

Rechtsmedizin 2014 · 24:179–185
 DOI 10.1007/s00194-014-0950-9
 Online publiziert: 9. Mai 2014
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

K.W. Alt^{1, 2, 3, 4} · G. Brandt¹ · C. Knipper⁵ · C. Lehn⁶

¹ Institut für Anthropologie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

² Danube Private University, Krems-Stein

³ State Office for Heritage Management and Archaeology Saxony-Anhalt and State Museum of Prehistory, Halle

⁴ Institute for Prehistory and Archaeological Science, Universität Basel

⁵ Curt-Engelhorn-Zentrum Archäometrie gGmbH, Mannheim

⁶ Institut für Rechtsmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Empfehlungen für die Probenentnahme in der forensischen Anthropologie

Untersuchung von DNA und Stabilisotopen

Genetische und biogeochemische Analyseverfahren sind Bestandteile der modernen biologischen und forensischen Anthropologie. Es steht außer Zweifel, dass gerade im forensischen Kontext jegliche Information bei einer Identifizierung von unbekanntem Individuen überaus hilfreich sein kann. Der Beweiswert solcher Informationen muss durch die kompetente Probenentnahme und -verarbeitung sichergestellt werden.

Hintergrund

Die Etablierung naturwissenschaftlicher Analytik in das Methodenspektrum der Archäologie ermöglicht seit einigen Jahren Einblicke in die Vergangenheit, die das Wissen über die Lebensbedingungen und die Lebensweise (prä-)historischer Bevölkerungen maßgeblich erweitern. In der Bioarchäologie sind zum einen Untersuchungen von alter Desoxyribonukleinsäure (aDNA) von Bedeutung, die u. a. ihre Anwendung bei der genetischen Geschlechtsbestimmung und Klärung von Verwandtschaftsverhältnissen [18, 22, 28, 53], der Typisierung klinischer und phänotypischer Marker [9, 27] sowie der Rekonstruktion prähistorischer Migrationsereignisse [7, 23, 34, 55] und der Phylo-

genese des *Homo sapiens* [20, 32, 33] finden. Alte DNA (aDNA) ist jegliche DNA, die bereits autolytisch verändert ist. Zum anderen steht die Ermittlung der Stabilisotopenverhältnisse verschiedener Bio- und Geoelemente für die Rekonstruktion von Ernährung, zur Feststellung des Stillverhaltens [35, 42] sowie zur Ermittlung von Herkunft, Ortskonstanz und Mobilität [10, 31, 50] im Fokus. Im Hinblick auf

primäre Fragestellungen der forensischen Anthropologie, wie die Identifizierung unbekannter Toter oder Straftäter [38], die Ermittlung ihrer geografischen Herkunft, die Verwandtschaftsrekonstruktion sowie auch für Fragen der Authentizität und Herkunft von z. B. Lebensmitteln, Medikamenten oder Drogen sind diese Anwendungen ebenfalls von Bedeutung [2, 12, 13, 17, 36].



Abb. 1 ▲ In-situ-DNA-Probenentnahme. Um Kontaminationen vorzubeugen, ist mindestens das Tragen von Kopftuch, langer Kleidung, Mundschutz und Handschuhen notwendig. (© LDA Halle, Institut für Anthropologie, Universität Mainz, mit freundl. Genehmigung)

Deshalb sollte eine Einflussnahme auf das zu untersuchende Probenmaterial für genetische und biogeochemische Analysen zweckmäßigerweise nicht erst im Labor, sondern bereits im Feld erfolgen [8]. Eine Probenentnahme in situ ist zumindest bei aDNA-Analysen für die Qualität und Validität der Ergebnisse von zentraler Bedeutung [45, 46]. Im Folgenden werden daher Beprobungsstrategien für DNA und Isotopenanalysen vorgestellt, die sich in der biologischen Anthropologie bewährt haben und auch im forensischen Kontext von Bedeutung sind.

► **Die zeitaufwendigen und kostenintensiven Analysen hängen entscheidend von der richtigen Entnahme und Auswahl der Proben ab.**

Alte Nukleinsäuren

Methodische Schwierigkeiten

Die methodischen Schwierigkeiten im Umgang mit aDNA haben ihre Ursache in liegezeit- sowie milieubedingten biochemischen Degradierungs- und Modifikationsprozessen von Nukleinsäuren, die Einfluss auf deren Quantität und Qualität nehmen. In vivo ist das Genom durch zellinterne Systeme vor solchen Veränderungen geschützt. Nach dem Tod des Organismus werden diese Schutzmechanismen jedoch inaktiv, und die einsetzende Autolyse induziert den enzymatischen Abbau von Gewebe und DNA. Die DNA-Erhaltung wird zudem maßgeblich von äußeren Faktoren beeinflusst, die vom Liegemilieu abhängig sind und im Vergleich zur Autolyse langsamer, aber dafür dauerhaft ablaufen. Diese postmortalen Degradierungsprozesse führen zu einer sukzessiven Reduktion des endogenen DNA-Gehalts. Im (prä-)historischem Kontext hat daher das Milieu einen ausschlaggebenden Einfluss auf die DNA-Erhaltung als die Liegezeit selbst [58].

Ein direkter Einflussfaktor auf die Erhaltung von Nukleinsäuren sind Bakterien und Pilze des Bodens, die Gewebe und DNA relativ schnell zersetzen und verstoffwechseln [3]. Auch Feuchtigkeit begünstigt die schnelle DNA-Degradierung, da Bodenwasser in die Knochen dif-

fundiert und dort diagenetische Abbauprozesse der Knochenstruktur in Gang setzt [25]. Nukleinsäuren, die in dieser Knochenmatrix schützend verpackt sind, werden somit enzymatischen und bakteriellen Abbauprozessen ausgesetzt. Feuchtigkeit hat zudem einen zusätzlichen Effekt auf den DNA-Erhalt. Durch hydrolytische Spaltung werden DNA-Stränge in kurze Fragmente degradiert, sodass bei aDNA häufig nur Fragmentlängen zwischen 100 und 500 bp nachweisbar sind [44]. Die Degradierung erfolgt entweder durch Spaltung des Zucker-Phosphat-Rückgrats oder durch Depurinierung (hydrolytische Abspaltung der Purinbase eines Nukleotids). Es wird vermutet, dass die Depurinierung den DNA-Degradierungsprozess dominiert [58]. Des Weiteren können Nukleotide durch Hydrolyse modifiziert werden. Die Abspaltung stickstoffhaltiger Molekülgruppen (Deaminierung) resultiert in einer veränderten Molekülstruktur der Nukleotide, die letztlich Fehlpaarungen innerhalb des DNA-Doppelstrangs ergibt [24, 37]. Derartige Fehlpaarungen können schnell als authentische Mutationen interpretiert werden und die Ergebnisse verfälschen [19]. Elektromagnetische Strahlung [z. B. Ultraviolett(UV)-Strahlung] begünstigt die Bildung freier Sauerstoffradikale, die DNA oxidativ schädigen [37]. Derartige Schäden können Basenmodifikationen hervorrufen und die Amplifikation der DNA blockieren [52]. Die Temperatur ist neben der Feuchtigkeit der bedeutendste Faktor, der die Geschwindigkeit postmortaler Degradierungsprozesse beeinflusst. In wärmeren Klimazonen ist der DNA-Gehalt häufig geringer als in Mitteleuropa, da die meisten chemischen Reaktionen bei höheren Temperaturen schneller ablaufen (Wirkungsoptimum vieler Enzyme beträgt ca. 37°C) und Wärme die Proliferation von Mikroorganismen unterstützt. Außerdem fördern höhere Temperaturen die Depurinierung und beschleunigen somit einen wesentlichen Degradierungsprozess alter DNA [56]. Der pH-Wert des Bodens dagegen wirkt nicht direkt auf die DNA, sondern auf die Gewebe (Knochen/Zähne). Bei einem sauren Milieu wird der Abbau der Mineralmatrix beschleunigt, in die die DNA schützend eingebettet ist [41].

Rechtsmedizin 2014 · 24:179–185

DOI 10.1007/s00194-014-0950-9

© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

K.W. Alt · G. Brandt · C. Knipper · C. Lehn
Empfehlungen für die Probenentnahme in der forensischen Anthropologie. Untersuchung von DNA und Stabilisotopen

Zusammenfassung

In den vergangenen Jahrzehnten wurden zunehmend genetische und biogeochemische Analyseverfahren in der biologischen Anthropologie (Synonym Bioarchäologie) etabliert. Viele dieser Anwendungen beruhen auf Methoden, die auch in der forensischen Anthropologie Anwendung finden. In der Bioarchäologie hängt der Erfolg der zeit- und kostenintensiven Analysen entscheidend von der optimalen Entnahme und Auswahl der Proben ab; deshalb sollte die Beprobung für genetische und biogeochemische Analysen bereits im Feld erfolgen. Diese Erfahrungen legen Beprobungsstrategien nahe, die im vorliegenden Beitrag erläutert werden und für die Rechtsmedizin ebenfalls von Relevanz sind.

Schlüsselwörter

Mobilität · Migration · Ernährung · Identifizierung · Authentizität

Recommendations for sampling in forensic anthropology. Ancient DNA and stable isotope analyses

Abstract

Genetic and biogeochemical analyses have become increasingly established in biological anthropology (synonym bioarchaeology) over the last decades. Many of these applications are based on methods also used in forensic anthropology. The success of time and cost-intensive analyses often depends on the optimal selection and taking of samples. Therefore, sampling for genetic and biogeochemical analyses should be carried out in the field. This article explains recommended sampling strategies acquired by experience which are also relevant in forensic medicine.

Keywords

Mobility · Migration · Nutrition · Identification · Authenticity

Diese Faktoren reduzieren unmittelbar den Gehalt endogener DNA und erhöhen damit das Risiko, die Proben mit moderner DNA zu kontaminieren und die Ergebnisse zu verfälschen [26]. Das Problem besteht v. a. bei der Bearbeitung humaner DNA, da das Skelettmaterial vor und während der genetischen Analysen mit einer Vielzahl von Bearbeitern (Ermittlern, Ausgräbern, Anthropologen, Laborpersonal) in Kontakt kommt. Die postmortale Degradierung und das Risiko einer Kontamination erfordern bei humanen Proben grundsätzlich die rasche Beprobung vor Ort und anschließend die probenge-rechte Lagerung, um schädigenden Einflüssen vorzubeugen.

Empfehlungen für die DNA-Beprobung

Kontaminations-vermeidende Maßnahmen

Kontaminationsvermeidende Maßnahmen zielen darauf, das Probenmaterial ab dem Zeitpunkt der Auffindung vor Kontaminationen mit moderner DNA (Hautschuppen, Haare, Schweiß und Speichel des Probennehmers oder -bearbeiters) zu schützen. Das Tragen von langärmli-ger Kleidung (im Idealfall ein Ganzkör-peranzug), Kopftuch oder Mütze, Mund-schutz und Handschuhen ist zwingend erforderlich (▣ **Abb. 1**). Um Kreuzkonta-minationen zu vermeiden, sind die Hand-schuhe zwischen jeder Probenentnahme (auch beim selben Individuum) zu wech-seln und verwendete Hilfsmittel oder Werkzeuge entweder einmalig zu benut-zen oder bei mehrmaliger Verwendung zu dekontaminieren (z. B. durch Einwir-ken von Natriumhypochlorid für 15 min). Es ist wünschenswert, dass die Beprobung von einer Person durchgeführt wird, wo-mit multiple Kontaminationen durch unterschiedliche Bearbeiter minimiert werden. Die genetische Typisierung al-ler Personen, die während der Freilegung, Bergung und Untersuchung mit dem Pro-benmaterial in Kontakt gekommen sind, ist essenziell, um im Abgleich mit den Er-gebnissen der DNA-Analyse Bearbeiter als potenzielle Kontaminationsquelle aus-schließen zu können.

Probenauswahl

Pro Individuum sollten 2 bis 3 Proben ausgewählt werden, um die optimale Re-produktion der DNA-Ergebnisse zu ge-währleisten. Prinzipiell eignen sich für ge-netische Analysen alle erhaltenen Gewe-be. Bei Überresten mit geringer Liegezeit oder Mumifizierungen mit Weichteiler-haltung sind v. a. Haar-, Haut- oder Blut-proben für die DNA-Analyse geeignet.

▣ **Hartgewebe haben sich auf-grund ihrer diagenetischen Beständigkeit im (prä-) historischen Kontext bewährt.**

Allerdings sind nicht alle anatomischen Skelettelemente gleich gut bzw. überhaupt geeignet. Zahnproben weisen in der Re-gel eine bessere DNA-Erhaltung und ge-ringere Kontaminationsanfälligkeit auf als Knochenproben und sind daher zu favori-sieren [45]. In der Reihenfolge ihrer Prio-rität sind folgende Hartgewebeproben be-vorzugt auszuwählen: Molaren, Prämolaren, Canini und, falls keine Zähne vor-handen sind, entweder Femur oder Tibia, Humerus oder Pars petrosa ossis tempo-ralis (▣ **Abb. 2**). Kreuzkontaminationen und die Dauer der Beprobung können weiter reduziert werden, wenn statt der Beprobung einzelner Zähne ganze Unter-bzw. Oberkiefer mit mindestens 3 gut er-haltenen Zähnen ins Labor überführt werden; hier können die Zähne unter Reinraumbedingungen extrahiert wer-den. Analog sollten Knochen in toto ver-

packt und an das zuständige Labor weiter-geleitet werden. Von einer Beprobung im Feld ist abzuraten, da Sägearbeiten außer-halb des Labors erhebliche Risiken für Kreuzkontaminationen bergen. Bei der Auswahl sollten kariöse oder abgebroche-ne Zähne sowie stark verwitterte, zerbro-chene und verbrannte Knochen als Pro-ben ausgeschlossen werden.

Beprobung

Die Beprobung in situ ist zu favorisieren, da sie nicht nur das Risiko von Kontami-nationen reduziert [45], sondern sich z. T. auch erheblich auf eine günstigere DNA-Erhaltung auswirkt [46]. Im Idealfall wird bei bodengelagerten menschlichen Über-resten zunächst der Schädel/Kopf freige-legt, damit zeitlich umgehend beprobt werden kann. Wichtig ist, dass der Fund vor der Probenentnahme nicht gewäs-sert und länger als absolut notwendig Wärme sowie UV-Licht ausgesetzt ist, da diese Prozesse erheblich zur Verringerung nachweisbarer DNA beitragen [46]. Be-sonders in warmen Regionen oder Jahres-zeiten empfiehlt es sich, die Überreste vor Sonneneinstrahlung abzuschirmen und die Proben unverzüglich nach der Ent-nahme kühl zu lagern. Die Behandlung mit Lösungsmitteln oder anderen Chemi-kalien vor der Probenentnahme und das Beschriften von möglichen Beprobungs-stellen sind in jedem Fall zu vermeiden, da diese Substanzen die Isolierung der DNA aus den Geweben erschweren oder sogar unmöglich machen.

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

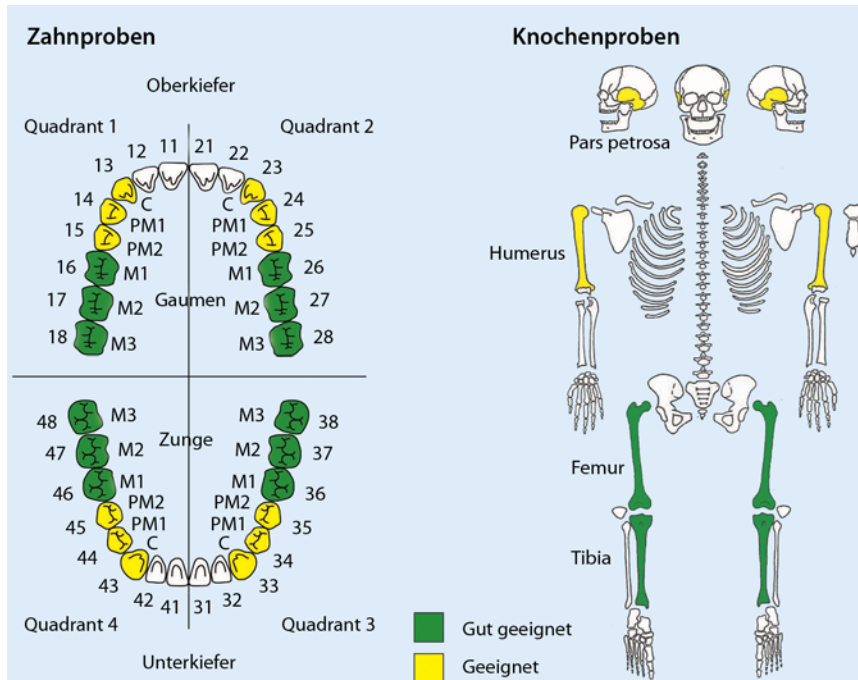


Abb. 2 ▲ Probenauswahl für genetische Analysen. Molaren (M1, M2, M3) aus Ober- oder Unterkiefer sind am besten geeignet. Alternativ sind Prämolaren (PM1, PM2) oder Canini (C) verwendbar. Sollte kein Zahnmaterial vorhanden sein, sind Femur oder Tibia zu bevorzugen. Humerus oder Pars petrosa können alternativ entnommen werden. Die Nummerierung der Zähne folgt der internationalen Nomenklatur der Fédération Dentaire Internationale. (© Institut für Anthropologie, Universität Mainz, mit freundl. Genehmigung)

Verpackung und Lagerung

Die entnommenen Proben sollten unverzüglich in sterile Probenbeutel oder „tubes“ verpackt und beschriftet werden. Von alternativen Verpackungsmitteln wie z. B. Fotodosen ist abzuraten. Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, ist jede Einzelprobe separat zu verpacken. Die Proben sollten direkt nach der Entnahme kühl, trocken und dunkel gelagert werden. Das Probenmaterial kann eingefroren, sollte dann jedoch bei konstanten Temperaturen gehalten werden, da Auf- und Abtauvorgänge die Nukleinsäuren schädigen [6].

Stabile Isotope

Anwendung

Die am häufigsten durchgeführten Stabilisotopenbestimmungen erfolgen an:

- Strontium ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) für Informationen zu Wanderungen, geografischer Herkunft bzw. Mobilität [4, 29],
- Sauerstoff ($\delta^{18}\text{O}$) für Mobilität, Saisonalität und die Charakterisierung klimatischer Bedingungen [11, 14, 30, 57],

- Stickstoff ($\delta^{15}\text{N}$) sowie Kohlenstoff ($\delta^{13}\text{C}$) für Fragen nach den Nahrungsgrundlagen [35] und
- Schwefel ($\delta^{34}\text{S}$) zur Bestimmung des Einflusses des Meeres und unter besonderen geologischen Umständen zur Bedeutung von Süßwasserfisch in der Nahrung [39, 40].

Die Isotopenverhältnisse der leichten Elemente Sauerstoff, Stickstoff, Kohlenstoff und Schwefel werden als δ -Werte, d.h. als Differenzen zu den Isotopenverhältnissen von Standardmaterialien angegeben.

Die genannten Anzeiger für die Lebensweise und Lebensbedingungen von Menschen manifestieren sich in verschiedenen Teilen des Skeletts (Knochen/Zähne) und in unterschiedlichen Komponenten der biogenen Hartgewebe, d. h. entweder in der anorganischen Phase (Hydroxylapatit) oder im organischen Anteil (Kollagen). In der modernen forensischen Anthropologie werden Stabilisotopenuntersuchungen verschiedener Elemente zusätzlich an Haaren und Nägeln durchgeführt, die überwiegend

aus Keratin bestehen. Durch Isotopenanalysen der Elemente Wasserstoff und Blei an Körpergewebeproben lassen sich weitere geografische Informationen zur örtlichen Differenzierung gewinnen. Wasserstoffisotopenwerte (δD) in Körperproteinen korrelieren mit den klimatischen Bedingungen am Aufenthaltsort eines Individuums zu Lebzeiten [15, 17]. Für das Verhältnis verschiedener Bleiisotope ($^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$, $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$) in Körpergeweben ist hauptsächlich der anthropogene Bleieintrag in die Umwelt verantwortlich, der aufgrund länderspezifischer Handelswege des Bleis nationalen Charakter besitzt [5, 21, 48].

Empfehlungen für die Beprobung stabiler Isotope

Knochen, Zähne, Haare und Nägel sind während der Bodenlagerung diagenetischen Einflüssen ausgesetzt, die sowohl die äußere als auch die innere Struktur der Gewebe verändern können. Strontium- und Bleiisotope in Körpergeweben können bei längerer Liegezeit mit den im Boden oder Wasser enthaltenen Geoelementen kontaminiert werden. Die Gefahr der Veränderung von Isotopenverhältnissen (Kontamination) durch unsachgemäße Behandlung der Körpergewebe während und nach der Bergung ist aber weitaus geringer als bei alter DNA. Das Skelett kann im Feld nach den üblichen Arbeitsschritten freigelegt, dokumentiert und mechanisch gereinigt werden. Allerdings sind die Behandlung mit chemischen Härtern oder Lacken sowie das Beschriften von möglichen Beprobungsstellen unbedingt zu vermeiden. Auch von einer Mazeration frischer Skeletteile ist abzusehen.

Probenauswahl

Strontium-, Blei- und Sauerstoffisotopenanalysen. Strontium-, Blei- und Sauerstoffisotopenanalysen werden an Hydroxylapatit, der anorganischen Komponente von Knochen und Zähnen, durchgeführt. Wichtigstes Probenmaterial ist der Zahnschmelz der Molaren. Er wird während der Kindheit und frühen Jugend mineralisiert, unterliegt keinen Umbauprozessen zu Lebzeiten und ist gegen diagenetische Veränderungen

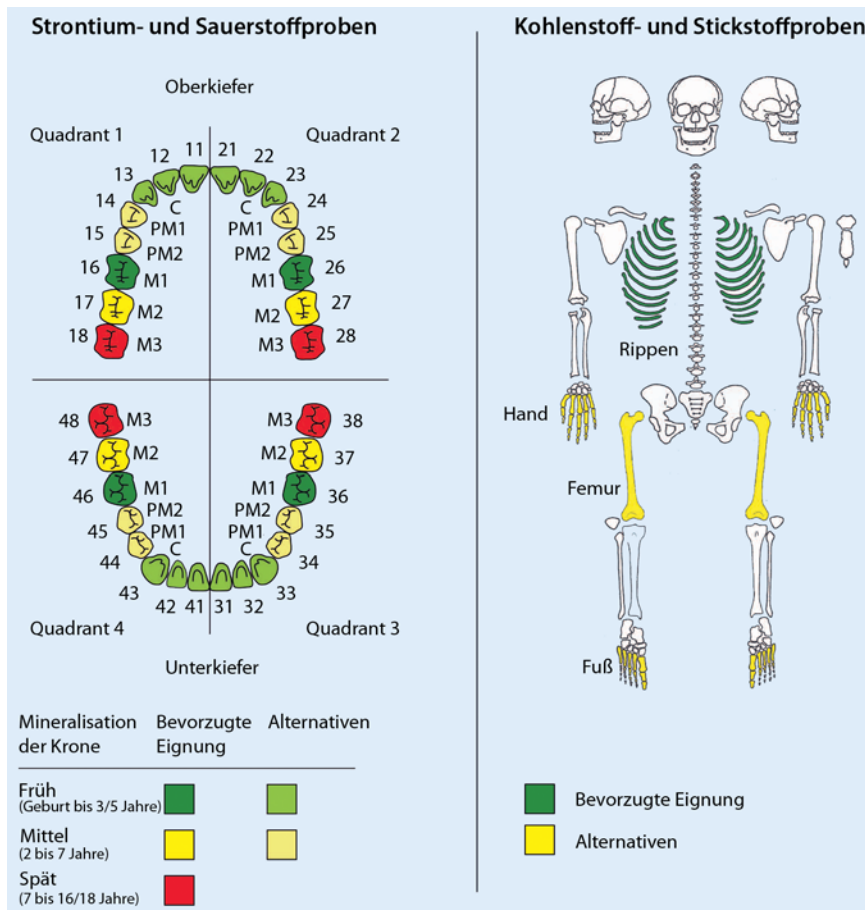


Abb. 3 ▲ Probenauswahl für Strontium- bzw. Sauerstoff- und Kohlenstoff- bzw. Stickstoffisotopenanalysen. Die Nummerierung der Zähne folgt der internationalen Nomenklatur der Fédération Dentaire Internationale. C Caninus, M Molar, PM Prämolare. (© Institut für Anthropologie, Universität Mainz, mit freundl. Genehmigung)

während der Bodenlagerung vergleichsweise resistent [29]. Zur bestmöglichen zeitlichen Einordnung von Informationen über Residenzwechsel zu Lebzeiten und zum Abgleich mit evtl. bekannten biografischen Daten des untersuchten Individuums ist auf die gezielte, durch den Zeitraum ihrer Anlage bestimmte Auswahl der zu untersuchenden Zähne zu achten. Die Zahnkronen der ersten Dauermolaren mineralisieren etwa zwischen der Geburt und dem 3. bis 4. Lebensjahr (■ **Abb. 3**). Sie sind wegen ihrer dickeren Schmelzschicht gegenüber gleichzeitig angelegten Schneidezähnen zu bevorzugen. Mit einiger zeitlicher Überlappung zu diesem Zahntyp mineralisieren die 2. Molaren ca. zwischen dem 3. und 7. Lebensjahr. Alternative Proben hierzu sind die Prämolaren, deren Zahnkronen zwischen dem 2. und 6./7. Lebensjahr gebildet werden [1]. Die Zahnkronen der 3. Molaren

werden mit erheblicher individueller Variation in der späteren Kindheit bis ins Jugendalter, d. h. zwischen ca. dem 7. und 14. bis 16./18. Lebensjahr, angelegt [43, 49].

» Wichtigstes Probenmaterial ist der Zahnschmelz der Molaren

Für Fragen nach der Geburtsregion eines Individuums sind die am frühesten mineralisierten Zähne eines Gebisses zu untersuchen, bei Kindern Milchzähne. Steht die Herkunftsregion eines Individuums im Mittelpunkt einer Studie, genügt in der Regel die Analyse einer früh mineralisierten Zahnkrone pro Individuum. Die Erweiterung des Probensatzes um später mineralisierten Zahnschmelz erlaubt es darüber hinaus, evtl. Wohnortwechsel bzw. Mobilität innerhalb der Kindheit nachzuvollziehen. Eine ideale Beprobung sollte deshalb

sowohl einen 1. als auch einen 3. Molaren einbeziehen, um Informationen über die frühe und spätere Kindheit/frühe Jugend zu verbinden und den gesamten im Zahnschmelz überlieferten Zeitraum abzudecken. Zeigen sich Unterschiede in den Isotopensignaturen zwischen dem 1. und dem 3. Molaren eines Gebisses, kann der Ortswechsel des Individuums durch Hinzunahme von Proben eines 2. Molaren oder Prämolaren zeitlich noch feiner aufgelöst werden. Die derzeit höchste chronologische Differenzierung der Isotopendaten ermöglicht die Beprobung des Zahnschmelzes mithilfe der Laserablation [16, 47, 54].

Zähne können einzeln oder im Kiefer, gewaschen oder ungewaschen in handelsüblichen Fundtüten zur Analyse gelangen und sind vorher zwingend mit Herkunftsinformationen zu versehen. Optimale Probenmengen für Sr-, Pb- und O-Isotopenanalysen an der phosphatischen Komponente des Hydroxylapatits sind jeweils ca. 10 mg Zahnschmelz. Grundsätzlich empfiehlt es sich, die genannten Analysen an den gleichen Zähnen durchzuführen. Allerdings ist bei der Probenauswahl für O-Isotopenanalysen ein möglicher Einfluss von Muttermilch auf während der Stillzeit mineralisierte Zahnkronen zu bedenken [59], den man möglicherweise mit der Analyse gezielt erfassen oder aber auch vermeiden möchte. Insbesondere bei wenig diagenetisch überprägtem rezentem Material bieten auch Knochen ein hohes Informationspotenzial. Durch Analysen von schnell (z. B. Rippen) oder langsam (z. B. Femurkompakta) umbauenden Knochen können prinzipiell Hinweise auf Residenzwechsel zu Lebzeiten gewonnen werden [29]. Die Information aus den Knochen schließt die zeitliche Lücke zwischen der Wachstumszeit von Zähnen und der von Haaren bzw. Nägeln, die in der letzten Lebensphase eines Individuums gebildet werden. Die Analysen von Sr und Pb erfolgen sowohl an Zahn- und Knochenmaterial als auch an Haaren und Nägeln; hier sind die Geoelemente in die Keratinmatrix eingebettet.

Wasserstoff-, Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelisotopenanalysen. Die Stabilisotopenanalysen der Bioelemente H, C, N und S werden an Haaren und Nägeln nach der Reinigung und Entfettung

des Materials direkt analysiert. Aus Knochen und Dentin wird das Kollagen präpariert und seine isotopische Zusammensetzung bestimmt. Über ein Multielementanalytensystem ist eine gleichzeitige Erfassung der Stabilisotopenverhältnisse der genannten Bioelemente möglich [51]. Der Materialbedarf beträgt etwa 15 mg Haare bzw. Nägel und insgesamt etwa 1 g Knochen oder Dentin.

» Zur Bestimmung der Aufenthaltsorte werden Körpergewebe nach ihrer Bildungszeit ausgewählt

Steht die Bestimmung der geografischen Herkunft und Aufenthaltsorte eines unbekanntem Individuums durch isotopeanalytische Untersuchungen im Vordergrund, sollten mehrere Körpergewebe entsprechend ihrer Bildungszeit ausgewählt und beprobt werden. So kann man möglichst detaillierte Informationen über die Lebenszeit der Person von der Kindheit bis kurz vor dem Tod erhalten. Falls vorhanden, sollten 1 bis 3 unterschiedliche Molaren, alternativ auch Schneide- und Eckzähne, eine Rippe oder ein Stück Femurknochen (aus der Diaphyse) sowie Haare bzw. Nägel asserviert werden. Sind Kopfhare mit einer Länge >3 cm vorhanden, sollten Haarstränge möglichst parallel fixiert werden, um zeitlich aufeinanderfolgende Haarabschnitte untersuchen zu können. Je nach Fragestellung und vorhandenen Körpergeweben wird über die Zahl und Art der Analysen individuell entschieden.

Fazit für die Praxis

- Aus der Kombination von klassischen morphologischen und metrischen Befunden sowie DNA- und Isotopenanalysen ist eine hohe Informationsdichte zu erwarten.
- Die herausragende Bedeutung der Zähne für die analytischen Methoden ist evident. Im archäologischen Kontext sind invasive Eingriffe bei besonders altem und damit wertvollem biologischen Quellenmaterial sehr ungerne gestattet. Daher hat es sich bei der Beprobung als zweckmäßig er-

wiesen, denselben Zahn sowohl für DNA- als auch für Isotopenuntersuchungen zu verwenden. Schmelz und Dentin werden dabei im Reinraum getrennt, die DNA aus dem Dentin extrahiert und der Zahnschmelz sowie das Kollagen aus dem Dentin für die geplanten Isotopenanalysen herangezogen.

- Die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten bio- sowie geoarchäometrischer Techniken und ihr sinnvoll kombinierter Einsatz haben nicht nur die archäologische Forschung entscheidend bereichert, sondern sie werden in den letzten Jahren auch vermehrt zur Beantwortung forensischer Fragestellungen eingesetzt. Der Erfolg solcher Analysen ist jedoch an essenzielle, hier dargelegte Anforderungen an das Probenmaterial und eine darauf abgestimmte Beprobungsstrategie auf der Ausgrabung oder bei der Bergung unbekannter Toter gebunden.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. K.W. Alt

Institute for Prehistory and Archaeological Science, Universität Basel
Spalenring 145, 4055 Basel
Schweiz
kurt.alt@unibas.ch

Einhaltung der ethischen Richtlinien

Interessenkonflikt. K.W. Alt, G. Brandt, C. Knipper, C. Lehn geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Der Beitrag enthält keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

1. AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM (2010) Brief communication: the London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol* 142:481–490
2. Anslinger K, Weichhold G, Keil W et al (2001) Identification of the skeletal remains of Martin Bormann by mtDNA analysis. *Int J Legal Med* 114:194–196
3. Bell LS (1990) Palaeopathology and diagenesis: an SEM evaluation of structural changes using backscattered electron imaging. *J Archaeol Sci* 17:85–102

4. Bentley RA (2006) Strontium isotopes from the earth to the archaeological skeleton: a review. *J Archaeol Method Theory* 13:135–187
5. Beyser J, Pitz K, Horn P et al (2003) Isotopenanalytik. Hilfsmittel zur Herkunftsbestimmung unbekannter Toter. *Kriminalistik* 57:443–452
6. Bollongino R, Vigne JD (2008) Temperature monitoring in archaeological animal bone samples in the Near East arid area, before, during and after excavation. *J Archaeol Sci* 35:873–881
7. Bramanti B, Thomas MG, Haak W et al (2009) Genetic discontinuity between local hunter-gatherers and central Europe's first farmers. *Science* 326:137–140
8. Brandt G, Knipper C, Roth C et al (2010) Beprobungsstrategien für aDNA und Isotopenanalysen an historischem und prähistorischem Skelettmaterial. In: Meller H, Alt KW (Hrsg) *Anthropologie, Isotopie und DNA – biographische Annäherung an namenlose vorgeschichtliche Skelette*. Landesamt für Denkmalpflege und Archäologie Sachsen-Anhalt, Landesmuseum für Vorgeschichte, Halle (Saale), S 17–32
9. Burger J, Kirchner M, Bramanti B et al (2007) Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:3736–3741
10. Capo RC, Stewart BW, Chadwick OA (1998) Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods. *Geoderma* 82:197–225
11. Chenery C, Müldner G, Evans J et al (2010) Strontium and stable isotope evidence for diet and mobility in Roman Gloucester, UK. *J Archaeol Sci* 37:150–163
12. Coble MD, Loreille OM, Wadhams MJ et al (2009) Mystery solved: the identification of the two missing Romanov children using DNA analysis. *PLoS One* 4:e4838. DOI 10.1371/journal.pone.0004838
13. Dahlenburg R, Rossmann A, Schmidt H-L (2006) Stabilisotopenuntersuchungen an Grundstoffen zur illegalen Herstellung von synthetischen Drogen (ATS). In: Pragst F, Aderjan R (Hrsg) *Praxis der Forensischen Toxikologie. Beiträge zum XIV. Symposium der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie*. Helm, Heppenheim, S 208–219
14. Daux V, Lécuyer C, Hérin M-A et al (2008) Oxygen isotope fractionation between human phosphate and water revisited. *J Hum Evol* 55:1138–1147
15. Ehleringer JR, Bowen GJ, Chesson LA et al (2008) Hydrogen and oxygen isotope ratios in human hair are related to geography. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:2788–2793
16. Jong HN de, Foster GL, Heyd V, Pike AW (2010) Further Sr isotopic studies on the Eulau multiple graves using laser ablation ICP-MS. In: Meller H, Alt KW (Hrsg) *Anthropologie, Isotopie und DNA – biographische Annäherung an namenlose vorgeschichtliche Skelette*. Landesamt für Denkmalpflege und Archäologie Sachsen-Anhalt, Landesmuseum für Vorgeschichte, Halle (Saale), S 63–69
17. Fraser I, Meier-Augenstein W (2007) Stable 2H isotope analysis of modern-day human hair and nails can aid forensic human identification. *Rapid Commun Mass Spectrom* 21:3279–3285
18. Gerstenberger J, Hummel S, Herrmann B (2002) Reconstruction of residence patterns through genetic typing of skeletal remains of an early medieval population. *Anc Biomol* 4:25–31
19. Gilbert MT, Binladen J, Miller W et al (2007) Recharacterization of ancient DNA miscoding lesions: insights in the era of sequencing-by-synthesis. *Nucleic Acids Res* 35:1–10

20. Green RE, Krause J, Briggs AW et al (2010) A draft sequence of the Neandertal genome. *Science* 328:710–722
21. Gulson BL, Jameson CW, Gillings BR (1997) Stable lead isotopes in teeth as indicators of past domicile – a potential new tool in forensic science? *J Forensic Sci* 42:787–791
22. Haak W, Brandt G, Jong HN de et al (2008) Ancient DNA, strontium isotopes, and osteological analyses shed light on social and kinship organization of the later Stone Age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:18226–18231
23. Haak W, Balanovsky O, Sanchez JJ et al (2010) Ancient DNA from European early Neolithic farmers reveals their near eastern affinities. *PLoS Biol* 8:e1000536
24. Hansen A, Willerslev E, Wiuf C et al (2001) Statistical evidence for miscoding lesions in ancient DNA templates. *Mol Biol Evol* 18:262–265
25. Hedges RE, Millard AR (1995) Bones and groundwater: towards the modelling of diagenetic processes. *J Archaeol Sci* 22:155–164
26. Hofreiter M, Serre D, Poinar HN et al (2001) Ancient DNA. *Nat Rev Genet* 2:353–359
27. Keyser C, Bouakaze C, Crubézy E et al (2009) Ancient DNA provides new insights into the history of south Siberian Kurgan people. *Hum Genet* 126:395–410
28. Keyser-Tracqui C, Crubézy E, Ludes B (2003) Nuclear and mitochondrial DNA analysis of a 2,000-year-old necropolis in the Egin Valley of Mongolia. *Am J Hum Genet* 73:247–260
29. Knipper C (2004) Die Strontiumisotopenanalyse: eine naturwissenschaftliche Methode zur Erfassung von Mobilität in der Ur- und Frühgeschichte. *Jahrb Roem Germ Zentralmuseum Mainz* 51:589–685
30. Knipper C (2011) Die räumliche Organisation der linearbandkeramischen Rinderhaltung: naturwissenschaftliche und archäologische Untersuchungen. *British Archaeological Reports. International Series 2305*. Archaeopress, Oxford
31. Knipper C, Maurer A-F, Peters D et al (2012) Mobility in Thuringia or mobile Thuringians: a strontium isotope study from early medieval central Germany. In: Kaiser E, Burger J, Schier W (Hrsg) *Migrations in prehistory and early history stable isotopes and population genetics*. De Gruyter, Berlin, S 293–317
32. Krause J, Fu Q, Good JM et al (2010) The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia. *Nature* 464:894–897
33. Krings M, Stone A, Schmitz RW et al (1997) Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90:19–30
34. Lacan M, Keyser C, Ricaut FX et al (2011) Ancient DNA reveals male diffusion through the Neolithic Mediterranean route. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:9788–9791
35. Lee-Thorp JA (2008) On isotopes and old bones. *Archaeometry* 50:925–950
36. Lehn C, Graw M (2012) Wie viel Regionalität steckt in Körpergewebe? Isotopenmethoden zur geografischen Herkunftsbestimmung von unbekannten Toten. *Rechtsmedizin* 22:99–105
37. Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709–715
38. Meier-Augenstein W, Fraser I (2008) Forensic isotope analysis leads to identification of a mutilated murder victim. *Sci Justice* 48:153–159
39. Mützel E, Lehn C, Peschel O et al (2009) Assignment of unknown persons to their geographical origin by determination of stable isotopes in hair samples. *Int J Legal Med* 123:35–40
40. Nehlich O, Boric D, Stefanovic S, Richards MP (2010) Sulphur isotope evidence for freshwater fish consumption: a case study from the Danube Gorges, SE Europe. *J Archaeol Sci* 37:1131–1139
41. Nielsen-Marsh CM, Hedges RE (2000) Patterns of diagenesis in bone II: effects of acetic acid treatment and the removal of diagenetic CO₃²⁻. *J Archaeol Sci* 27:1151–1159
42. Oelze VM, Siebert A, Nicklisch N et al (2011) Early Neolithic diet and animal husbandry: stable isotope evidence from three Linearbandkeramik (LBK) sites in Central Germany. *J Archaeol Sci* 38:270–279
43. Olze A, Schmeling A, Rieger K et al (2003) Untersuchungen zum zeitlichen Verlauf der Weisheitszahnmineralisation bei einer deutschen Population. *Rechtsmedizin* 13:5–10
44. Pääbo S (1989) Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:1939–1943
45. Pilli E, Modi A, Serpico C et al (2013) Monitoring DNA contamination in handled vs. directly excavated ancient human skeletal remains. *PLoS One* 8:e52524
46. Pruvost M, Schwarz R, Correia VB et al (2007) Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:739–744
47. Richards MP, Harvati K, Grimes V et al (2008) Strontium isotope evidence of Neanderthal mobility at the site of Lakonis, Greece using laser-ablation PIMMS. *J Archaeol Sci* 35:1251–1256
48. Rummel S, Hölzl S, Horn P (2007) Isotopensignaturen von Bio- und Geoelementen in der Forensik. In: Herrmann B, Saternus KS (Hrsg) *Kriminalbiologie. Biologische Spurenkunde*, Bd 1. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokio, S 381–407
49. Schroeder HE (1992) *Orale Strukturbioogie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks*, 4. Aufl. Thieme, Stuttgart
50. Schweissing MM, Grupe G (2003) Stable strontium isotopes in human teeth and bone: a key to migration events of the late Roman period in Bavaria. *J Archaeol Sci* 30:1373–1383
51. Sieper HP, Kupka HJ, Williams T et al (2006) A measuring system for the fast simultaneous isotope ratio and elemental analysis of carbon, hydrogen, nitrogen and sulfur in food commodities and other biological material. *Rapid Commun Mass Spectrom* 20:2521–2527
52. Simandan T, Sun J, Dix TA (1998) Oxidation of DNA bases, deoxyribonucleosides and homopolymers by peroxyl radicals. *Biochem J* 335:233–240
53. Simón M, Jordana X, Armentano N et al (2011) The presence of nuclear families in prehistoric collective burials revisited: the bronze age burial of Montanissell cave (Spain) in the light of aDNA. *Am J Phys Anthropol* 146:406–413
54. Simonetti A, Buzon MR, Creaser RA (2008) In-situ elemental and Sr isotope investigation of human tooth enamel by laser ablation-(MC)-ICP-MS: successes and pitfalls. *Archaeometry* 50:371–385
55. Skoglund P, Malmström H, Raghavan M et al (2012) Origins and genetic legacy of Neolithic farmers and hunter-gatherers in Europe. *Science* 336:466–469
56. Smith CI, Chamberlain AT, Riley MS et al (2003) The thermal history of human fossils and the likelihood of successful DNA amplification. *J Hum Evol* 45:203–217
57. Stephan E (2008) *Stabile Isotope in fossilen Faunenfunden: Erforschung von Klima, Umwelt und Ernährung prähistorischer Tiere*. In: Hauptmann A, Pingel V (Hrsg) *Archäometrie. Methoden und Anwendungsbeispiele naturwissenschaftlicher Verfahren in der Archäologie*. Schweizerbart, Stuttgart, S 46–66
58. Willerslev E, Cooper A (2005) Ancient DNA. *Proc Biol Sci* 272:3–16
59. Wright LE, Schwarcz HP (1998) Stable carbon and oxygen isotopes in human tooth enamel: identifying breastfeeding and weaning in prehistory. *Am J Phys Anthropol* 106:1–18