

# MOLEKULARGENETISCHE ANALYSEN AM „GAMMERTINGER HELMTRÄGER“ ZUR IDENTIFIKATION DER MÄNNLICHEN FAMILIENLINIE

Susanne Hummel und Janine Mazanec

## EINLEITUNG

Sören Frommer

Das „Helmgrab von Gammertingen“ (vgl. Abb. 62), früher meist „Fürst von Gammertingen“ genannt, ist die bedeutendste Bestattung im überregional bekannten Gammertinger Reihengräberfeld oberhalb der Sigmaringer Straße (vgl. Abb. 63). Das Gräberfeld ist zwischen der zweiten Hälfte des 5. Jahrhunderts und dem Beginn des 8. Jahrhunderts belegt, der Helmträger selbst wurde im letzten Drittel des 6. Jahrhunderts bestattet. Die Bestattung mit Spangenhelm, Kettenhemd, Ango, Spatha, Sax, Lanze, Axt, reich verziertem Pferdegeschirr und anderen wertvollen Beigaben gilt als eines der reichsten Oberschichtsräber im alamannischen Gebiet. Im Jahr 2014 ging das Helmgrab in den Besitz des Landesmuseums Württemberg über. Dort ist im Moment eine Neubearbeitung des Grabinventars im Gange. Eine Publikation ist geplant.

Die hier vorgestellte Untersuchung wurde angestoßen, um die im Gammertinger Befund aufscheinende Möglichkeit einer weitgehend kontinuierlichen Adelsentwicklung zwischen Merowinger- und Ottonenzeit von naturwissenschaftlicher Seite zu prüfen. Näheres dazu findet sich im Kapitel „Adelsherausbildung und Kontinuitätsfrage“, v. a. S. 106.

## FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG

Gegenstand der hier durchgeführten molekulargenetischen Analysen war der sogenannte „Gammertinger Helmträger“ oder „Fürst“ von Gammertingen aus dem späten 6. Jahrhundert, dessen Überreste bei Ausgrabungen in Gammertingen, Baden-Württemberg, gefunden worden waren.

Ziel der Untersuchung war es, die väterliche Familienlinie (Y-Haplotyp) des Helmträgers zu ermitteln, um diese mit der Familienlinie

der Gammertinger Grafen (10./11. Jh.) vergleichen zu können. Die molekulargenetischen Untersuchungen der acht Individuen, deren Bestattungen in und um die St. Michaelis-Kapelle in Gammertingen gefunden worden waren, ließen eine detaillierte Verwandtschaftsrekonstruktion zu. Da die Bestattungen von Laien innerhalb von Kirchen zu jener Zeit auf exklusive Adelskreise beschränkt waren, legen die engen verwandtschaftlichen Beziehungen der Individuen eine Interpretation als erste Generationen des Gammertinger Grafengeschlechts nahe (s. Beitrag Mazanec u. a. in diesem Band).

## MATERIAL

Als Untersuchungsmaterial standen Schädel und Unterkiefer des Helmträgers zur Verfügung. In der Regel erweist sich die DNA-Erhaltung in Zähnen als sehr gut. Da Teile des Gesichtsschädels inklusive Oberkieferfragmenten fehlen, wurde der Unterkiefer als Beprobungsort gewählt. Für die DNA-Extraktion wird lediglich die Zahnwurzel benötigt, nach der Beprobung kann die Zahnkrone wieder in den Kiefer eingesetzt werden, sodass keine äußerlich sichtbare Beschädigung entsteht. Für die Untersuchung wurde der Zahn 43 (Abb. 235) gewählt, da Eckzähne zum einen große Wurzeln aufweisen und zum anderen leichter aus dem Kieferknochen zu entfernen sind als z. B. mehrwurzlige Backenzähne.

## DURCHFÜHRUNG DER ANALYSEN

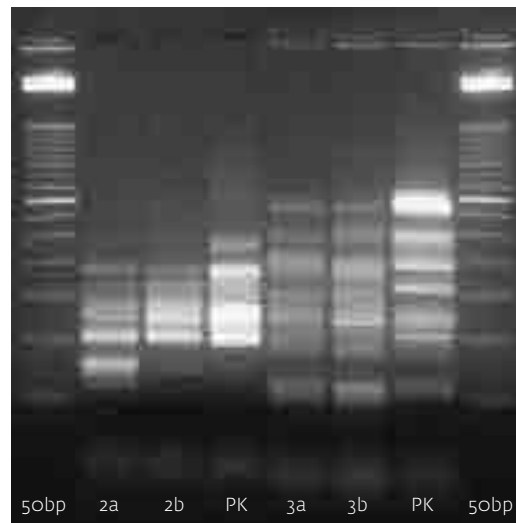
### Probenvorbereitung und DNA-Extraktionen

Um das Entfernen des Zahns 43 aus dem Unterkiefer zu erleichtern, wurde das Zahnfach zunächst mit destilliertem Wasser angefeuchtet. Nach dem Ziehen wurde die Krone mittels eines diamantbeschichteten Sägeblatts ab-



235 Der Unterkiefer des Gammertinger Helmträgers (links), mit dem für die Untersuchung gezogenen Eckzahn 43.

236 Elektrophoretische Auftrennung der Amplifikationsprodukte von Multiplexanalysen auf einem Agarose-Gel. In den äußersten Bahnen läuft ein Längenstandard (50 bp). Produkte einer Fingerprint-PCR (2a u. 2b, PowerPlex® ESX 17) und einer Y-Haplotyp-PCR (3a u. 3b, Decaplex). In den Proben sowie in den Positivkontrollen (PK) sind multiplexe Amplifikationsprodukte entstanden, die für eine weitere Analyse mit dem Ziel der Allelbestimmung von Genetischem Fingerabdruck und Y-Haplotyp geeignet sind.



getrennt und wieder in den Kiefer eingesetzt. Um mögliche anhaftende Oberflächenverunreinigungen zu entfernen, wurde die Wurzel zunächst mithilfe des Sägeblattes mechanisch gereinigt und dann anschließend für 15 Minuten in sechszehntprozentige Bleichlauge eingelegt. Die getrocknete Wurzel wurde am nächsten Tag mithilfe einer Kugelschwingmühle zu einem feinen Pulver zermahlen.

Mit einer Feinwaage wurden jeweils 0,25 g Zahnpulver für die einzelnen Extraktionen abgewogen und mit je 3900 µl EDTA (0,5 M; pH 8,3) und 100 µl Proteinase K für 18 Stunden bei 37 °C im Heizofen unter Rotation inkubiert. Nach diesem Dekalzifizierungsschritt erfolgte eine zweistündige Inkubation mit zusätzlichen 50 µl Proteinase K bei 56 °C zum Ablösen der DNA von Proteinen. Da die stark glänzenden Oberflächen des Schädels und Unterkiefers auf eine Oberflächenbehandlung mit einer Härtersubstanz hindeuten, welche anschließende Analysen verhindern könnte, wurde hier ein Phenol/Chloroform-Fällungsschritt eingeschoben, um diese zu entfernen. Das Lysat wurde anschließend mittels Purification-Säulchen (Fa. Qiagen) aufgereinigt. Dafür wurde die DNA mithilfe von mehreren Waschpuffern von den übrigen Substanzen getrennt und schließlich in Wasser eluiert, das Volumen betrug 50 µl pro Extrakt.

Zur Überprüfung und Absicherung der Ergebnisse wurden zwei Extrakte hergestellt, die im Folgenden getrennt prozessiert wurden (Laborbezeichnung Gamm15 Ex 1 und Gamm15 Ex 2).

### DNA-Amplifikation (PCR)

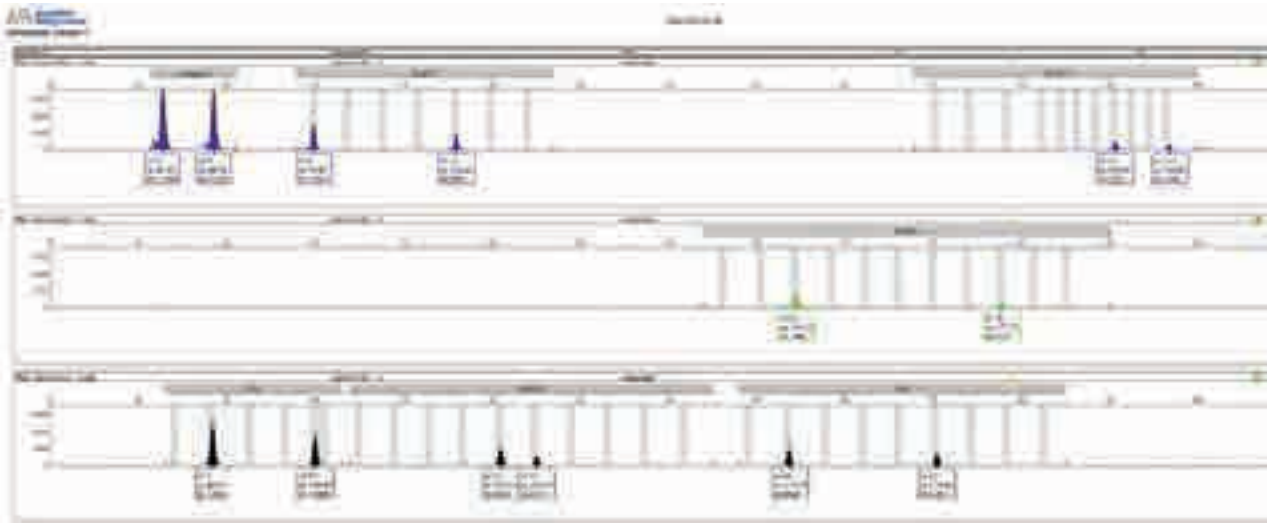
Um die Authentizität der Ergebnisse zu sichern wurde von beiden Extrakten der genetische Fingerabdruck erstellt und mit der Bearbeiterin ab-

geglichen. Für die Ermittlung der genetischen Fingerabdrücke wurden Analysen sowohl mit einem laborintern entwickelten Heptaplex-Kit speziell für degradierte DNA als auch mit einem kommerziell erhältlichen Kit (PowerPlex® ESX 17, Fa. Promega) durchgeführt. Für die Analysen der väterlichen Familienlinien wurde ebenfalls ein laborinternes Decaplex-Kit für degradierte DNA angewendet.

Für die verschiedenen Amplifikationen wurden Analyseparameter zur Anpassung an die Eigenschaften des vorliegenden Probenmaterials modifiziert. So wurde zum Beispiel die Menge des eingesetzten DNA-Extraktes der einzelnen PCRs variiert.

### Elektrophoretische Auftrennung der Amplifikationsprodukte-Agarose

Die Amplifikationsprodukte wurden zunächst auf Agarose-Gelen (2,5%) elektrophoretisch aufgetrennt (vgl. Abb. 236). Hierbei handelt es sich um ein Screening vorab zur Prüfung des



237 Elektropherogramm der hochauflösenden elektrophoretischen Auftrennung der Amplifikationsprodukte einer Heptaplex-PCR in PAA. Die Probe zeigt einen vollständigen genetischen Fingerabdruck (markierte Peaks). Aus den genauen Lagen der Peaks auf der x-Achse, die von der Anzahl der Repeatstrukturen abhängt, wird der genetische Fingerabdruck ermittelt. Zu diesem Zweck wird eine Codifizierung der genauen Lage in ein Ziffersystem durchgeführt (= Allelbestimmung, jeweils unterhalb der Peaks; vgl. Tab. 26).



238 Elektropherogramm einer Y-Decaplex. Die Allelbestimmung ist in Tabelle 27 dargestellt.

Amplifikationserfolges und zur Abschätzung geeigneter Mengen für die weiteren Analyse-schritte.

### Elektrophoretische Auftrennung der Amplifikationsprodukte-PAA

Im Anschluss wurden alle Amplifikationsprodukte einer kapillar-elektrophoretischen Auftrennung in Polyacrylamid (PAA) im hochauflösenden 3500 Series Genetic Analyzer (Fa. Thermo Fisher Scientific) unterzogen. Ziel ist hier eine Fragmentlängenanalyse der

STR-Systeme (short tandem repeats) zur Alledetermination (genetischer Fingerabdruck und Y-Haplotyp). Die folgenden Abbildungen zeigen exemplarisch Elektropherogramme einer Heptaplex-PCR (Abb. 237) und einer Y-Decaplex-PCR (Abb. 238). Die Ergebnisse aller Alledeterminationen finden sich in den Tabellen 26 und 27.

### ERGEBNISSE

Die DNA-Erhaltung der untersuchten Probe hat sich als sehr gut erwiesen, was für die Kern-

**Tabelle 26** STR-Systeme des genetischen Fingerabdrucks und für die Probe Gamm 15 amplifizierte Allele. Klammern repräsentieren Allele, die nicht durch eine weitere Amplifikation repliziert werden konnten.

System	Amelo	D1S1656	D2S441	D2S1338	D3S1358	D8S1179	D10S1248	D12S391	D16S539	
Gamm15	X/Y	13/16	(11.3)/-	17/(23)	16/18	14/-	13/14	22/-	13/-	
System	D18S51	D19S433	D21S11	D22S1045	FGA	SE33	TH01	VWA	D5S818	D13S317
Gamm15	12/18	13/16	32/33.2	(11)/15	19/23	20/22.2	7/9.3	15/17	11/12	8/12

Legende: - = kein Signal für den amplifizierten Marker

**Tabelle 27** STR-Systeme der väterlichen Familienlinie (Y-Haplotyp) und für die Probe Gamm 15 amplifizierte Allele.

System DYS	389 I	19	389 II	438	385	439	393	390	392	391	437
Gamm15	13	14	29	12	11,14	12	13	23	13	11	15

**Tabelle 28** Vergleich der STR-Systeme der Gammertinger Grafen und des Helmträgers. Die Systeme DYS438, DYS439 und DYS437 wurden von P. v. Grumbkow (2012) untersucht, lieferten jedoch keine repräsentativen Signale und wurden nicht mit in den Haplotyp aufgenommen.

System DYS	389 I	19	389 II	438	385	439	393	390	392	391	437
Grafen	13	14	28	-	11,15	-	13	25	13	11	-
Gamm15	13	14	29	12	11,14	12	13	23	13	11	15

systeme der Institutsdatenbank (Amelogenin, D18S51, D21S11, FGA, TH01, D5S818 und D13S317) in einem vollständigen genetischen Fingerabdruck resultiert (vgl. Tab. 26). Die STR-Systeme, die im Heptaplex-Kit enthalten sind (Kernsysteme s. o.) konnten hierbei aus den verschiedenen Extrakten achtfach repliziert werden. Diese STRs stellen die Kernsysteme der Institutsdatenbank zur laborinternen Kontaminationsüberwachung dar, was einen Abgleich mit Bearbeitern und anderen im Labor bearbeiteten Proben ermöglicht und somit die Authentizität der Probe sichert. Zur Validierung dieser Kernsysteme wurde zusätzlich von einem Extrakt eine Amplifikation mit einem kommerziellen Kit (PowerPlex® ESX 17) durchgeführt. Die dadurch zusätzlich erwirtschafteten STR-Systeme wurden nicht durch eine zweite Amplifikation repliziert, da bereits mit der Aussagekraft der Kernsysteme eine Kontamination ausgeschlossen werden konnte.

Für den Y-Haplotyp konnte ebenfalls ein vollständiges Profil erstellt werden (vgl. Tab. 27). Alle Allele wurden aus beiden Extrakten jeweils zweifach repliziert. Eine Kreuzkontamination durch andere Proben konnte ausgeschlossen werden.

Die bei den Untersuchungen mitgeführten Negativkontrollen zeigten keine Verunreinigungen von z. B. Reaktionsgefäßen oder Reagenzien.

## SCHLUSSFOLGERUNG UND DISKUSSION

Aufgrund der sehr guten DNA-Erhaltung der Probe des Gammertinger Helmträgers konnten vollständige Profile für den genetischen Fingerabdruck und den Y-Haplotyp erstellt werden, was einen Abgleich mit den Profilen der Gammertinger Grafen ermöglicht. Die genetischen Fingerabdrücke zeigen erwartungsgemäß keine Übereinstimmungen. Der Y-Haplotyp des Helmträgers und der der Grafen sind in Tabelle 28 dargestellt. In drei Systemen (DYS 389 II, DYS385; DYS390) zeigen sich Abweichungen um eine bzw. zwei Wiederholungseinheiten, der Helmträger teilt somit nicht die väterliche Familienlinie der Gammertinger Grafen.

Da das Y-Chromosom immer unverändert vom Vater auf seine Söhne weitergegeben wird, können Änderungen in der Anzahl der Repeat-einheiten (hier ausgedrückt durch die Allelbezeichnung) nur durch Mutationsereignisse entstehen. Statistisch gesehen ist es extrem unwahrscheinlich, dass in dem Zeitraum von nur wenigen Jahrhunderten, der zwischen dem Helmträger und den Grafen liegt, derart viele Mutationsereignisse stattfinden konnten.

Die hier vorliegenden genetischen Untersuchungen lassen jedoch nur Aussagen über biologische Familienfolgen zu. Eine „soziale“ Vaterschaft (Adoption) etwa durch Kinderlosigkeit oder den Mangel an männlichen Nachkommen kann nicht beurteilt werden.<sup>607</sup>

607 Im Falle der Königsfelder Grafen (Gerstenberger 1998, Rekonstruktion familiärer Verwandtschaft durch autosomale STR und Y-Haplotypen Analysen von alter DNA, Diplomarbeit Universität Göt-

tingen) konnte die historisch belegte Vaterschaft von Josef Wilhelm zu Georg Josef biologisch ausgeschlossen werden.