

Zwei Mehrfachbestattungen aus dem alamannischen Reihengräberfeld von Neresheim: Verwandtschaftsstrukturen im Spiegel einer frühmittelalterlichen Gesellschaft

CARSTEN M. PUSCH und MICHAEL SCHOLZ

Abstract

From the early medieval cemetery at Neresheim (Germany) a total of 38 skeletal remains of individuals buried between 450 and 700 AD were examined with PCR-based systems comprised of four human-specific STRs. About twenty of the nearly 1.500-years-old individuals reproducibly yielded alleles in at least one of the polymorphic nuclear gene loci HumCD4 and HumVWA. Here we present the results of an interdisciplinary collaboration that combines genetic, archaeological and anthropological analyses. The data provide insights into prehistoric family relationships of two extraordinary multiple burials.

Einleitung

Die junge Disziplin der Paläogenetik ist ein stark expandierender und zukunftsweisender Wissenschaftszweig. Auf der Basis von Knochen- und Zahnproben wurde bereits mehrfach gezeigt, daß via PCR amplifizierte mitochondriale DNA-Abschnitte aus prähistorischen Ausgangsproben isoliert und sequenziert werden können.¹ Um die Informativität von DNA-Sequenzen in spezifischen Fragestellungen zu erhöhen, muß allerdings die DNA des Kerngenoms herangezogen werden.² Verschiedene Publikationen zeigen, daß in Einzelfällen auch nukleare DNA aus vorgeschichtlichem Material amplifiziert werden kann.³ Durch die große Anzahl nuklearer DNA-Polymorphismen ergibt sich die Möglichkeit, daß einzelne Loci per se oder in Kombination mit anderen für evolutive

- 1 E. HAGELBERG/B. SYKES/R. HEDGES, Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342, 1989, 458; C. HÄNNI/T. BROUSSEAU/V. LAUDET/D. STEHELIN, Isopropanol precipitation removes PCR inhibitors from ancient bone extracts. *Nucleic Acids Res.* 23, 1995, 881–882; E. HAGELBERG/J. B. CLEGG, Isolation and characterization of DNA from archaeological bone. *Proc. Royal Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 244, 1991, 45–50; C. GINTHER/L. ISSEL-TARVER/M. C. KING, Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth. *Nature Genet.* 2, 1992, 135–138; K. KUROSAKI/T. MATSUSHITA/S. UEDA, Individual DNA identification from ancient human remains. *Am. Journ. Hum. Genet.* 53, 1993, 638–643; M. SCHOLZ/C. PUSCH, An efficient isolation method for high-quality DNA from ancient bones. *Trends Genet.* 13, 1997, 249 (Technical Tips Online, TTO. [<http://www.elsevier.com/locate/tto>] oder [<http://www.biomednet.com/db/tto>] T01045).
- 2 A. J. JEFFREYS/V. WILSON/S. L. THEIN, Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. *Nature* 314, 1985, 67–73; Y. NAKAMURA/M. LEPPERT/P. O’CONNELL/R. WOLFF/T. HOLM/M. CULVER/C. MARTIN/E. FUJIMOTO/M. HOFF/E. KUMLIN, Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science* 235, 1987, 1616–1622; A. M. BOWCOCK/J. R. KIDD/J. L. MOUNTAIN/J. M. HEBERT/L. CAROTENUTO/K. K. KIDD/L. L. CAVALLI-SFORZA, Drift, admixture, and selection in human evolution: A study with DNA polymorphisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 1991, 839–843; KUROSAKI u. a. (Anm. 1) 638 ff.; A. M. BOWCOCK/A. RUIZ-LINARES/J. TOMFOHRDE/E. MINCH/J. R. KIDD/L. L. CAVALLI-SFORZA, High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368, 1994, 455–457; A. DI RIENZO/A. C. PETERSON/J. C. GARZA/A. M. VALDES/M. SLATKIN/N. B. FREIMER, Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1994, 3166–3170.
- 3 KUROSAKI u. a. (Anm. 1) 638 ff.; P. GILL/P. L. IVANOV/C. KIMPTON/R. PIERCY/N. BENSON/G. TULLY/I. EVETT/E. HAGELBERG/K. SULLIVAN, Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat. Genet.* 6,

Fortsetzung nächste Seite

Studien oder für die Aufklärung genealogischer Strukturen innerhalb vorgeschichtlicher Bestattungsplätze herangezogen werden können.⁴ Die Verwendung nuklearer Markersysteme bietet daher den großen Vorteil, daß sie sich sowohl für vertikale (interpopulativ) als auch für horizontale (intrapopulativ) Studien eignen.

Da ein einzelnes Auswertungsverfahren nur unzureichende Aussagen liefern kann, haben wir in der vorliegenden Arbeit zusätzlich die Evaluation ausgewählter epigenetischer Skelettmerkmale durchgeführt. Die methodische Problematik konventioneller Ansätze lag bisher in der eindeutig polygenen Streuung (Schwellenwerteffekt) und/oder den polyfaktoriellen Einflüssen der benutzten Merkmalsysteme (v. a. metrische Skelettmerkmale). Deshalb konnten, selbst unter Berücksichtigung nicht rein variationsstatistischer Parameter, lediglich Aussagen mit einer rechnerischen Fehlerwahrscheinlichkeit >15% erzielt werden.⁵ Mit der Kombination sowohl genetischer als auch anthropologischer Merkmalsprofile ließ sich eine statistisch valide Aussage über Familienstrukturen in bestimmten Bereichen des vorgeschichtlichen Bestattungsortes von Neresheim treffen.

Material und Methode

Individuen der Neresheimer Mehrfachbestattungen 9 und 78

Von den Neresheimer Gräbern waren 41 sogenannte Mehrfachbestattungen.⁶ Dabei konnten die Reste von jeweils 2–5 Individuen in den entsprechenden Grabgruben nachgewiesen werden. In dem ungestörten Grab 9 konnten nach der anthropologischen Untersuchung und der morphologischen Alters- und Geschlechtsbestimmung die gut erhaltenen Skelettreste einer etwa 20 bis 30 Jahre alten Frau (Ne 9/1) und eines etwa siebenjährigen Kindes (Ne 9/2) unbekanntes Geschlechts⁷ identifiziert werden. Einzige Beigabe war eine eiserne Gürtelschnalle im Beckenbereich, die aufgrund ihrer unspezifischen typologischen Ausprägung zeitlich nicht näher angesprochen werden konnte und somit eine archäologische Datierung der Bestattung ausschloß. Grab 78 nimmt unter den Mehrfachbestattungen von Neresheim eine Sonderstellung ein. In dieser Grablege wurden Reste von insgesamt drei Individuen anthropologisch nachgewiesen. Die Rekonstruktion der Grabsituation zeigte, daß es sich hierbei um ein im Neresheimer Gräberfeld einzigartiges Etagegrab handelte,⁸ welches sich durch eine beabsichtigte Übereinanderbestattung dreier Individuen in derselben Grabgrube definiert. Diese ungewöhnliche Art der Bestattung legte die Vermutung nahe, daß es sich hierbei um

Fortsetzung Anm. 3

1994, 130–135; E. BERAUD-COLOMB/R. ROUBIN/J. MARTIN/N. MAROC/A. GARDEISEN/G. TRABUCHET/M. GOOSSENS, Human β -globin gene polymorphisms characterized in DNA extracted from ancient bones 12,000 years old. *Am. J. Hum. Genet.* 57, 1995, 1267–1274; M. D. RAMOS/C. LALUEZA/E. GIRGAU/A. PEREZ-PEREZ/S. QUEVEDO/D. TURBON/X. ESTIVILL, Amplifying dinucleotide microsatellite loci from bone and tooth samples of up to 5000 years of age: more inconsistency than usefulness. *Hum. Genet.* 96, 1995, 205–212; C. PUSCH/M. SCHOLZ, DNA extraction from ancient human bones via enzymatic treatment. *Trends Genet.* 13, 1997, 417 (Technical Tips Online, TTO. [<http://www.elsevier.com/locate/tto>] T01217); M. SCHOLZ/C. PUSCH, An efficient isolation method for high-quality DNA from ancient bones. *Trends Genet.* 13, 1997, 249 (Technical Tips Online, TTO. [<http://www.elsevier.com/locate/tto>] oder [<http://www.biomednet.com/db/tto>] T01045); C. PUSCH/I. GIDDINGS/M. SCHOLZ, Repair of degraded duplex DNA from prehistoric samples using *E. coli* DNA polymerase I and T4 DNA ligase. *Nucleic Acids Res.* 26/3, 1998, 857–859.

4 KUROSAKI u. a. (Anm. 1) 638 ff.

5 F. VOGEL/A. G. MOTULSKY, *Human genetics: problems and approaches* (Heidelberg 1982).

6 M. KNAUT, Die alamannischen Gräberfelder von Neresheim und Köisingen. *Forsch. u. Ber. Vor- u. Frühgesch. Baden-Württemberg* 48 (Stuttgart 1993) 187–197.

7 R. HAHN, in: KNAUT (Anm. 6) 357 ff.

8 KNAUT (Anm. 6) 18 ff.

Mitglieder eines engeren sozialen Verbandes, möglicherweise einer Sippe oder Familie handeln könnte.⁹ Die unterste – und somit älteste – Bestattung Ne 78/2 bezeichnet die Überreste eines Mannes, der im Alter von etwa 50 Jahren verstarb. Bei Ne 78/1 handelt es sich um die Skelettreste einer 40 bis 50 Jahre alten Frau. Mit Ne 78/3 sind die wenigen Knochenreste eines etwa 20jährigen Individuums bezeichnet, dessen Geschlecht am osteologischen Material nicht mehr zu bestimmen war. Das ungefähre Individualalter konnte dennoch anhand der gut erhaltenen Schädelbasis bestimmt werden, da keine vollständige Obliteration der Sphenobasilarfuge zu beobachten war. Das Grab war stark gestört und schon in früher Zeit beraubt worden, worauf der im Grabschacht gefundene Rest eines tönernen Spinnwirtels hindeutet. Dessen Form und Ausprägung machte es jedoch möglich, die Bestattung der ältesten Belegphase (450–530 AD) des Gräberfeldes zuzuordnen.¹⁰

Genetische Analysen

Die Extraktion der aDNA erfolgte über eine Reihe teilweise kombinierter etablierter Enzym- und Lysis-Methoden.¹¹ Die anschließende molekulargenetische Methode der Wahl war die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), die eine Vervielfältigung von DNA-Segmenten, selbst bei geringer Ausgangsmenge an isolierter und hochaufgereinigter DNA, erlaubt.¹² Dabei wurden die DNA-Isolate der jeweiligen Individuen bezüglich der polymorphen STR-Loci HumCD4 und HumVWA des Kerngenoms getestet. Die dafür benötigten Reagentien wurden über die Firma Serac™ bezogen.

Epigenetische Merkmale

Bislang liegen fundierte Erkenntnisse über 204 epigenetische Merkmale (*Discreta*) am menschlichen Skelett vor, von denen allein 137 am Schädel lokalisiert sind.¹³ Die Entstehung dieser morphologischen Varianten ist weder durch pathogene, traumatische Prozesse noch durch ernährungs- bzw. wachstumsbedingte oder populationsspezifische Faktoren zu erklären. Es handelt sich vielmehr um Veränderungen am Knochen, denen offenbar rein genetische Ursachen (polygen gesteuerte Merkmale bei additiver Genwirkung) zugrunde liegen.¹⁴ Durch eine statistische Ergebnisauswertung anhand der analysierbaren epigenetischen Phänotypen kann so ein individualspezifischer Fingerprint hergestellt werden.

9 R. CHRISTLEIN, Die Alamannen. Archäologie eines lebendigen Volkes (Stuttgart 1978).

10 KNAUT (Anm. 6) 29.

11 C. PUSCH/M. SCHOLZ, DNA extraction from ancient human bones via enzymatic treatment. Trends Genet. 13, 1997, 417 (Technical Tips Online, TTO. [<http://www.elsevier.com/locate/tto>] T01217; SCHOLZ/PUSCH, Isolation method (Anm. 3) 249; PUSCH/GIDDINGS/SCHOLZ (Anm. 3) 857–859; M. SCHOLZ/C. PUSCH, A comparative study for successful DNA analyses from mummified soft tissue. Bull. Soc. Suisse Anthr. 4/1, 1998, 1–5; M. SCHOLZ/C. PUSCH, DNA Isolation from Ancient Bone Samples using a Mixture of Coca-Cola™ and Gall-Soap. Bull. Soc. Suisse Anthr. 4/2, 1998, 1–6.

12 R. SAIKI/D. H. GELFAND/S. STOFFEL/S. J. SCHARF/R. HIGUCHI/G. T. HORN/K. B. MULLIS/H. A. ERLICH, Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 239, 1988, 487–491; K. MULLIS/F. FALOONA/S. SCHARF/R. SAIKI/G. HORN/H. ERLICH, Specific enzymatic amplification of DNA in vitro. Cold Spring Harbor Symposia in quantitative biology 51/1, 1986, 263–273; S. PÄÄBO/R. G. HIGUCHI/A. C. WILSON, Ancient DNA and the polymerase chain reaction: the emerging field of molecular archaeology. Journ. Biol. Chem. 264, 1989, 9709–9712.

13 G. HAUSER/G. F. DE STEFANO, Epigenetic variants of the human skull (Stuttgart 1989); A. CZARNETZKI, Definitionen der epigenetischen Skelettmerkmale. Yearbook of Physical Anthropology (New York, im Druck).

14 M. SCHOLZ, Eine partiell persistierende Chorda dorsalis an einer frühmittelalterlichen Bestattung aus Neresheim. Bull. Soc. Suisse Anthr. 2/2, 1996, 47–53.

Ergebnisse

Auswertbare Genotypen zur Identifizierung potentieller Verwandtschaftsbeziehungen konnten für die STR-Systeme HumCD4 und HumVWA eruiert werden. Die Locus-spezifischen Allele des CD4- bzw. VWA-Gens verteilten sich bei den jeweiligen Individuen aus den Bestattungen Ne 9 und Ne 78 wie in Tabelle 1 dargestellt. Die molekulargenetisch erhobenen Daten für die Gräber 9 und 78 waren zwar informativ, aber nicht signifikant. Daher empfahl es sich, ein weiteres Analysesystem anzuwenden. Die anthropologische Auswertung erhaltungsbedingt ausgewählter epigenetischer Merkmale war aufgrund der ihnen zugrundeliegenden genetischen Steuerungsmechanismen hierfür das geeignete Werkzeug. Am Schädel zeigte sich bei Individuum 78/1 – neben den normalen Charakteristika der ontogenetischen Knochenentwicklung – der gemeinsame Nachweis zusätzlicher Verknöcherungszentren sowohl in der Sagittal- und Coronalnaht wie auch in der *Sutura lambdoidea*. *Ossicula coronalia* und *Ossicula lambdoidea* konnten auch bei Individuum 78/2 detektiert werden. Bei Ne 9/1 hingegen waren von den drei genannten Merkmalen nur die *Ossicula lambdoidea* vorhanden (Tab. 2). Um eine statistische Validierung dieser Daten zu erhalten, wurden *Manhattan*-Distanzen in Form einer *Cluster*-Darstellung gewählt (Abb. 1).

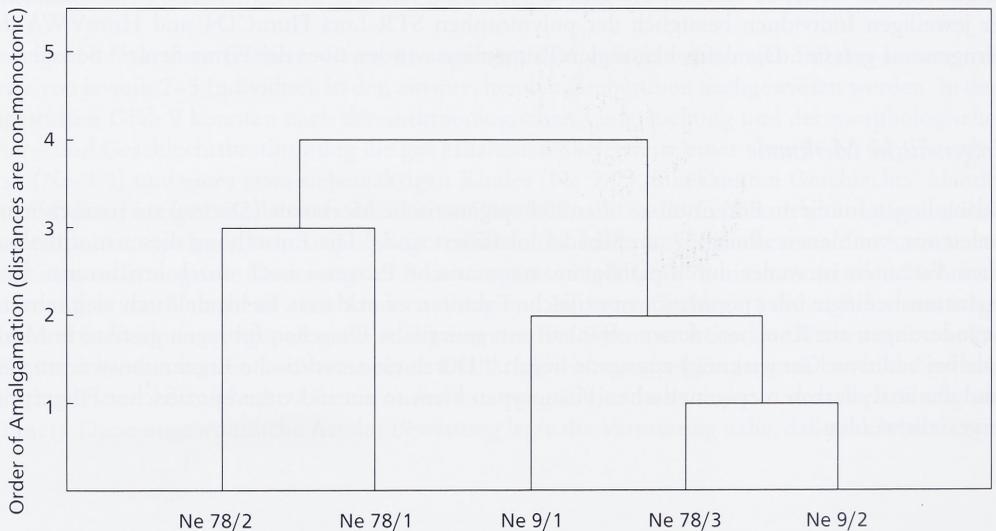


Abb. 1 Clusterdiagramm ungewichteter Paargruppierungen, gemessen in zentrierten *City Block* (*Manhattan*)-Abständen. Darstellung der Ähnlichkeiten von Datenprofilen epigenetischer Verknöcherungszentren in den *Suturæ cranii* der Individuen aus den Bestattungen Ne 9 und Ne 78. Sowohl die Diskrepanz in Distanz als auch die Gruppierung in homogenen Einheiten zeigt die Abgeschlossenheit von Grab 78 im Vergleich zu Grab 9. Die algorithmische Angleichung von Ne 78/3 und Ne 9/2 ist durch individualspezifische Informationslücken bedingt.

Durch die Anwendung bestimmter Fehlerkalkulationen war es möglich, trotz unvollständiger Alledaten der Individuen, die Neresheimer Population mit einer rezenten Referenzpopulationen zu korrelieren. Dafür wurden von beiden Individuengruppen die Allelverteilungen der informativen Loci HumCD4 und HumVWA aufgestellt (Tab. 3a und 3b). Da mit altem Knochenmaterial gearbeitet wurde, galten folgende Restriktionen: (a) es konnte nur mit einem limitierten *Pool* an Informationen gerechnet werden. (b) Die hypothetische Gesamtbevölkerung kann von ihrer Allelverteilung völlig anders ausgesehen haben als die rezente und (c) bedarf bei Einschätzung von Diversität und Kongruenz der Einführung bestimmter Fehlerkalkulationsfaktoren. (d) Fehlerkalkulationen dieser Art bedingen die Einbeziehung bestimmter Parameter in einen mathematischen Algorithmus, die von der Gesamtzahl der untersuchten Stichproben und zusätzlich von der Erscheinungshäufigkeit

STR	Ne9/1 parental	Ne9/2 filial	Ne78/1 parental	Ne78/2 parental	Ne78/3 filial
HumCD4	5-7	7-7	7-9	7-10	9-10
HumVWA	17-21			15-?	14-16

Tabelle 1 STR-spezifische Daten der Bestattungen Ne 9 und Ne 78.

Ne	<i>Ossicula coronalia</i>	<i>Ossicula sagittalia</i>	<i>Ossicula lambdoidea</i>
9/1			x
9/2			
78/1	x	x	x
78/2	x		x
78/3			

Tabelle 2 Epigenetische Skelettmerkmale des Schädels. Verteilung der (zusätzlich zur normal-ontogenetischen Knochenentwicklung vorhandenen) eigenständigen Verknöcherungszentren in den *Suturæ cranii* der Individuen aus den Bestattungen Ne 9 und Ne 78. Merkmal vorhanden wird durch 'x' angezeigt.

a)	Repeat-Anzahl pro Allel	Produkt-Größe nach PCR [bp]	Allel-Frequenz rezent	Allel-Frequenz prähistorisch
	13	134	0.47	5.88
	14	138	11.0	14.70
	15	142	9.8	8.82
	16	146	21.0	23.53
	17	150	27.0	26.47
	18	154	21.0	11.76
	19	158	7.7	2.94
	20	162	1.7	0.0
	21	166	0.16	5.88

b)	Repeat-Anzahl pro Allel	Produkt-Größe nach PCR [bp]	Allel-Frequenz rezent	Allel-Frequenz prähistorisch
	5	86	34.74	11.11
	6	91	30.53	11.11
	7	96	0.0	13.89
	8	101	0.31	8.33
	9	106	0.31	16.67
	10	111	30.69	13.89
	11	116	2.34	8.33
	12	121	0.93	8.33
	13	126	0.16	8.33

Tabelle 3 Vergleich der Allelfrequenzen in den beiden Systemen HumVWA (a) und HumCD4 (b). Sowohl rezente als auch Neresheimer Daten sind jeweils in benachbarten Spalten gelistet. Neben der Anzahl der *Repeats* korrespondierender Allele und der Größe der Amplifikate ist die Allelfrequenz sowohl für die rezente kaukasische Referenzbevölkerung als auch für die Neresheimbevölkerung dokumentiert. Basis für die Berechnungen war die Individuenanzahl *n*. HumVWA: rezent: *n* = 321, prähistorisch: *n* = 17; HumCD4: rezent: *n* = 276, prähistorisch: *n* = 18. Die Angabe der Allelfrequenzen erfolgt in Prozent.

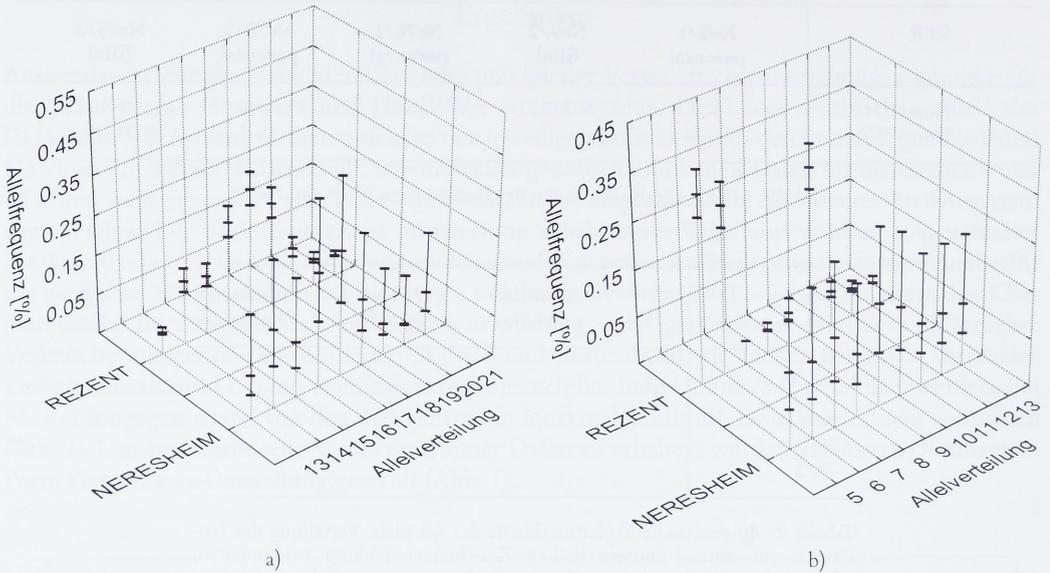


Abb. 2 D-Verteilungs-Graphen der Frequenzen HumVWA- (a) bzw. HumCD4-spezifischer Allelsets (b) und Darstellung der jeweiligen Konfidenzgrenzen. Rezente Kaukasier (nach SeracTM): distale Berechnungsserie. Neresheim: proximale Berechnungsserie. Die vertikalen Linien repräsentieren den Konfidenzbereich der Neresheimfrequenzen.

bestimmter, spezifischer Merkmalsausprägungen abhängig sind. Um dies zu bewerkstelligen, berechneten wir nach dem Algorithmus von HALD¹⁵ die mathematischen Vertrauensgrenzen für jedes Allel, das in den PCR-Systemen HumVWA und HumCD4 detektiert werden konnte. Die Vertrauensgrenzen wurden für einen Wert $\alpha = 0.1$ berechnet, was einer typischen Anwendung in biologischen Systemen entspricht. Die Zahl n wurde der Gesamtmenge an Allelen gleichgesetzt, d. h. 2 mal die Anzahl an informativen Individuen (jeder Locus ist im Kerngenom zweifach (Allele) ausgeprägt). Wie aus den Abbildungen 2a und 2b ersichtlich ist, führt die relativ kleine Anzahl an berechenbaren Individuen (17 bei HumVWA, 18 bei HumCD4) zu hohen Werten der jeweiligen Vertrauensintervalle. Abbildung 2a zeigt den Vergleich zwischen HumVWA-spezifischen Allelfrequenzen der Neresheimer Population und den Allelfrequenzen einer rezenten kaukasischen Population (SeracTM). Prägnant ist hierbei die stringente Ähnlichkeit der beiden Allelfrequenz-Entitäten, während die Vertrauensintervalle sehr viel breiter sind als die Variabilität der Frequenzen. Diese auffällige Kongruenz weist auf einen Parallelismus der zwei betrachteten „Sub“populationen hin. Abbildung 2b zeigt die Allelfrequenzen der HumCD4 Berechnungsserie. Im Gegensatz zum VWA-Vergleich sind die rezenten kaukasischen Frequenzen (SeracTM) hauptsächlich auf die Allele 5, 6 und 10 limitiert, während die Neresheimer Stichprobe eine homogene Frequenzverteilung über alle Allele hinweg zeigt. Bemerkenswert war das Auftreten einer in rezenter DNA bisher nicht charakterisierten bzw. nicht präsenten allelischen CD4-Variante 7 (Tab. 3b).¹⁶ Beide Allelverteilungen sind lokusspezifisch (HumCD4, HumVWA) und können somit nicht direkt miteinander verglichen werden.

15 A. HALD, *Statistical Theory with Engineering Applications* (London 1952).

16 C. PUSCH/M. SCHOLZ, A novel 96-bp allelic variant of the polymorphic CD4-pentanucleotide locus mapping to 12p13 retrieved from 1.500-year-old nuclear DNA of four alamannic individuals from Neresheim (Germany). *Bull. Soc. Suisse Anthr.* 4/1, 1998, 7–11; siehe hierzu: *Erratum*, ebd. 4/2, 1998, 65.

Diskussion

Der Nachweis des prähistorischen CD4-spezifischen Allels 7 anhand der Neresheimer Bestattungen Ne 9 und Ne 78 belegte, daß sich die Allelverteilung dieses Systems innerhalb der letzten 1.500 Jahre verändert haben muß. Mit den Daten anderer beprobter Individuen aus Neresheim konnten die auch rezent existenten Sequenzvarianten des polymorphen CD4-Segments eindeutig belegt werden. Daraus ließe sich schlußfolgern, daß prähistorische Verwandtschaftsnachweise mit ausgewählten, gut charakterisierten Mikrosatelliten-STSs theoretisch möglich sind. Allerdings basieren die kalkulierten Allelfrequenzen auf rezent erhobenen Daten definierter Populationen (SeracTM), die schon im Vergleich zwischen modernen (Sub-)Populationen eine umfassende Variationsbreite an Allelfrequenzen aufweisen können.¹⁷ Wie das Auftreten der aberranten 96 bp-CD4-Variante zeigte, darf keinesfalls davon ausgegangen werden, daß rezent erhobene Allelfrequenzen unkritisch auf frühere Epochen übertragen werden können.¹⁸ Um dieses Problem zu umgehen, wäre es notwendig, geschlossene prähistorische Populationen, wie sie etwa durch vorgeschichtliche Bestattungsplätze repräsentiert werden können, in ihrer Gesamtheit molekulargenetisch zu analysieren. Dabei wäre es unumgänglich, eruierte Allelformen streng chronologisch – nach den jeweiligen Belegphasen – zu klassifizieren, um ein eventuell zeitlich bedingtes Erscheinen oder Verschwinden einzelner Sequenzvarianten erfassen zu können. Die Realisierung dieser Direktiven würde zur gesicherten Aufklärung intrapopulativer Beziehungsmuster führen, gemessen an mathematisch kalkulierbaren Polymorphismen des prähistorischen menschlichen Genoms.

Wie mit Hilfe der zwei informativen PCR-Systeme festgestellt werden konnte, waren nur die Polymorphismen des Locus HumVWA unter Einbeziehung der Berechnung von Konfidenzgrenzen¹⁹ mit den heutigen Allelfrequenzen homologisierbar (Abb. 2a). Das CD4-System zeigte hingegen – selbst nach mathematischer Evaluation – eine deutliche Inkongruenz zur modernen Allelverteilung (Abb. 2b). Nach Berechnung der jeweiligen Allel-spezifischen Vertrauensintervalle war dennoch jede einzelne Variante signifikant.

Eine wichtige Restriktion muß an dieser Stelle bezüglich der geographischen und kulturellen Isolation innerhalb eines prähistorischen Nekropolen-Kontextes diskutiert werden. Selbst bei vollständiger und mehrschichtiger Beprobung eines einzelnen Gräberfeldes mit mehreren PCR-Systemen zur exakten Kalkulation ehemaliger Allelfrequenzen bliebe fraglich, inwieweit diese Häufigkeitsverteilungen auf andere, sogar zeitgleiche Bestattungsplätze übertragbar wären. Populationsgenetisch sind sowohl zeitlich oszillierende Allelfrequenzen als auch die Favorisierung seltener Allele möglich, wenn individuen schwache Populationen isoliert existieren (z. B. geographische Isolation; Abgrenzung ganzer Bevölkerungsgruppen aufgrund bestehender sozialer, kultureller oder religiöser Barrieren). Da ein derartiger Mechanismus auch im Hinblick auf frühzeitliche Sippen oder Sozialgemeinschaften anzunehmen ist, wird die treibende Kraft der Allelselektion eine randomisierte genetische Drift sein.²⁰ Eine prähistorische Frequenzverteilung von Allelen eines STR-Systems dürfte dann bei stringenter Betrachtung nur für diejenige Nekropole als reale Berechnungsgrundlage dienen, aus der diese Daten erhoben wurden.

Ein weiteres aDNA-spezifisches Manko bezieht sich auf die rein PCR-bedingte Analytik. Gemessen an der kleinfragmentarischen Existenz überlieferter aDNA ist nur ein heterozygoter Allelnachweis (z. B. X-Z) als gesichertes Ergebnis zu werten. Bei der gelelektrophoretischen Detektion nur einer einzigen Allelbande (z. B. X-X, Z-Z) besteht natürlich die prinzipielle Möglichkeit einer homozygoten Allelausprägung, wobei nachweislich nicht ausgeschlossen werden kann, daß ein nicht mehr

17 A. EDWARDS/H. A. HAMMOND/L. JIN/C. T. CASKEY/R. CHAKRABORTY, Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 12, 1992, 241–253; KUROSAKI u. a. (Anm. 1) 638 ff.

18 KUROSAKI u. a. (Anm. 1) 638 ff.

19 HALD (Anm. 15).

20 KUROSAKI u. a. 1993 (Anm. 1) 638 ff.

amplifizierbares zweites Allel einer heterozygoten Konstellation existiert (sogenannte falsch-homozygote oder *Drop Out*-Resultate). Ein derartiges Beispiel spiegelt der Genotyp eines der untersuchten Neresheimer Überreste wider. In der Bestattung Ne 9 zeigte das erwachsene Individuum Ne 9/1 eine heterozygote Ausprägung des CD4-Locus mit den Allelen 5 und 7 (Tab. 1). Bei Ne 9/2 war nur das Allel 7 gelelektrophoretisch nachzuweisen. Nachdem die Daten von Ne 9/2 mit dem gleichen Resultat in zwei unabhängigen PCR-Ansätzen reproduziert werden konnten, ist anzunehmen, daß in diesem Fall tatsächlich von einer homozygoten Allelausprägung auszugehen ist. Da sich die Resultate aus den STR-Systemen HumCD4 und HumVWA für die Bestattung 78 nicht gegenseitig bestätigten, kann unter der Annahme einer Verwandtschaft davon ausgegangen werden, daß Individuum Ne 78/2 ein falsch-homozygoten Resultat (VWA 15-15) ist. Mögliche Familien-spezifische Genotypen zur Erzeugung einer System-Deckungsgleichheit würden VWA 14-15 oder VWA 15-16 darstellen.

Um ein höheres Bewertungsniveau für die Beurteilung einer verwandtschaftlichen Stellung der beiden Individuen aus Grab 9 zueinander erzielen zu können, müssen die Daten aus archäologischer und anthropologischer Untersuchung miteinbezogen werden. Aufgrund der archäologischen Befundsituation einer ungestörten Bestattung mit Skelettresten zweier Individuen in einer Grabgrube und den anthropologisch eruierten Individualdaten von Alter und Geschlecht läßt sich in Kombination mit den eruierten Allel-daten mit hoher Wahrscheinlichkeit die Aussage vertreten, daß es sich bei der Mehrfachbestattung Ne 9 um Mutter (Ne 9/1) und Kind (Ne 9/2) handelt.

Betrachtet man die Situation von Bestattung Ne 78, so fällt zunächst dessen räumliche Entfernung zu Ne 9 auf.²¹ Das Grab wurde bereits zur damaligen Zeit beraubt. Nicht zuletzt deswegen können Aussagen über mögliche Ähnlichkeiten (z. B. Grabbau, Beigaben, etc.) zu anderen Bestattungen nicht angestellt werden. Daher ist aus archäologischer, wie auch aus anthropologischer Sicht nicht anzunehmen, daß es eine unmittelbare Verbindung zwischen diesen beiden Bestattungen gegeben hat. Die partiell erhobenen Genotypen des CD4-Locus könnten dagegen durchaus Hinweis auf potentielle Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Individuen der Bestattungen Ne 9 und Ne 78 geben. Bei Ne 9/1 und Ne 9/2 konnte, wie bei zwei der drei Individuen aus Grab 78, das Allel 7 nachgewiesen werden. Es liegt nahe, dies als gehäuft auftretende Sequenzvariante innerhalb eines Familienverbandes zu interpretieren. Unterstützt wird diese Aussage dadurch, daß bislang bei keinem anderen Individuum des Neresheimer Gräberfeldes die aberrante 96 bp-Variante belegt werden konnte. Trotzdem ist sie mit einer Frequenz von 13.89% im Gräberfeld vertreten und stellt somit das zweithäufigste Allel des polymorphen Katalogs dar. Dieses Ergebnis beruht auf der insgesamt geringen Zahl von 26 Individuen, die erfolgreich genotypisiert werden konnten. Es muß festgehalten werden, daß bei Betrachtung von lediglich zwei nuklearen Marker-Systemen (HumVWA, HumCD4) zur Verwandtschaftsfeststellung innerhalb eines prähistorischen Populationsausschnittes die Selektion nach im rezenten Vergleich seltenen Allelen wünschenswert gewesen wäre. Dies war leider bei keiner der untersuchten Mehrfachbestattungen der Fall. Die Bestattung 9 sprach die CD4-Allele 7 und 5 an, die an zweiter und dritter Stelle der rezenten Häufigkeitsskala stehen (SeracTM). Die Individuen aus Grab 78 zeigten im CD4-System mit 9, 7 und 10 ebenfalls nur die häufigeren Allele (im Vergleich die Positionen 1 und 2) und im VWA-System die Allele 16, 14, und 15, die in der Referenzpopulation die Positionen 2, 3, und 4 belegen (von 9). Diese Häufigkeitsverteilungen zeigen die Unzulänglichkeit bei Benutzung nur eines, undisziplinären Analysesystems und unterstreichen gleichzeitig die Notwendigkeit des Einsatzes mehrerer, voneinander unabhängiger Auswertungsverfahren. Zur Feststellung einer potentiellen Verwandtschaft der betreffenden Individuen bedurfte es daher einer unabhängigen, anthropologischen Verifizierung.

Die Auswertung epigenetischer Varianten oder Discreta wird bereits seit längerem in der Anthropologie genutzt.²² Epigenetische Merkmale eignen sich per se, aufgrund determinierter Vererbungsprinzipien, vor allem für populationsanalytische Betrachtungen und Vergleiche. Der Einsatz dieser

21 KNAUT (Anm. 6) 187 ff.

22 HAUSER/DE STEFANO (Anm. 13).

Datenprofile ist auch für intrapopulative, verwandtschaftsanalytische Betrachtungen im Rahmen der prähistorischen Anthropologie und der modernen, molekularen Anthropologie möglich. Eine gesamtheitliche Auswertungsstrategie ergibt, vergleichbar der morphologischen und/oder genetischen Vaterschaftsbegutachtung, in ihrer Summe Aussagen über die Wahrscheinlichkeit, mit der bestimmte Individuen untereinander genetisch verwandt oder nicht verwandt gewesen sein könnten.

Erhaltungsbedingt waren bei nur wenigen Individuen des Neresheimer Gräberfeldes solche epigenetischen Profile informativ. Allerdings konnten Merkmalsausprägungen begutachtet werden, die sich auf die während der Ontogenese zusätzlich angelegter Verknöcherungszentren innerhalb der Nahtverläufe am Schädel beziehen. Ein weiterführender Vergleich der merkmalsstragenden Individuen aus Ne 9 und Ne 78 (Tab. 2) zeigte zudem auch Ähnlichkeiten zwischen den beiden erwachsenen Individuen aus Grab Ne 78, die im Vergleich zu Mutter und Kind aus Grab Ne 9 nicht bestehen. Jedoch ist selbst mit der Einführung epigenetischer Skelettvarianten von Ne 78 und Ne 9 als zusätzliches Bewertungskriterium nur ein Verwandtschaftsgrad im Sinne einer nicht-rechnerischen, sondern kumulativen Wahrscheinlichkeit festzuhalten. Diese Daten unterstützen die molekularbiologischen Resultate und sprechen somit ebenfalls für ein Verwandtschaftsverhältnis zwischen den räumlich getrennt liegenden Bestattungen Ne 9 und Ne 78. Beim interdisziplinären Zusammenspiel archäologisch, anthropologisch und molekulargenetisch eruierten Resultate sind wir der Ansicht, einen prähistorischen Familien- oder Sippenverband mit zwei Parental- (Ne 9/1; Ne 78/1,2) und Filiargenerationen (Ne 9/2; Ne 78/3) erfaßt zu haben.

Anschrift der Verfasser

Dr. CARSTEN M. PUSCH
Labor für molekulare Genetik, Universität Tübingen,
Auf der Morgenstelle 15
D-72076 Tübingen

E-mail: carsten.pusch@uni-tuebingen.de

Dr. MICHAEL SCHOLZ
Institut für Ur- und Frühgeschichte, Abteilung Archäobiologie
Universität Tübingen
Eugenstrasse 40
D-72072 Tübingen

Osteologische Sammlung der Universität Tübingen
Wilhelmstrasse 27
D-72074 Tübingen

E-mail: michael.scholz@uni-tuebingen.de

Schlagwortverzeichnis

Verwandtschaftstypisierung; ancient DNA; epigenetische Merkmale; Kern-DNA; STR-System; interdisziplinäre Kombinationsanalyse.