L.**, KAYSER, M. & DE KNIJFF, P.: Große Dienste eines kleinen Chromosomes - Zur Anwendung von Y-STR Polymorphismen in der forensischen Praxis (Vortrag). 77. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. Festvortrag der Preisträger, 16.-19.9.1998, Hannover.

66. MEIER-SUNDHAUßEN, G., **ROEWER, L.**, NAGY, M. & GESERICK, G.: HUMARA
and HPRT-Extensive characterization of two polymorphic X-chromosomal short tandem repeat systems for forensic applications (Poster). 77. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 16.-19.9.1998, Hannover.

67. **ROEWER, L.**, KAYSER, M. & THE FORENSIC Y USER GROUP (GERMAN SPEAKING BRANCH): Pilot project of a national Y-STR haplotype reference database for forensic applications (Poster). The 5th International DNA Fingerprinting Conference, 17.-22.1.1999, Pt.Elizabeth, Südafrika.

68. **ROEWER, L.**, KAYSER, M., DE KNIJFF, P. & GESERICK, G.: Pilotprojekt zur Einrichtung einer Y-STR Haplotyp-Datenbank für die forensische Anwendung (Vortrag). 19. Spurenworkshop der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 12.-13.2.1999, Jena.

69. NAGY, M., ZIMDAHL, H., HAGELBERG, E., KAYSER, M., **ROEWER, L.** & SCHIEFENHÖVEL, W.: Towards understanding the origin of Austronesians in Melanesia: Analysis of HLA markers, mitochondrial DNA and the Y-Chromosome (Poster). 6.Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik, 29.-31.10.1998, Heidelberg.

70. **ROEWER, L**., KAYSER, M., ANSLINGER, K., AUGUSTIN, C., CAGLIÁ, A., CORACH, D., FÜREDI, S., GESERICK, G., HENKE, L., HIDDING, M., KÄRGEL, H.J., DE KNIJFF, P., LESSIG, R., PASCALI, V., PARSON, W., PRINZ, M., ROLF, B., SCHMITT, C., SCHNEIDER, P., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J. & KRAWCZAK, M.: Caucasian Y-STR Haplotype Reference Database For Forensic Application (Poster). 18.International Congress of the

International Society of Forensic Haemogenetics, 17-21.8.1999, San Francisco, USA.

71. **ROEWER, L.**: Project of a Caucasian Y-STR haplotype reference database for forensic application (Vortrag). 4. International Symposion Advances in Legal Medicine (ISALM), 22-25.9.1999, Mainz.

72. KRAWCZAK, M. & **ROEWER,L.**: Frequency estimation for rare Y-chromosomal haplotypes. (Poster) The American Society of Human Genetics, 49th Annual Meeting, 19.-23.10.1999, San Francisco, USA.

73. **ROEWER, L.**: Y-STR Haplotypen Referenz-Datenbank: Ringversuchsergebnisse 1999. (Vortrag). 20. Spurenworkshop der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 11.-12.2.2000, Würzburg.

74. **ROEWER, L.**: The Y-STR haplotype reference database online (Vortrag). II. Forensic Y-User Workshop, 16.-17.6.2000, Berlin.

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich an Eides statt:

- daß keine staatsanwaltlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
- daß weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- daß die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt und die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden,
- daß die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften sowie die Literatur vollständig angegeben sind,
- daß mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

....

Datum Unterschrift

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Gunther Geserick bin ich für die Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit am Institut für Rechtsmedizin der Charité sehr zu Dank verpflichtet.

Herr Prof. Dr. Jörg Epplen ist derjenige, der mich zur Beschäftigung mit grundlegenden in dieser Arbeit behandelten Themen anregte und sie über mehrere Jahre engagiert betreute. Dafür bin ich ihm dankbar.

Herrn Prof. em. Dr. Dr. h. c. mult. Otto Prokop danke ich für sein stetes Interesse an meiner Arbeit und für die materielle und geistige Unterstützung, die er mir zusammen mit Frau Prof. Dr. em. Regine Witkowski und Herrn Prof. Dr. Karl Sperling insbesondere in der Zeit unmittelbar vor und nach dem Jahre 1989 gewährte.

Meinen Kooperationspartnern vor allem Manfred Kayser (Leipzig), Peter de Knijff (Leiden), Michael Krawczak (Cardiff), Peter Nürnberg (Berlin), Gabriele Herzog-Schröder und Wulf Schiefenhövel (Andechs), Chris Tyler-Smith (Oxford) und Mark Jobling (Leicester) danke ich für die enge und fruchtbare Zusammenarbeit.

Ein besonderer Dank gilt meinen Kolleginnen des DNA-Labors am Institut für Rechtsmedizin, vor allem Frau Dr. Marion Nagy, die am Zustandekommen dieser Arbeit einen hohen Anteil haben.

Berlin, im August 2000 Lutz Roewer