

MOLEKULARGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR VERWANDT- SCHAFTSREKONSTRUKTION

Janine Mazanec, Philipp von Grumbkow und Susanne Hummel

GENETISCHE REKONSTRUKTION VON GENEALOGIEN

Die Klärung von Verwandtschaftsverhältnissen von Bestatteten kann für die Interpretation von Fundstätten von zentraler Bedeutung sein. Durch die Rekonstruktion von Verwandtschaft innerhalb von Gräberfeldern können Rückschlüsse auf Bestattungsriten, soziale Strukturen und Migrationsereignisse gezogen werden. Bei den acht bestatteten Individuen beispielsweise, die in der St. Michaelskirche in Gammertingen gefunden wurden (Tab. 6), stellt sich aufgrund der Datierung ins 10./11. Jahrhundert und der damals herrschenden Bestattungsgesetze die Frage, ob diese zum Grafengeschlecht gehören könnten.⁴⁹⁷ Sollte es sich bei den Bestatteten tatsächlich um die „Grafen von Gammertingen“ handeln, müssten sich enge verwandtschaftliche Beziehungen feststellen lassen.

Ein wichtiges Werkzeug zur Beantwortung dieser Frage nach Verwandtschaft ist die DNA-Analyse. Auf der einen Seite ist jeder Mensch genetisch einzigartig, was eine Identifizierung ermöglicht, wie sie zum Beispiel aus forensischen oder historischen Kontexten bekannt ist.⁴⁹⁸ Auf der anderen Seite teilen wir uns genetisches Material mit unseren Verwandten, wodurch eine Überprüfung von Vater- oder Mutterschaft möglich ist und eine Rekonstruktion von Stammbäumen erfolgen kann. Dies gelang bereits mit verschiedenen prähistorischen Funden.⁴⁹⁹

Unser Erbmateriale besteht zum einen aus codierenden Abschnitten, die Informationen über Merkmale wie Augenfarbe oder Blutgruppe enthalten, den sogenannten Genen. Zum anderen gibt es nicht codierende Bereiche, die überwiegend aus Wiederholungen von bestimmten Basenabfolgen, also repetitiven Sequenzen, bestehen. Da auf diesen Abschnitten kein evolutionärer Druck liegt, können sie hochvariabel im Genom vorliegen. Diese Tatsache macht man sich bei der Erstellung des genetischen Fingerabdruckes, der von Mensch zu Mensch verschieden ist, zunutze. Hierzu werden verschiedene genetische Marker untersucht. Bei den Markern handelt es sich zum einen um Amelogenin, welches auf den Geschlechtschromosomen lokalisiert ist und somit eine molekulare Geschlechtsbestimmung ermöglicht, und zum anderen um sogenannte *short tandem repeats* (STRs).⁵⁰⁰ STRs bestehen aus kurzen Basenabfolgen, welche vielfach wiederholt hintereinander geschaltet auftreten. Diese unterschiedlichen Ausprägungen werden als Allele bezeichnet, deren Nummerierung die Zahl der Wiederholungen beschreibt. Menschen besitzen

Tabelle 6 Ergebnisse der anthropologischen Untersuchung (nach Schleifring, Anthropologische Untersuchungen) und Überblick über das untersuchte Probenmaterial.

Individuum	Geschlecht morphologisch	Alter (in Jahren) morphologisch	Probenmaterial für DNA-Analyse
27/335	männlich	60-70	linke Tibia; Metatarsus
298	männlich	50-60	rechte Tibia; Metatarsus
346	männlich	60-70	linke Tibia; Metatarsus; Eckzahn
356	männlich	60-70	rechte Tibia; Metatarsus
32/366	weiblich	50-60	beide Tibiae
366 Z	weiblich	40-60	Zahn
367	weiblich	50-70	linke Tibia; rechtes Femur
Fd-Nr.425	unbestimmt	13-17	Metatarsus

497 Hassenpflug, Laienbegräbnis; Scholkmann, Normbildung.

498 Im forensischen Kontext erfolgt beispielsweise bei Katastrophen oder Verbrechen regelhaft eine genetische Identifizierung von Opfern bzw. Tätern. Als Beispiel für eine Identifikation historischer Personen siehe Gill et al., Romanov family.

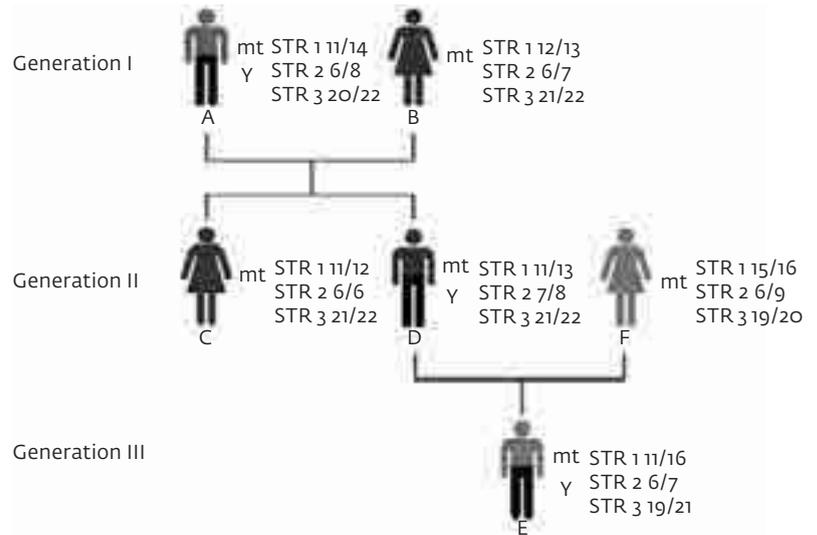
499 Als Beispiele seien hier die Fundstätten Eulau (Haak et al., Kinship organization) und die Lichtensteinhöhle in Osterode (In: Schultes et al., Kinship) genannt.

500 Urquhart et al., Forensic identification; Butler, Forensic DNA Typing.

einen diploiden (doppelten) Chromosomensatz, bei der Untersuchung eines STR-Systems erhält man somit zwei Allele, zum Beispiel die Allele 10/12 oder die Allele 10/10. Die Kombination der unterschiedlichen Ausprägungen aller STR-Systeme repräsentiert einen genetischen Fingerabdruck. Auf der Basis der genetischen Fingerabdrücke können mithilfe statistischer Verfahren verwandtschaftliche Beziehungen rekonstruiert werden.⁵⁰¹ Dabei sind Eltern-Kind-Beziehungen gesichert feststellbar (Abb. 171). Auch Geschwisterschaft, Großelternschaft und weitere Verwandtschaftsbeziehungen weisen hohe Ähnlichkeiten auf und sind daher gut gegen nicht verwandte Personen abgrenzbar, sie sind jedoch nicht mit vergleichbarer Sicherheit wie Eltern-Kind-Beziehungen detektierbar. Aus diesem Grund werden zusätzlich zu den STRs des genetischen Fingerabdrucks zwei weitere Markergruppen untersucht: mitochondriale DNA (mt-DNA)⁵⁰² und bei männlichen Personen zusätzlich Y-chromosomale DNA.⁵⁰³

Mitochondriale DNA wird nur von Müttern auf ihre Kinder vererbt, was eine Identifikation von mütterlichen Familienlinien (Matrilineen) ermöglicht. Weisen Individuen dieselbe mütterliche Linie auf, so stammen sie von einer gemeinsamen Vorfahrin ab. Wann diese mütterliche Vorfahrin gelebt hat, ist hieraus jedoch nicht ableitbar. Ähnlich dazu wird das Y-Chromosom vom Vater auf seine Söhne weitergegeben, wodurch väterliche Familienlinien (Patrilineen) feststellbar sind. Auf dem Y-Chromosom finden sich ebenfalls STR-Systeme, im Gegensatz zu den STRs des genetischen Fingerabdrucks werden diese jedoch gemeinsam als sogenannter Y-Haplotyp vererbt. Haplotypen bestehen aus Allelen, die gekoppelt, also immer gemeinsam, vererbt werden. Analog zu den Matrilineen deutet das Auffinden des gleichen Y-Haplotyps in mehreren Individuen auf einen zeitlich nicht genau einzuordnenden gemeinsamen Vorfahren hin.⁵⁰⁴

Über die Rekonstruktion von Genealogien hinaus können mt- und Y-Haplotypen zum Beispiel auch zu Matri- oder Patrilokalität Auskunft geben. Weiterhin werden diese Haplotypen für eine geografische Herkunftsbestimmung genutzt.⁵⁰⁵ Einander ähnliche Haplotypen werden hierfür zu Haplogruppen zusammengefasst. Sowohl die mitochondrialen als auch Y-chromosomalen Haplogruppen weisen weltweit unterschiedliche Frequenzen bzw. Verteilungen auf. Gerade über Europa hinweg



171 Schematische Darstellung zum Erbgang der STR-Systeme des genetischen Fingerabdrucks (STR 1–3) sowie der mitochondrialen (mt) und Y-chromosomalen (Y) Haplotypen. Jeweils eins der zwei möglichen STR-Allele jedes Systems wird nach dem Zufallsprinzip von jedem Elternteil (A, B, Generation I) auf ein Kind (C, D, Generation II) übertragen. Jeder Elternteil und die Kinder teilen sich daher genau die Hälfte der Allele. Geschwister (C, D, Generation II) können sich ein Allel teilen (STR 1), kein Allel gemeinsam haben (STR 2) oder beide Allele gleich aufweisen (STR 3). Sie teilen sich daher nur auf statistischer Ebene die Hälfte ihres Erbguts bzw. ihrer STR-Allele. Großeltern (A, B, Generation I) und Enkel (E, Generation III) teilen sich aufgrund der Zufallsverteilung ebenfalls nur auf statistischer Ebene ein Viertel ihrer Allele. Mitochondriale DNA wird immer von der Mutter auf ihre Kinder übertragen, weshalb sie mütterliche Familienlinien identifizieren hilft (B, C, D sowie F, E). Der Y-chromosomale Haplotyp zeigt die väterliche Familienlinie an (A, D, E).

sind die mt-Haplogruppen jedoch annähernd gleich verteilt, sodass hier keine nutzbare Diskriminanzstärke existiert.⁵⁰⁶ Y-Haplogruppen weisen hingegen starke Verteilungsgradienten auf, daher werden sie bevorzugt für eine Herkunftsbestimmung herangezogen.

CHARAKTERISTIKA ALTER DNA UND ANALYSESTRATEGIEN

Gemeinsam ist den mitochondrialen und Y-chromosomalen Haplotypen sowie den STRs des genetischen Fingerabdrucks, dass jeweils nur vergleichsweise kurze DNA-Abschnitte von zumeist nur wenigen Hundert Basenpaaren (bp) Länge analysiert werden müssen. Damit sind gerade die für die Rekonstruktion von Familienzusammenhängen genutzten genetischen Marker grundsätzlich für die Analyse degradierter DNA geeignet.⁵⁰⁷ Durch geschickte Auswahl und Anpassung der Analysesysteme kann sogar erreicht werden, dass für diese Analysen ausschließlich DNA-Fragmente mit weniger als 200 bp Länge benötigt werden. Dies

501 Gjertson et al., Biostatistics.

502 Pakendorf/Stoneking, Mitochondrial DNA; Butler, Forensic DNA Typing.

503 Roewer et al., Y-chromosomal; Butler, Forensic DNA Typing.

504 Underhill et al., Sequence variation.

505 Wiik, European men.

506 Simoni et al., mtDNA diversity.

507 Hummel, Ancient DNA.

entspricht dann insbesondere den Erfordernissen alter, stärker degradierter DNA aus historischen Materialien (engl. *ancient DNA*, *aDNA*), die typischerweise Fragmentlängen von 100 bis 200 bp aufweist, so wie dies auch für das Skelettmaterial aus Gammertingen zutrifft.

Neben der starken Degradierung von DNA aus Jahrhunderte oder Jahrtausende altem Skelettmaterial stellen zwei weitere Charakteristika alter DNA die Analytik vor besondere Herausforderungen. Dies sind zum einen die besonders kleinen DNA-Mengen, wie sie typischerweise in Knochen und Zähnen zu finden sind, und zum anderen Einträge von Fremd-DNA aus bodenlebenden Mikroorganismen und Huminstoffen, einer organisch-chemischen Komponente des Sediments. Die besonders kleinen DNA-Mengen stellen hohe Anforderungen an die Sensitivität, also die Nachweisempfindlichkeit, der Analysesysteme. Obwohl eine hohe Sensitivität grundsätzlich durch Modifikationen einzelner Komponenten der Analysesysteme erreicht werden kann, muss dennoch in einzelnen Analyseegängen mit unvollständigen Ergebnislagen, z. B. durch sogenanntes *allelic dropout*, gerechnet werden. Solche *allelic dropout*-Ereignisse waren auch kennzeichnend für die Einzelanalysen des Skelettmaterials aus Gammertingen (vgl. Tab. 7). Dieser Artefakttyp wird jedoch in aller Regel durch mehrfache Wiederholungen der Analysegänge erkennbar, wodurch dann auch eventuelle Fehlbestimmungen für die Genotypen der Individuen ausgeschlossen sind.

Die unvermeidbaren Einträge von Fremd-DNA aus bodenlebenden Mikroorganismen können durch die Auswahl der Skelettelemente für die DNA-Analytik beeinflusst werden, grundsätzlich sind Gewebe mit einer hohen physikalischen Dichte zu bevorzugen. Dies ist

in Zahnwurzeln gegeben, aber auch im kompakten Knochenmaterial der langen Extremitätenknochen sowie bei Knochen von Mittelhand und Mittelfuß. Lichtmikroskopische Untersuchungen histologischer Dünnschnitte zeigen, dass diese Hartgewebe meist deutlich weniger stark mit Mikroorganismen besiedelt sind. Dennoch erfordern auch bereits geringere Mengen an Fremd-DNA eine hohe Spezifität der jeweiligen Analysesysteme. Auch diesem Erfordernis kann durch Anpassung der Analysekomponenten und -parameter Rechnung getragen werden. Zur Vermeidung schwierig zu interpretierender Ergebnislagen insbesondere bei Sequenzanalysen, die zentraler Bestandteil beispielsweise in der Identifikation mütterlicher Familienlinien sind, empfiehlt sich hier eine sorgfältige Kontrolle durch zwischengeschaltete zusätzlichen Elektrophoresen. Schließlich muss der Eintrag von Huminstoffen in den Analysegang reduziert, idealerweise unterbunden werden. Dies kann durch die Wahl geeigneter Strategien für die DNA-Extraktion gleich zu Beginn der Analyse erreicht werden. Als besonders geeignet hat sich in diesem Kontext die Bindung von DNA an Silicatpartikel erwiesen, die es ermöglicht, übrige Bestandteile des DNA-Extrakts einschließlich der eingelagerten Huminstoffe zum Beispiel über Zentrifugation zu entfernen.

PROBENAUSWAHL UND DNA-EXTRAKTION

Knochen und Zähne bestehen zum Großteil aus einem anorganischen Gerüst, in welches die DNA enthaltenden Zellen eingelagert sind.⁵⁰⁸ Der eigentlichen DNA-Extraktion muss also eine Auflösung dieser Bestandteile voraus ge-

Tabelle 7 Genotypen der STR-Systeme. „-“ = allelic dropout, „()“ = Allel konnte nur einmal amplifiziert werden, Bestimmung daher unsicher, PGW/JMC = genetische Fingerabdrücke der Bearbeiter.

Individuum	D13S317	D21S11	Amelogenin	D18S51	TH01	D5S818	FGA	D8S1179	VWA	D3S1358	D7S820
27/335	11/-	30/-	X/Y	14/15	9.3/-	12/13	20/25	12/16	20/-	16/-	-/-
298	11/13	29/30	X/Y	13/15	7/-	9/12	22/26	14/-	(17/20)	15/16	(10)/-
346	11/13	29/30	X/Y	15/-	7/9.3	12/-	20/-	(14)/16	(17/20)	15/16	-/-
356	10/13	28/29	X/Y	13/15	7/9.3	9/12	20/26	14/16	15/17	11/15	(11)/-
32/366	10/12	28/-	X/-	15/17	7/9	12/-	19/26	(13/16)	14/17	(16)/17	-/-
366 Z	11/13	29/30	X/-	13/15	6/9.3	9/12	22/26	13/16	17/20	15/17	-/-
367	11/-	30/32.2	X/-	13/15	6/7	10/12	20/22	13/14	17/20	16/17	(9/11)
Fd-Nr.425	8/13	28/30	X/Y	15/17	9.3/-	12/13	20/25	(11)/14	16/(20)	(14)/16	(8/-)
PGW	8/13	28/29	X/Y	11/17	6/9	12/13	20/21	11/14	16/17	14/17	9/11
JMC	8/10	29/32.2	X/-	12/16	8/9.3	12/-	22/25	11/12	17/18	15/17	8/9

⁵⁰⁸ Dieser Abschnitt erläutert die Methodik qualitativ und in erklärender Weise. Die genauen Parameter der Protokolle, die für die Analytik des Gammer-

tinger Skelettmaterials verwendet wurden, finden sich bei Grumbkow et al., Kinship.

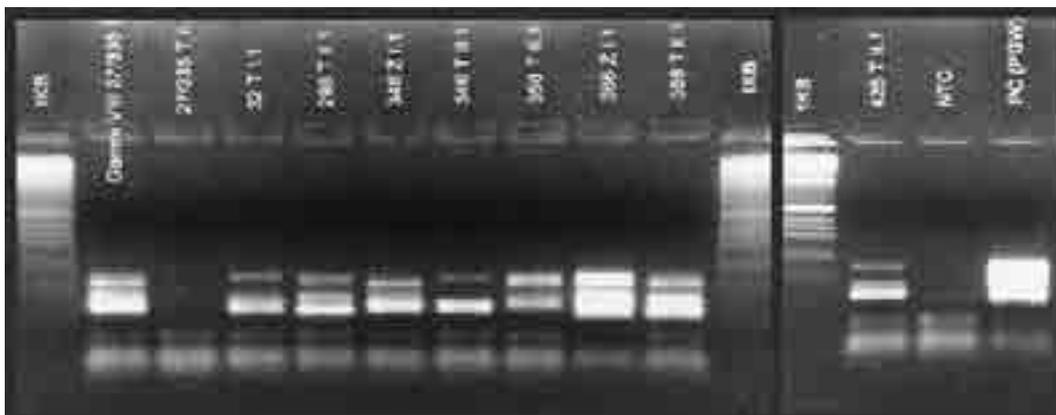
hen. Die Probenvorbereitung beginnt mit der Probenauswahl und -entnahme. Kompakte Knochenanteile, zum Beispiel Knochenschäfte, und Zahnwurzeln weisen erfahrungsgemäß eine sehr gute DNA-Erhaltung auf. Für die Untersuchung der acht Individuen aus Gammertingen wurden überwiegend Tibiae (Unterschenkel), Metatarsalia (Mittelfußknochen) und Zähne gewählt (vgl. Tab. 6). Bei der Auswahl der Probenentnahmestelle ist darauf zu achten, dass das betroffene Areal frei von pathologischen Veränderungen und Dekompositionerscheinungen (Oberflächenerosion, Bakterienbefall) ist. Beim Gammertinger Material wurden von den Zähnen die Zahnwurzeln abgetrennt und aus den Tibiae und Metatarsalia Kompaktknochen herausgesägt. Anschließend erfolgte eine Abtragung der Zahnwurzel- bzw. Knochenoberfläche, um mögliche anhaftende Kontaminationen zu entfernen. Bei der aDNA-Analyse stellen eventuelle Kontaminationen mit rezenter DNA ein großes Problem dar, da diese intakt vorliegt und bei anschließenden Analysen die Signale der eigentlich zu untersuchenden Probe überstrahlen würde. Um eine Kontamination durch den Bearbeiter zu vermeiden, müssen bei der Probenhandhabung Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden, so zum Beispiel das Tragen von Schutzkleidung wie Kittel, Haarhaube, Mundschutz, Einmalhandschuhe und gegebenenfalls Schutzbrille. Von allen Bearbeitern sind darüber hinaus die genetischen Fingerabdrücke und Daten zu mt- und gegebenenfalls Y-Haplotypen in einer Datenbank für einen Abgleich gespeichert. Um eine Kreuzkontamination zwischen den Proben zu vermeiden, werden Reaktionsgefäße nur einmal verwendet und Laborgerätschaften gründlich gereinigt.

Nach der Oberflächenabtragung wurden die Zahn- bzw. Knochenfragmente zunächst grob zerkleinert und anschließend in einer Kugelschwingmühle zu einem feinen Pulver gemahlen. Von jeder Probe wurden 0,25 g Zahn- bzw.

Knochenpulver einem mehrstufigen Präparationsprozess unterzogen, in dessen Verlauf zunächst die anorganischen Bestandteile aufgelöst und die Zellen von anhaftenden Proteinen befreit wurden. Die nun in Lösung vorliegende DNA wurde an Silicatpartikel gebunden und durch Zentrifugation aufkonzentriert. Abschließend erfolgte eine Reinigung der DNA mit verschiedenen Waschpuffern, bevor sie letztlich in Wasser gelöst wurde. Für jedes zu untersuchende Individuum wurden zwei voneinander unabhängige DNA-Extrakte angefertigt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, die in folgenden Analysen erwirtschaftet werden, zu gewährleisten.

DNA-ANALYSE

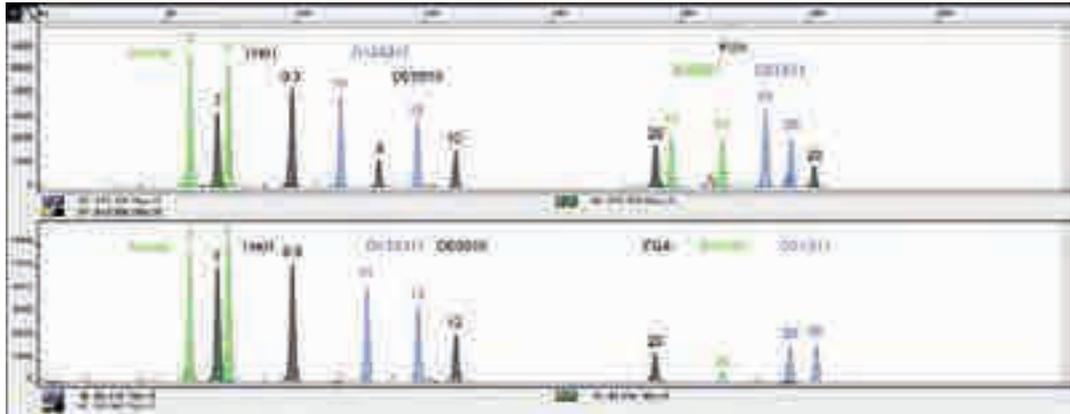
Die sich nun anschließende Analytik dient der eigentlichen Untersuchung der relevanten DNA-Sequenzen.⁵⁰⁹ Hier, im Falle der molekularen Typisierungen des Gammertinger Skelettmaterials, der Feststellung der genetischen Fingerabdrücke sowie mitochondrialer und Y-chromosomaler Haplotypen. Die Analytik umfasst zunächst eine Vervielfältigung der ausgewählten kurzen Sequenzen mithilfe der PCR (Abk. engl. *polymerase chain reaction*).⁵¹⁰ Wesentlicher Motor der Vervielfachung ist ein sich zyklisch wiederholender Temperaturwechsel, dem die zu untersuchende DNA ausgesetzt wird und in dessen Verlauf ein dem Reaktionsgemisch zugefügtes Enzym die ausgewählten DNA-Abschnitte kopiert. Nachdem auf diese Weise eine analysefähige Menge an Ziel-DNA synthetisiert wurde, konnte mit den elektrophoretischen Trennungen des kopierten DNA-Materials auf Agarose-Gelen fortgeföhren werden.⁵¹¹ Agarose-Gele wirken wie ein Molekularsieb, sodass die DNA-Fragmente beim Wandern im elektrischen Feld ihrer Größe nach aufgetrennt werden. Im Gelbild zeigen sich somit unterschiedlich lange Banden



172 Elektrophorese der genetischen Fingerabdrücke auf einem Agarose-Gel. Deutlich erkennbar ist die unterschiedliche Qualität der Proben. Während bei 27/335 T II praktisch keine Signale sichtbar sind, weisen anderen Proben, wie z. B. 366 Z, annähernd gleiche Signalintensitäten wie die Positivkontrolle (PC [PGW]) auf. Weiterhin abgebildet sind die Leerkontrolle (NTC) sowie dreimalig ein Längenstandard (1Kb).

509 Vgl. Anm. 508.
510 Erlich, PCR Technology.

511 Rickwood/Hames, Electrophoresis.



173 Grafische Darstellungen (Elektropherogramme) der Individuen 356 (oben, Vater) und 346 (unten, Sohn). Die farblichen Peaks repräsentieren die STR-Systeme und die jeweiligen Allele. Die Höhen der Peaks spiegeln die Signalstärken der einzelnen STR-Allele wider, sie entsprechen dem Helligkeitswert der Banden im Agarosegel. Für die Bestimmung des genetischen Fingerabdrucks sind jedoch die Peakpositionen entscheidend.

(Abb. 172). Die erste elektrophoretische Trennung auf Agarose-Gelen dient vorrangig der Prüfung auf Sensitivität und Spezifität des Vielfältigungsschrittes und damit des grundsätzlichen Analyseerfolges. Sind hier zufriedenstellende Ergebnisse erzielt worden, kann mit der detaillierten genetischen Typisierung begonnen werden. Dies geschieht mithilfe des zweiten eingesetzten Elektrophoreseverfahrens, der sogenannten Kapillarelektrophorese. Die Kapillarelektrophorese ist ein hochauflösendes Trennverfahren, durch das eine basengenaue Fragmentlängenanalyse möglich ist, wie sie zum Beispiel für die genetischen Fingerabdrücke (Abb. 173) und die Y-Haplotypen-Analyse benötigt wird. Weiterhin kann sie für die Feststellung von Basensequenzen, die Kernstück der mitochondrialen Haplotypenbestimmung sind, genutzt werden.

DER STAMMBAUM VON GAMMERTINGEN

Trotz unterschiedlich guter DNA-Erhaltung der einzelnen Zähne und Knochen konnten für alle acht Individuen aus Gammertingen gute Ergebnisse erwirtschaftet werden, sowohl im Bereich des genetischen Fingerabdrucks als auch bei den Y-chromosomal und mitochondrialen Haplotypen (vgl. Tab. 7–9). Die unterschiedlichen Qualitäten des DNA-Erhalts spiegeln sich in einzelnen Unsicherheiten bzw. *allelic dropouts* bei der Alleldetermination der STRs des genetischen Fingerabdrucks und der Y-Haplotypen wider. Dennoch war es möglich, alle acht Individuen in einen vier Generationen umfassenden Stammbaum einzufügen (Abb. 174). Darüber hinaus konnte anhand des Y-chromosomal Haplotyps eine geografische

Herkunftsbestimmung der väterlichen Familienlinie vorgenommen werden.

Im Folgen sollen zunächst die Typisierungsergebnisse vorgestellt werden, eine Interpretation und somit Rekonstruktion des Familienstammbaums schließt sich an. Um die Authentizität der Ergebnisse zu gewährleisten, wurden jeweils mehrere Amplifikationen aus verschiedenen DNA-Extrakten durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit den genetischen Daten der Bearbeiter abgeglichen, es fanden sich keine Übereinstimmungen. Für alle Untersuchungen wurden Leerkontrollen mitgeführt. Bei der Untersuchung der genetischen Fingerabdrücke und der Y-Haplotypen zeigten diese keine Amplifikationsprodukte, es lagen also keine Kontaminationen vor. Die Leerkontrollen der mt-DNA-Untersuchungen zeigten vereinzelt Verunreinigungen. Mitochondriale DNA liegt in den Zellen in sehr hoher Kopienzahl vor, ein Fremdeintrag erfolgt somit leichter. Die Amplifikationen wurden entsprechend wiederholt.

Bei der Erstellung der genetischen Fingerabdrücke konnte für fast alle untersuchten STR-Systeme eine Alleldetermination erfolgen. Lediglich das System D7S820 weist durchgehend entweder unsichere Allelbestimmungen (in Tab. 7 in Klammern) oder Komplettausfälle auf. Die PCR-Produktlängen dieses Systems liegen bei über 250 bp, ein Fragmentlängenbereich, der typischerweise im Umgang mit aDNA nicht regelhaft erreicht werden kann. Bei der Verwandtschaftsanalyse mittels autosomaler STRs wurde dieses System daher nicht berücksichtigt. Die Untersuchung des Markers Amelogenin war für alle Individuen erfolgreich und bestätigt die Ergebnisse der morphologischen Geschlechtsdiagnose (vgl. Tab. 6).⁵¹² Darüber hinaus konnte das juvenile

512 Schleifring, Anthropologische Untersuchung.

Individuum 425 mithilfe der genetischen Analyse als männlich bestimmt werden.

Für die fünf männlichen Individuen wurde weiterhin jeweils der Y-chromosomale Haplotyp bestimmt. Bei drei der Individuen (298, 346 und 356) konnte ein vollständiges Y-STR-Profil amplifiziert werden, bei den übrigen beiden (27/335 und 425) zeigten sich in den beiden längsten Systemen (DYS19 und DYS389II) *allelic dropouts* (vgl. Tab. 8). Die Individuen 298, 346 und 356 können somit sicher einem Y-Haplotyp zugeordnet werden. Bei Individuen 27/335 und 425 zeigen sich in den erfolgreich amplifizierten Systemen Übereinstimmungen. Trotz der *allelic dropouts* können sie somit dem gleichen Y-Haplotyp zugeordnet werden. Alle fünf männlichen Individuen stammen daher von einer gemeinsamen väterlichen Linie ab.

Die Untersuchung eines wesentlichen Teils der mt-DNA (HVR 1) ergab drei verschiedene mütterliche Abstammungslinien (Tab. 9). Über einen Vergleich mit der internationalen Standardreferenz (rCRS) sind folgende Zuordnungen am wahrscheinlichsten: Individuen 356 und 366 zu Haplogruppe T, Individuen 27/335

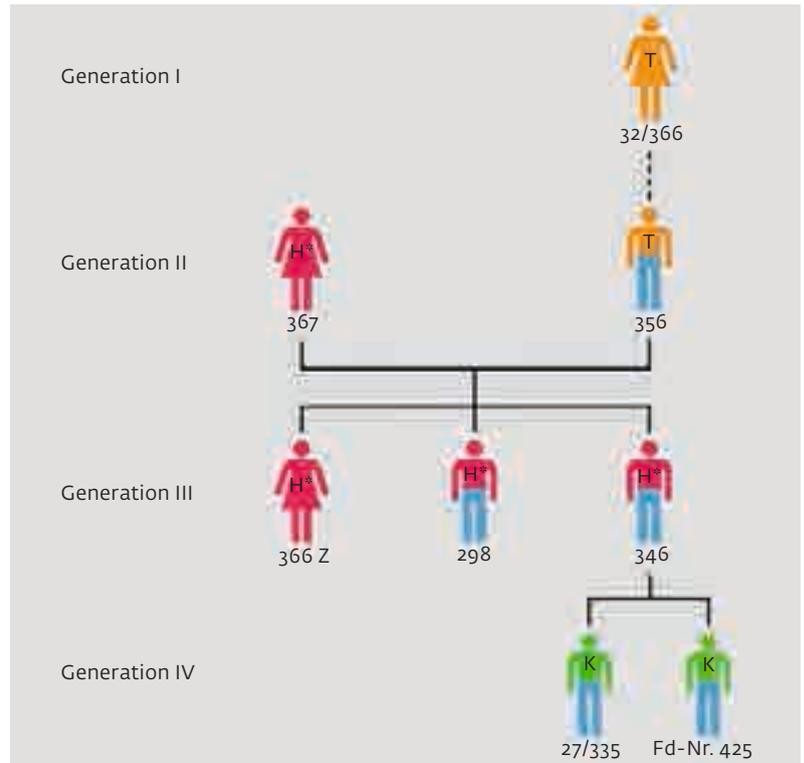


Tabelle 8 Genotypen der Y-chromosomalen STR-Systeme. Legende s. Tabelle 6.

Individuum	DYS391	DYS389I	DYS389II	DYS19	DYS392	DYS393	DYS390	DYS385
27/335	11	13	-	-	13	13	25	11,15
298	11	13	28	14	13	13	25	11,15
346	11	13	28	(14)	13	13	25	11,15
356	11	13	28	14	13	13	25	11,15
Fd-Nr. 425	11	13	-	-	13	13	25	(11,15)
PGW	10	13	29	14	13	13	23	11,14

Tabelle 9 Variable Nucleotid-Positionen der mit mt-DNA (HVR 1) und Zuordnungen zu Haplogruppen und Subhaplogruppen (phylo-tree.org). rCS = internationale Standardreferenz, PGW/JMC = Bearbeiter.

	16126	16129	16221	16224	16234	16245	16291	16293	16294	16296	16311	16316	16324	Haplogruppe	Subhaplogruppe
rCRS	T	G	C	T	C	T	C	A	C	C	T	A	T		
27/335	.	.	.	C	.	C	C	.	.	K	K1a4a1a2
298	T	.	.	G	H*	H24a1
346	T	.	.	G	H*	H24a1
356	C	T	T	.	.	C	T	T2a1b
32/366	C	T	T	.	.	C	T	T2a1b
366Z	T	.	.	G	H*	H24a1
367	T	.	.	G	H*	H24a1
Fd-Nr.425	.	.	.	C	.	C	C	.	.	K	K1a4a1a2
PGW	.	.	T	H*	HV4a
JMC	.	A	T	G	.	H*	H17/H27

174 Rekonstruktion der genealogischen Zusammenhänge zwischen den acht Individuen aus Gammertingen. Der Stammbaum erstreckt sich über mindestens drei, wahrscheinlich aber vier Generationen. Auf hohem Wahrscheinlichkeitsniveau sind die verwandtschaftlichen Beziehungen der Generationen II–IV abgesichert (99,05–99,99%). Die genaue Einordnung von Individuum 32/366 (Generation I) als Mutter von 356 ist genetisch nicht abzusichern, sie könnte auch seine Schwester sein. Dass dennoch die Position als Mutter in der Interpretation zu bevorzugen ist, geht aus Ergebnissen der Datierung und der Isotopenanalyse hervor.

und 425 zu Haplogruppe K und die übrigen Individuen zu Haplogruppe H*.⁵¹³ Alle drei ermittelten mitochondrialen Haplogruppen sind europäischen Familienlinien zuzuordnen.

Die Ergebnisse der DNA-Analysen ermöglichen nun eine Rekonstruktion der Verwandtschaftsverhältnisse der acht Individuen. Der Zuordnung zu mütterlichen und väterlichen Familienlinien folgte eine Überprüfung auf direkte Verwandtschaft mithilfe der genetischen Fingerabdrücke. Hierzu werden anhand von STR-Allelfrequenzen in der rezenten Bevölkerung sogenannte *likelihood ratios* berechnet, aus denen die Wahrscheinlichkeit für eine direkte Verwandtschaft von zwei Individuen abgeleitet werden kann.⁵¹⁴

Die Individuen 366 Z, 298 und 346 der mitochondrialen Haplogruppe H* teilen sich jeweils ein STR-Allel des genetischen Fingerabdrucks mit dem weiblichen Individuum 367, eine direkte Verwandtschaft im Sinne einer Mutter-Kind-Beziehung ist also sehr wahrscheinlich. Des Weiteren teilen sich die Individuen 366 Z, 298 und 346 ihr jeweiliges weiteres Allel mit dem männlichen Individuum 356, was eine Vater-Kind-Beziehung sehr wahrscheinlich macht. Darüber hinaus gehören die männlichen Individuen 356, 298 und 346 alle der gleichen väterlichen Linie an. Die Wahrscheinlichkeiten, dass 367 und 356 die Eltern von 366 Z, 298 und 346 sind, liegen zwischen 86,92% und 99,90%, wenn lediglich die sicher determinierten Allele berücksichtigt werden. Unter Hinzuziehung auch der Allele, deren Bestimmung mit Unsicherheiten behaftet ist, steigt die Wahrscheinlichkeit auf 99,05 bis 99,95%.

Die beiden männlichen Individuen 27/335 und 425 gehören als einzige der mitochondrialen Haplogruppe K an, wodurch ausgeschlossen werden kann, dass sich deren Mutter unter den Bestatteten befindet. Als Vater kann hingegen Individuum 346 angenommen werden. Die Wahrscheinlichkeiten für seine Vaterschaft liegen hier zwischen 98,66% und 98,99% (bzw. 99,93 bis 99,99% inklusive unsicherer Allele). Weiterhin gehören 27/335 und 425 ebenfalls der gleichen väterlichen Familienlinie an.

Der Anschluss von Individuum 32/366 an den Stammbaum ist über zwei Szenarien möglich. 32/366 gehört wie 356 der mitochondrialen Haplogruppe T an. Werden vom genetischen Fingerabdruck lediglich die sicher bestimmten Allele berücksichtigt, ergibt sich eine Wahrscheinlichkeit von 99,68% für eine

direkte Verwandtschaft (Mutter-Kind). Bei den mit Unsicherheiten behafteten Allelbestimmungen liegt im STR-System D3S1358 eine Abweichung um eine Wiederholungseinheit vor (Allel 16 anstatt 15). Ursache hierfür kann ein Mutationsereignis sein, die Abweichung führt nach den Standards humangenetischer Elternschaftsbestimmungen also nicht direkt zum Ausschluss der angenommenen Mutter-Kind-Beziehung.⁵¹⁵ Durch Kenntnis der Mutationsrate für das betreffende System errechnet sich eine Wahrscheinlichkeit von ca. 88% für eine Mutter-Kind-Beziehung.⁵¹⁶ Eine weitere mögliche Erklärung für die Abweichung um ein Allel ist, dass es sich bei den beiden Individuen um Geschwister handelt. Die Wahrscheinlichkeit für eine Vollgeschwisterschaft beträgt 91,17%. Anhand der genetischen Analysen allein kann also zur Beziehung zwischen Individuen 32/366 und 356 keine endgültige Aussage getroffen werden. Zur Klärung dieser Frage können die Ergebnisse der ¹⁴C-Datierung (vgl. S. 136 ff.) und der Strontium-Isotopenanalyse (vgl. S. 405 ff.) hinzugezogen werden. Beide Analysen lassen die Beziehung Mutter-Sohn wahrscheinlicher sein.

Alle acht Individuen lassen sich somit in einen vier Generationen umfassenden Stammbaum einfügen. Die enge Verwandtschaft der Individuen und die Tatsache, dass eine Beisetzung innerhalb einer Kirche nur hochgestellten Familien vorbehalten war, lässt daher den Schluss zu, dass es sich bei den Bestatteten tatsächlich um Angehörige des Grafengeschlechts von Gammertingen gehandelt hat.

Neben der Erstellung der Genealogie können die DNA-analytischen Ergebnisse zu Ableitungen bezüglich der Lokalität genutzt werden. Unter den Individuen finden sich drei verschiedene mütterliche Familienlinien, jedoch nur eine väterliche Linie. Dies steht im Einklang mit früheren Familienstrukturen, bei denen Patrilokalität bzw. Virilokalität vorherrschend zu sein schien.⁵¹⁷ Darüber hinaus wurde über den Abgleich mit einer Referenzdatenbank das Vorkommen des in der Familie gefundenen Y-chromosomalen Haplotyps in der rezenten Population überprüft.⁵¹⁸ Der analysierte Y-Haplotyp kann heutzutage in seiner genauen Allelzusammensetzung nur in Spanien gefunden werden. Die Haplotypen in Südwestdeutschland weisen jedoch mit Abweichungen von nur einer Wiederholungseinheit sehr hohe Ähnlichkeiten auf. Da zwischen dem heutigen und dem für die

513 Andrews et al., Cambridge reference sequence.

514 <http://allstr.de> (letzter Zugriff 23. 08. 2016).

515 Brinkmann et al., Analysis of exclusion cases.

516 Die Wahrscheinlichkeit für ein Mutationsereignis in diesem System liegt bei ca. 0,8%, siehe dazu Mornhinweg et al., Gene frequency.

517 Simon et al., Families in prehistoric collective burials.

518 www.yhrd.org.

Gammertinger Männer analysierten Haplotyp 30 bis 40 Generationen liegen, sind Allelabweichungen um eine Wiederholungseinheit aufgrund von Mutationen statistisch gesehen sogar zu erwarten.⁵¹⁹ Obwohl also die paternale Familienlinie der Grafen von Gammertingen selbst im 12. Jahrhundert verschwand, als das letzte männliche Familienmitglied ins Kloster ging, können heute noch nah verwandte Y-Haploty-

pen in der Region um Gammertingen gefunden werden.⁵²⁰ Daraus kann geschlossen werden, dass auch heute noch entfernte Verwandte des Grafengeschlechts in der Region leben. Ob dies auf illegitime Nachkommen der Grafen zurück geht oder auf den Umstand, dass das Grafengeschlecht aus der lokalen Bevölkerung stammt, kann durch die vorliegenden genetischen Analysen nicht geklärt werden.

519 Kayser et al., Y chromosome.

520 Burkarth, Gammertingen.