

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire
ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 141 (1999)

Heft: 11

Artikel: Speziesdiagnostik an einem Gewebe mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion

Autor: Schelling, C. / Bär, W. / Stranzinger, G.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-592705>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 07.03.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Speziesdiagnostik an einem Gewebe mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion

C. Schelling, W. Bär¹, G. Stranzinger, A. Kratzer¹

Zusammenfassung

Die korrekte Identifizierung von biologischen Spuren kann wichtiges Beweismaterial für die Aufklärung von Verbrechen liefern. Der vorliegende Fall betraf ein Herz, für das abgeklärt werden musste, ob es von einem Menschen stammen könnte. Mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion und dem Einsatz von spezie-spezifischen Primern für zwei Gene konnte schnell und sicher nachgewiesen werden, dass es sich um ein Schweineherz handelte. Der Fall zeigt, dass Synergien zwischen der Veterinärmedizin und der Rechtsmedizin existieren.

Schlüsselwörter: PCR – Forensik – spezie-spezifische Primer

Species diagnostics of a tissue with the use of the polymerase chain reaction

The unambiguous identification of a biological specimen can deliver invaluable evidence to solve criminal cases. In this case the origin of a heart had to be clarified. Using the polymerase chain reaction technique and species-specific primer pairs for two genes it was clearly shown that this tissue was not from a human but from a pig.

Key words: PCR – forensics – species-specific primer

Einleitung

Das Institut für Rechtsmedizin und die Veterinärmedizinische Abteilung für Züchtungsbiologie werden immer wieder mit Anfragen von privater Seite in Zusammenhang mit der Identifizierung von Tieren oder Spuren (Haare, Speichel etc.) von Tieren konfrontiert. In vielen Fällen können diese Problemstellungen nicht bearbeitet werden, weil ohne ein Rechtsverfahren die für die Abklärung nötigen Probeentnahmen bei Referenztieren nicht durchgesetzt werden können. Die Kosten halten viele Interessierte davon ab, ein solches Verfahren einzuleiten. In bestimmten Fällen ist es jedoch möglich, die Synergien zwischen der Veterinärmedizin und der Rechtsmedizin auszunutzen und Resultate zu erzielen. Korrekt identifizierte Haare, Speichelreste, Blutflecken und andere Spuren von Tieren könnten wichtige Beweismittel zur Abklärung von Verbrechen liefern. Beim vorliegenden Fall handelte es sich um ein aufgefundenes Einmachglas, welches ein in Brennsprit ein-

gelegtes Herz enthielt. Die Tasche mit dem Einmachglas war in einer Bahnhofofenunterführung gefunden und der Polizei übergeben worden. Auf dem Einmachglas befand sich eine beschriftete Etikette, deren Text auf eine menschliche Herkunft dieses Organs hindeutete. Die Untersuchungsbehörden mussten die Herkunft dieses Herzens abklären, um ein Verbrechen an einem Menschen auszuschliessen. Der Verdacht lag nahe, dass es sich um ein Herz tierischer Herkunft, wahrscheinlich vom Schwein, handeln könnte. Deshalb wurde mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) und Schweine-spezifischen Primerpaaren versucht, die Herkunft des Gewebes durch Untersuchungen an dessen Erbmateriel abzuklären.

Material und Methoden

Das Erbmateriel (Desoxyribonukleinsäure, DNS) wurde zuerst aus einem kleinen Stück Herzmuskelgewebe der

Herzspitze mit der Chelex-Extraktionsmethode (Walsh et al., 1991) isoliert (Spur 1). Der PCR-Einsatz dieser DNS mit human-spezifischen und Schweine-spezifischen Primerpaaren ergab keine Amplifikationsprodukte. Es wurde vermutet, dass mit der Chelex-Extraktionsmethode mögliche Hemmstoffe des Brennsprits nicht vollständig aus der DNS-Lösung entfernt werden konnten. Mit Hilfe der organischen Phenol-Chloroform-Extraktion (Sambrook et al., 1989) wurde deshalb noch einmal DNS aus Herzspitzenmuskulgewebe (Spur 2) und aus einem Stück eines Blutklumpens (Spur 3) aus dem Innern des Herzens extrahiert. Diese DNS konnte erfolgreich für alle PCR-Anwendungen eingesetzt werden.

Für die Untersuchungen wurden zwei Schweine-spezifische Primerpaare verwendet. Mit dem Primerpaar Pni7p6 und Pni8p7 wird ein Produkt mit der Länge von 168 Basenpaaren (bp) des L-Gulonon-gamma-Lactone Oxidase-Gens (Gulo-Gen) amplifiziert (L. Hasan, persönliche Mitteilung). Aus der 3' nicht-translatierten Region des Uncoupling Proteins 2-Genes (UCP2-Gen) wird mit dem Primerpaar UCPH6 und UCPH9 ein 158 bp langes Fragment amplifiziert (Werner et al., in press). Für alle PCR-Reaktionen wurden je 100 ng genomische DNS der Spuren 2 und 3 des Schweines (Positiv-Kontrolle), des Menschen, des Hundes, des Pferdes, des Schafes und des Rindes eingesetzt. Für die Negativ-Kontrolle wurde H₂O bidest. anstelle von DNS eingesetzt. Das Reaktionsvolumen betrug für beide Primerpaare 30 µl mit: 1 x PCR Puffer mit 1,5 mM MgCl₂, je 0,4 µM der beiden Primer, 200 µM dNTPs, 5 µg bovines Serumalbumin und 0,5 Einheiten Taq-Polymerase (Perkin Elmer). Die PCR-Ansätze

wurden in einem Robocycler (Stratagene) mit folgendem Temperaturprofil inkubiert. Initiale Denaturierung 5 Minuten bei 94 °C, gefolgt von 30 Zyklen mit 45 Sekunden bei 94 °C, 45 Sekunden bei 60 °C und 60 Sekunden bei 72 °C. Die finale Extension dauerte 10 Minuten bei 72 °C. Die Amplifikationsprodukte wurden in einem vertikalen 10 % Polyakrylamidgel während 3 Stunden bei 300 Volt der Länge nach aufgetrennt und nach Ethidiumbromid-Färbung unter UV-Licht fotografiert.

Resultate

Schweinespezifische Amplifikationsprodukte für das Gulo-Gen (Abb. 1A) mit der Länge von 168 bp und für das UCP 2-Gen (Abb. 1B) mit der Länge von 158 bp konnten nur in den Spuren 2 und 3 sowie in der Positiv-Kontrolle (genomische DNS des Schweines) nachgewiesen werden. Aus der Negativ-Kontrolle (H₂O bidest. anstelle von DNS) und der DNS des Menschen, des Pferdes, des Hundes (Abb. 1A und 1B), des Schafes und des Rindes (nicht gezeigt) konnten keine solchen Sequenzen vermehrt werden. Die beiden PCR-Produkte der Spuren 2 und 3 entsprachen sowohl in der Amplifikationsrate als auch in der Länge den PCR-Produkten der Positivkontrolle. Es konnte somit eindeutig nachgewiesen werden, dass es sich bei diesem Gewebe um ein Herz eines Schweines handelte.

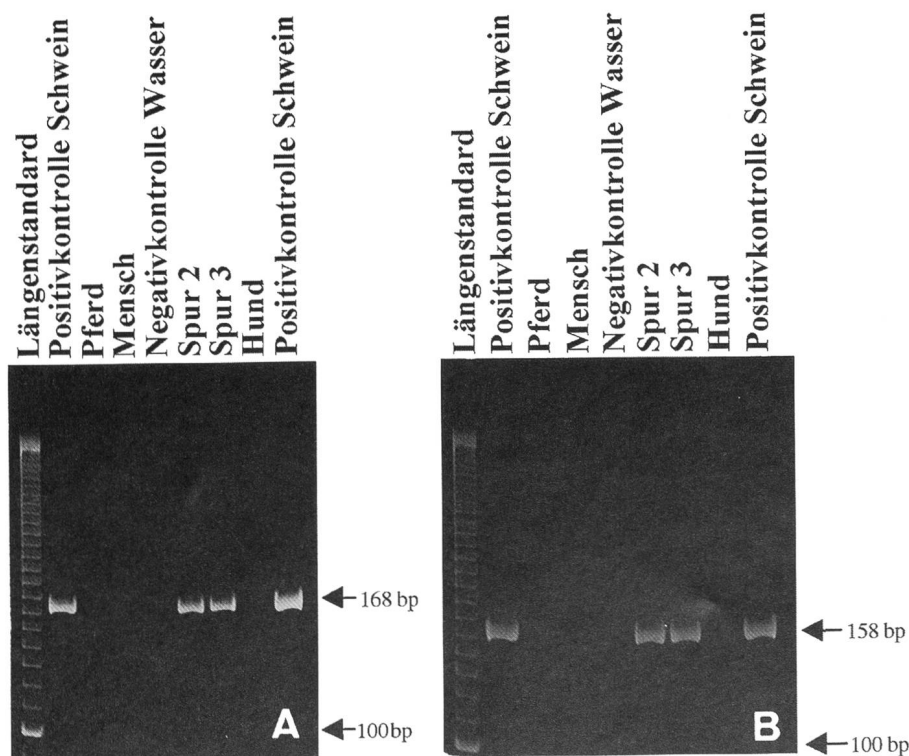


Abbildung 1:
PCR-Nachweis mit den Schweine-spezifischen Primerpaaren für Gulo-Gen (A) und UCP 2-Gen (B) aus genomischer DNS: des Schweines (Positivkontrolle), des Pferdes, des Menschen, der Spur 2 (Herzspitzenmuskel), der Spur 3 (Blutklumpen), des Hundes. Die Amplifikate wurden auf einem 10 % Polyakrylamidgel zusammen mit einem Längenstandard (10 Basenpaarleiter) und einer PCR-Negativkontrolle (Wasser) aufgetrennt und mit Ethidiumbromid gefärbt. Durch die hohe Menge an Amplifikationsprodukten laufen die Banden etwas weiter als es ihrer Länge entsprechen würde.

Diskussion

Die eindeutige Identifizierung von Tieren oder Spuren derselben können wichtiges Beweismaterial in Zusammenhang mit der Aufklärung von Verbrechen liefern. So trug die Identifikation von Katzenhaaren, die am Tatort eines Mordes gefunden wurden, dazu bei, dass der Besitzer der Katze verurteilt wurde (Menotti-Raymond et al., 1997). Solche Untersuchungen mit Hilfe genetischer Marker sind aber vor allem dann aussagekräftig, wenn aufgrund populationsgenetischer Untersuchungen die Allelfrequenzen der untersuchten genetischen Markersysteme bekannt sind, und somit die Sicherheit einer positiven Identifizierung angegeben werden kann. Im Rahmen einer internationalen Zusammenarbeit werden u.a. Grundlagen geschaffen, um beim Hund geeignete genetische Markersysteme genau zu charakterisieren, die eine positive Identifizierung eines Hundes oder seiner Spuren ermöglichen (DogMap Consortium, 1999). Bei biologischen Spuren muss zuerst abgeklärt werden, welcher Spezies sie zuzuordnen ist. Dazu eignen sich sowohl Untersuchungen an der genomischen als auch an der mitochondrialen DNS. Im vorliegenden Fall wurde die Abklärung der Herkunft des Gewebes aufgrund von Untersuchungen der genomischen DNS mit Hilfe von

spezies-spezifischen PCR-Primer durchgeführt.

Das vom Gulo-Gen kodierte Enzym hat eine Schlüsselrolle in der Biosynthese der Ascorbinsäure. Primaten (Nishikimi et al., 1994) und das Meerschweinchen (Nishikimi et al., 1992) haben nur noch ein nicht-funktionelles Pseudogen in ihrem Genom und können deshalb selber keine Ascorbinsäure synthetisieren. PCR-Primerpaare, die spezifisch gegen DNS-Sequenzen des funktionellen Gulo-Genes des Schweines gerichtet sind, sind ideale Primerpaare, um zwischen den Genomen des Menschen und des Schweines zu diskriminieren. Die Schweine-spezifischen Primer für den Nachweis des UCP2-Genes wurden aus der cDNS-Sequenz des Schweines nach Vergleich mit der humanen und murinen cDNS-Sequenz (Gimeno et al., 1997) ausgewählt. Die beiden PCR-Produkte aus den Spuren 2 und 3 zeigten ähnliche Amplifikationsraten und identische Längen wie die entsprechenden PCR-Produkte des Schweines. Es konnte deshalb auf eine Überprüfung mittels DNS-Sequenzierung verzichtet werden. Das abgelegte Herz stammte eindeutig von einem Schwein.

Der vorliegende Fall zeigt, dass die Veterinärmedizin in Zusammenhang mit der Identifikation von Tieren oder Spuren derselben einen wichtigen Beitrag für die Rechtsmedizin leisten kann.

Diagnostic d'espèce animale sur un tissu à l'aide de la réaction en chaîne de la polymérase

L'identification correcte de traces biologiques peut livrer une preuve importante pour l'explication de crimes. Au cours des deux dernières années, des demandes d'identification d'animaux ou de traces d'origine animale ont été faites plus fréquemment à notre institut. Le cas présenté ici était à propos d'un cœur dont l'origine aurait pu éventuellement être humaine. À l'aide de la réaction en chaîne de la polymérase et l'utilisation d'un primer pour deux gènes spécifiques pour une espèce, il a pu être démontré rapidement et avec certitude qu'il s'agissait du cœur d'un porc et non d'un cœur humain. Le cas démontre que des synergies existent entre la médecine vétérinaire et la médecine légale.

Identificazione della specie del tessuto grazie all'aiuto della reazione a catena della polimerasi

La corretta identificazione di tracce biologiche fornisce elementi di prova importanti per la soluzione di atti criminali. Negli ultimi due anni si sono moltiplicate presso i nostri istituti le richieste in relazione all'identificazione di animali o di materiale di provenienza animale. Il caso in questione si riferiva ad un cuore, per il quale andava identificata la possibile origine umana. Con la reazione a catena della polimerasi e con l'uso di primer specifici per due geni, si è potuto verificare velocemente e con sicurezza, che in questo caso si trattava di un cuore di maiale e non umano. Il caso illustra, che esistono sinergie fra la medicina veterinaria e la medicina legale.

Literatur

DogMap Consortium (1999): DogMap: An international collaboration toward a low-resolution canine genetic marker map. *J. of Heredity* 90, 3-6.

Gimeno R.E., Dembski M., Weng X., Deng N., Shyjan A.W., Gimeno C.J., Iris E., Ellis S.J., Woolf E.A., Tartaglia L.A. (1997): Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog: a potential molecular mediator of human thermogenesis. *Diabetes* 46, 900-906.

Menotti-Raymond M.A., David V.A., O'Brien S.J. (1997): Pet cat hair implicates murder suspect. *Nature* 386, 774.

Nishikimi M., Toshibide K., Yagi, K. (1992): Guinea pigs possess a highly mutated gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the key enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in this species. *J. Biol. Chem.* 267, 21967-21972.

Nishikimi M., Fukuyama R., Minoshima S., Shimizu N., Yagi, K. (1994): Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *J. Biol. Chem.* 269, 13685-13688.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. (1989): Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor N.Y.

Walsb P.S., Metzger D.A., Higuchi R. (1991): Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10, 506-513.

Werner P., Neuenschwander S., Stranzinger G. (1999): Characterization of the porcine uncoupling proteins 2 and 3 (UCP2 & UCP3) and their localization to chromosome 9p by somatic cell hybrids. *Animal Genetics* (in the press).

Dank

Die Autoren danken E. Garbely und C. Lang für die technische Unterstützung und L. Hasan und P. Werner für die Überlassung der Primer.

Korrespondenzadresse: Dr. C. Schelling, Institut für Nutztierwissenschaften, Veterinärmedizinische Abteilung Züchtungsbiologie, ETH Zürich, Tannenstrasse 1, CH-8092 Zürich

Manuskripteingang: 29. Mai 1999
in vorliegender Form angenommen: 16. Juli 1999

• Ihr Tier-Röntgen-Spezialist von A-Z
• Alle Geräte aus eigener Produktion
• Prompter, fachgerechter Service



furrer RÖNTGENTECHNIK
Büelmatt 12 · CH-6204 Sempach-Schweiz
Tel. 041 460 21 20 Fax 041 460 32 83

 **DIANA
VETERA**
ZÜRICH FRANKFURT LINDAU

INKL. IHREN DATEN*

*ÜBERNAHME IHRER BESTEHENDEN DATEN WENN IMMER MÖGLICH!

SEMIR AG Vetereinärinformatik Gutstrasse 3 CH-8055 Zürich Telefon 01 450 5454 Telefax 01 450 5445 www.diana.ch office@diana.ch

Schweizer
Archiv für
Tierheilkunde