

Der Mensch und sein Genom

III. Hinweise auf seine Abstammung?

Das Genom des Menschen kann aufgrund der verfügbaren, sehr leistungsfähigen Technologien gegenwärtig aus vielen Proben von Menschen aus unterschiedlichsten Lebensräumen und Kulturen analysiert werden. Auch aus einigen Fossilien von Menschenartigen (Homininen) liegen Informationen zu deren Erbgut vor. Wie zuverlässig und vertrauenswürdig sind diese Daten? Welches Bild von der Geschichte der Menschen ergibt sich daraus, wenn man diese fossilen Daten mit denjenigen von verschiedenen Bevölkerungsgruppen heutiger Menschen vergleicht?

Harald Binder

Das menschliche Genom – ein kurzer Rückblick

Nach intensiven Bemühungen und hitzigen Auseinandersetzungen – die auch politischer Natur waren – informierten Craig VENTER und Francis COLLINS im Beisein des damaligen amerikani-

schen Präsidenten Bill CLINTON am 26. Juni 2000 die Weltöffentlichkeit darüber, dass ihre Teams einen ersten Entwurf des menschlichen Erbguts (Genom) erstellt hätten. Im Februar des darauffolgenden Jahres wurden die entsprechenden wissenschaftlichen Arbeiten in zwei speziellen Ausgaben von *Nature* und *Science* veröffentlicht und umfangreich diskutiert. In den Folgejahren

wurden die Sequenzdaten des Humangenoms weiter abgesichert und dokumentiert. Offiziell gilt das menschliche Erbgut seit April 2003 als vollständig entschlüsselt. Das 1990 unter der Leitung von James WATSON begonnene Projekt zur Sequenzierung des menschlichen Genoms (Human Genome Project; HGP) wurde durch die Arbeiten der Human Genome Organisation (HUGO) – einem international koordinierten Forschungsverbund und der von Craig VENTER gegründeten Firma Celera Genomics – 2003 abgeschlossen. Der erzielte Kenntnisstand wurde durch das International Human Genome Sequencing Consortium im Oktober 2004 in *Nature* veröffentlicht (IHGSC 2004). Das Autorenkollektiv beschreibt eine DNA-Sequenz, die 2,85 Milliarden Nukleotide umfasst und von 341 Lücken unterbrochen wird. Die angegebene Zuverlässigkeit beträgt 1 Fehler pro 100 000 Nukleotide (Bausteine von Nukleinsäurepolymeren). In der Veröffentlichung wird als bemerkenswert festgestellt, dass das menschliche Genom anscheinend nur 20 000 bis 25 000 proteincodierende Gene enthält. Nach Abschluss des HGP wird das Humangenom in vielen verschiedenen Folgeprojekten weiter erforscht, von denen das bekannteste wohl das ENCODE-Projekt (**ENC**yclopedia **OF** **DNA** **E**lements) ist.

Das menschliche Genom – was wissen wir?

Das menschliche Erbgut als DNA-Makromolekül – ein Polynukleotid – ist auf 23 Chromosomen verteilt und umfasst etwa 3,2 Milliarden Basenpaare. Davon ist die Abfolge, also die Sequenz von ca. 2,9 Milliarden bekannt. Mit den derzeit verfügbaren Methoden kann nicht die komplette Sequenz ermittelt werden, v. a. weil diese ausgedehnte Bereiche mit repetitiven Sequenzen aufweist, d. h. Abschnitte, in denen sich nur zwei Nukleotide abwechseln. Die Fachleute gehen davon aus, dass die bekannte Sequenz des Humangenoms bei allen Menschen zu mehr als 99,9% identisch ist.

Die Kenntnis der Genomsequenz ist jedoch erst der *Einstieg* in ein Verständnis des Genoms, seiner Funktion und seiner Bedeutung für den Organismus. Lebewesen nutzen ihr Genom; dessen Bedeutung für den jeweiligen Organismus ist noch wenig verstanden und hat z. B. zu Beginn der menschlichen Embryonalentwicklung wenig Einfluss.

Zunächst war die vergleichsweise geringe Zahl von 20 000 bis 25 000 proteincodierenden Genen überraschend. Um diese Zahl an Genen zu codieren, reichen weniger als 3% der DNA im menschlichen Genom aus. Einige Autoren

Kompakt

Optimierte Protokolle zur Isolierung von DNA aus fossilen Proben sowie sehr leistungsfähige und hochautomatisierte Technologien zur Sequenzierung der DNA haben Informationen zum Erbgut einiger fossiler Menschenartigen (Homininen) zugänglich gemacht. Um aus den fossilen Proben DNA-Sequenzen zu erhalten, die maßgeblich vom fossilisierten Organismus stammen (endogene DNA), sind Vorinformationen und die Anwendung verschiedenster Filterfunktionen notwendig. Typischerweise ist der Anteil endogenen Erbguts in den Fossilien sehr gering. In die Überlegungen zur Bestimmung des endogenen Anteils fließen Vorstellungen über möglicherweise abgelaufene Prozesse ein; diese machen die entsprechenden DNA-Sequenzen zu Daten, die von den Modellen nicht unabhängig sind. Durch Vergleich der fossilen homininen Genomdaten mit denjenigen aus verschiedenen Vertretern heutiger Bevölkerungsgruppen versuchen verschiedene Arbeitsgruppen Fragen zur Abstammungsgeschichte des Menschen zu beantworten. Aufgrund der bisher sehr begrenzten Zahl an fossilen homininen Genomen lässt sich deren Variationsbreite bisher nicht abschätzen. Bereits jetzt deutet sich aber an, dass die Genomdaten die diskutierten Stammbäume nicht besser als die auf morphologischen Vergleichen beruhenden Stammbäume auflösen. Vielmehr werden wie bei den anhand von Skelettmerkmalen vorgenommenen phylogenetischen Untersuchungen vernetzte Verbindungen zwischen den verschiedenen Homininen gefunden. Dies entspricht Erwartungen des Grundtypmodells.

hatten einem großen Teil der DNA zunächst keine Funktion und damit auch keine Bedeutung zugewiesen und dafür den Begriff „junk DNA“ geprägt. Damit brachten sie zum Ausdruck, dass es sich aus ihrer Sicht dabei um „Gerümpel“, um „altes Zeug“, also um unbrauchbar gewordenen Abfall aus der Vergangenheit handelt. Diese Einschätzung wurde und wird durch weitere Forschung stark herausgefordert und in Frage gestellt. Denn es hat sich wiederholt gezeigt, dass die Behauptung von Funktions- und Bedeutungslosigkeit von Strukturen und Organen bei Lebewesen nicht aufrecht zu erhalten war. Man ist in der naturwissenschaftlichen Forschung gut beraten, sich mit Äußerungen dieser Art zurückzuhalten und mit allen verfügbaren Mitteln ausdauernd nach Funktionen zu suchen, bis man diese nachweisen kann.

Einige Abschnitte des Genoms sind durch repetitive Basen charakterisiert, d. h. nur zwei verschiedene Basen oder kurze Motive daraus wechseln sich in unbestimmter Anzahl ab. Derartige Bereiche sind mit heute verfügbaren Methoden nicht zuverlässig zu sequenzieren, d. h. ihre Ausdehnung kann man nicht exakt angeben. Dies bedeutet, dass bisher noch kein Humangenom wirklich vollständig sequenziert ist. Die Aussage, dass das menschliche Genom entschlüsselt sei, stellt eine ungenaue Verkürzung dar.

Die bisherigen Veröffentlichungen im Zusammenhang mit dem ENCODE-Projekt belegen Hinweise auf Funktionen für mehr als 80% des Genoms (The ENCODE Project Consortium 2012). Auch wenn die Interpretationen aus dem ENCODE-Projekt kritisch kommentiert wurden (GAUR et al. 2013, DOOLITTLE 2013) – insbesondere der verwendete Funktionsbegriff – ist in den bisher erschienenen Publikationen

dokumentiert, dass in unterschiedlichen Zellen insgesamt ein sehr großer Teil des menschlichen Erbguts genutzt wird.

Die hier unvollständig genannten Erkenntnisse der jüngeren Zeit verdeutlichen unser derzeit sehr begrenztes Verständnis der Funktion des menschlichen Genoms. Dem gegenüber stehen sehr leistungsfähige und weitgehend automatisierte Methoden zur Sequenzierung von DNA und ein unübersehbar großes und extrem wachsendes Arsenal an Handwerkszeug der Bioinformatik. Diese Konstellation ermöglicht vielfältige und umfangreiche Untersuchungen in den enorm großen Sequenz-Datenbanken. Dies kann jedoch nicht darüber hinwegtäuschen, dass – wie erwähnt – unser Verständnis der Funktion des Genoms derzeit noch sehr begrenzt ist.

Unsere derzeitige Erkenntnis über das Genom von Lebewesen führt zu einer sehr dynamischen Vorstellung des Erbguts. Im Nukleus (Zellkern) wird das Chromatin (das gesamte Material der Chromosomen) laufend modifiziert und zwar sowohl die Histonproteine, mit deren Hilfe die DNA in den Chromosomen verpackt ist, als auch die DNA-Bausteine selbst. Die klassische Vorstellung, dass in jeder Zelle unseres Körpers dasselbe Erbgut als Kopie vorliegt, lässt sich bei genauer Betrachtung nicht mehr aufrecht erhalten. In den Körperzellen liegt das Erbgut mit der DNA aus der Zygote je nach Gewebetyp und Entwicklungszustand mit spezifischen Modifikationen versehen vor. Diese Modifikationen werden in dem hochdynamischen Forschungsfeld der Epigenetik untersucht.

DNA-Sequenzen aus Fossilien

Vor etwa 30 Jahren veröffentlichten HIGUCHI et al. (1984) erstmals DNA-Sequenzen von einem

Quagga (*Equus quagga quagga*), einer ausgestorbenen Unterart des Steppenzebras. Die Probe, aus der DNA-Fragmente isoliert werden konnten, stammt aus Muskelgewebe eines präparierten Museumsexemplars. Kurze Zeit später erschien eine Arbeit, in der die Sequenz eines etwa 3400 Basen umfassenden DNA-Stücks aus einer Jahrtausende alten ägyptischen Mumie (ca. 2600 v.Chr.) beschrieben wurde (PÄÄBO 1985). Nach den zwischenzeitlich gesammelten Erfahrungen gehen heute die meisten Fachleute jedoch davon aus, dass es sich bei dieser DNA um Nukleinsäurefragmente von modernen Menschen handelt, mit der die Probe kontaminiert war (HOFREITER 2009). Die Analyse von DNA aus Fossilien weist nach diesem Beginn eine wechselvolle Geschichte auf. Zunächst wurden in einer Art „Goldgräberstimmung“ alle möglichen Fossilien auf erhaltene DNA untersucht und im Wettbewerb wurde die älteste Nukleinsäure gesucht. Dabei erleichterte die Entwicklung der Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction; PCR) die Aufbereitung auch kleinster Spuren von genetischem Material für die Analysen (SAKAI et al. 1985). Erst nach spektakulären Veröffentlichungen über Analysen von genetischem Material sehr alter Fossilien wurden kritische Stimmen bezüglich der begrenzten Langzeitstabilität von Polynukleotiden (LINDAHL 1993) stärker berücksichtigt und sorgfältigere Vorsichtsmaßnahmen und umfangreichere Kontrollexperimente etabliert. Auch gerade die PCR entpuppte sich als potente Fehlerquelle, die zu vielen falschen, scheinbar positiven Resultaten führte wie z.B. der DNA-Sequenz aus einem fossilisierten kreidezeitlichen Dinosaurierknochen (WOODWARD et al. 1994), die bei Kontrollexperimenten als DNA menschlichen Ursprungs identifiziert wurde (ZISCHLER et al. 1995).

Abb. 1 Geographische Lage der wichtigsten im Text angesprochenen Fundstellen von homininen Fossilien. Neandertal (bei Düsseldorf; Fundstelle des Neandertaler-Typusexemplars), Vindija-Höhle in Kroatien, Denisova-Höhle im Altai Gebirge (Sibirien, Russland), Sima de los Huesos, Höhle in Sierra de Atapuerca (Nordwest Spanien), Dmanissi in Süd-Georgien



Nach wie vor können die derzeit behaupteten hohen Alter fossiler DNA nicht durch die im Labor gewonnenen Erfahrungen zur chemischen Stabilität von DNA-Makromolekülen erklärt werden.

Die Erhaltung des genetischen Materials in Fossilien ist von verschiedenen äußeren Bedingungen abhängig. Nach wie vor können die derzeit behaupteten hohen Alter fossiler DNA (ALLENTOFT et al. 2012) nicht durch die im Labor gewonnenen Erfahrungen zur chemischen Stabilität von DNA-Makromolekülen erklärt werden. Unter Kälte und trockenen Bedingungen, z. B. bei Permafrost, ist die Erhaltung von genetischem Material über einen längeren Zeitraum wahrscheinlicher als unter warmen und feuchten. Dennoch ist derzeit kein Mechanismus bekannt, der erklären würde, warum DNA in sehr alten Fossilien erhalten bleiben, isoliert und sequenziert werden kann und nicht wie im Labor schnell abgebaut wird. Die DNA aus Fossilien ist zudem dadurch charakterisiert, dass sie im Vergleich zu DNA aus frischen Proben nur sehr kleine Fragmente mit 100 oder noch weniger Basenpaaren aufweist, die dazu auch noch chemisch modifiziert sein können. Besonderheiten dieser Art erschweren die Gewinnung von DNA-Sequenzdaten, d. h. es müssen verschiedene Prozesse vor der eigentlichen Sequenzierung ausgeführt werden. DNA aus frischen Proben kann dagegen sehr lang sein (10 000 Basenpaare und mehr) und muss für die Sequenzierung in kleinere Fragmente aufgeteilt werden (Schrottschussverfahren; shotgun sequencing).

DNA aus dem Zellkern oder aus Mitochondrien

Genetische Information tragende Polynukleotide finden sich nicht nur im Zellkern, sondern auch in den Mitochondrien. Die DNA in Mitochondrien ist deutlich weniger umfangreich als diejenige im Kern. Beim Menschen umfasst die mitochondriale DNA (mtDNA) etwa 16 000 Basenpaare, während diejenige im Nukleus wie oben erwähnt aus ca. 3,2 Milliarden aufgebaut ist. Man geht davon aus, dass Mitochondrien ausschließlich maternal, also über die mütterliche Linie an die nächste Generation weitergegeben werden. Die Spermien enthalten im Vergleich zu den Eizellen (Oocyten) sehr viel weniger Mitochondrien und diese werden typischerweise nach der Befruchtung in der Zygote abgebaut. Von der mtDNA können in einer Zelle tausende Kopien vorliegen, während es pro Zelle nur zwei

Kopien von der Kern-DNA gibt. Daher ist es viel günstiger und einfacher, mtDNA zu isolieren und zu sequenzieren als nukleare DNA.

Wenn überhaupt DNA in Fossilien gefunden werden kann, dann ist die Aussicht, mtDNA zu finden viel größer. In vielen Studien zu fossiler DNA wurde und wird daher zunächst mtDNA untersucht und die gefundenen Sequenzen werden dann für vergleichende Analysen und phylogenetische Studien herangezogen.

DNA-Sequenzen aus Homininen-Fossilien

Neandertaler

Aus dem Oberarmknochen (Humerus) des 1856 im Neandertal geborgenen Typusexemplars wurde im Rahmen eines interdisziplinären Projekts des Rheinischen Landesmuseums Bonn eine Probe (3,5 g) für DNA-Untersuchungen entnommen (KRINGS et al. 1997). Ein internationales Forscherteam unter der Leitung von Svante PÄÄBO¹ isolierte und sequenzierte gezielt einen bestimmten Abschnitt der mtDNA². Diese mtDNA konnte in verschiedenen Fragmenten kloniert, sequenziert und auf der Basis der bekannten Nukleotid-Abfolge beim modernen Menschen zusammengefügt (Alignment) werden. Wie bereits KING & WILSON (1975) die damals bekannten molekularbiologischen Erkenntnisse zu einem Aufsehen erregenden Vergleich zwischen Mensch und Schimpansen nutzten, verwenden KRINGS et al. die gewonnenen Daten unmittelbar zu Statements zum Ursprung des modernen Menschen. Die Autoren kommen dabei zu dem Schluss, dass die mtDNA des Neandertalers die Vorstellung unterstützt, nach der der moderne Mensch (*Homo sapiens*) vergleichsweise spät in Afrika als eigene Art entstanden sei und die Neandertaler verdrängt habe, ohne mit ihnen Fortpflanzungsgemeinschaft (oder nur in sehr geringem Ausmaß) gehabt zu haben.

Diese Studie stand von Beginn an im Zusammenhang eines umfassenden Projekts zur Sequenzierung des gesamten Genoms von Neandertalern. In den nachfolgenden Jahren wurden weitere Teile des mitochondrialen Neandertalergenoms veröffentlicht. Die komplette mtDNA-Sequenz von Neandertalern konnte aus Fossilien, die in der Vindija-Höhle (Kroatien; Abb. 2) gefunden worden waren, mit modernsten Sequenzierungsmethoden (Next Generation Sequencing) ermittelt werden (GREEN et al. 2008). Die Interpretation der Sequenzdaten aus den auf 38 000 Jahre datierten Fossilien bestätigte und vertiefte die bis dahin gewonnenen Erkenntnisse. Die mtDNA-Sequenz aus Neanderta-

ler-Fossilien fällt aus dem Variationsbereich von 54 modernen Menschen heraus und das fossile mitochondriale Genom wurde – wenn man entsprechende molekulare Uhren zugrunde legt – vor ca. 660 000 Jahren von dem des heutigen *Homo sapiens* entwicklungsmäßig getrennt. Die genannten Interpretationen sind nur begrenzt belastbar, da für die vergleichenden Untersuchungen neben 54 modernen mtDNA-Daten nur eine fossile Sequenz verfügbar war. Die entwicklungsgeschichtliche Aufspaltung von Neandertaler und modernem Menschen ergibt sich nicht direkt aus den Sequenzdaten, sondern nur bei zugrunde gelegten Modellen, die ihrerseits wieder auf Vorstellungen beruhen, die letztlich auf morphologischen Vergleichen von Fossilien und deren Interpretation gründen. Die Altersangaben basieren also auf entsprechenden Modellvorstellungen und sind nicht absolut zu verstehen.

Ein hoher logistischer und experimenteller Aufwand muss betrieben werden, um fossile DNA sequenzieren und von Kontaminationen unterscheiden zu können.

GREEN et al. (2010) veröffentlichten den Entwurf des Neandertaler-Genoms. Die Daten (mehr als 4 Milliarden Nukleotide) stammen aus Fossilien von 3 verschiedenen Individuen aus der Vindija-Höhle in Kroatien. Die Fossilien, die aus unterschiedlichen Schichten geborgen worden waren, waren radiometrisch (nicht kalibriert) auf $38\,310 \pm 2130$ bzw. $44\,450 \pm 550$ Jahre vor heute datiert worden. Ein enormer logistischer

und experimenteller Aufwand muss betrieben werden, um die fossile DNA sequenzieren zu können und die Daten so aufzubereiten, dass plausibel gemacht werden kann, dass es sich um endogene Genomdaten handelt, also solche, die zu den fossilen Überresten gehören und nicht zu irgendwelchen Kontaminationen. Die Zuverlässigkeit der DNA-Sequenz dieses Entwurfs ist begrenzt, da sie insgesamt nur 1,3-fach sequenziert wurde, d. h. die verschiedenen DNA-Fragmente wurden durchschnittlich 1,3 mal gelesen (die Zuverlässigkeit der erhaltenen Datensätze ist damit nicht besonders hoch). Nach Überzeugung der Autoren haben die Sequenzdaten gezeigt, dass das Erbgut von Homininen (Menschenartigen), die im späten Pleistozän ausgestorben sind, zuverlässig wiederhergestellt werden kann. Die Sequenzdaten des Neandertalergenoms wurden sogleich mit den Genomen von fünf heute lebenden Menschen aus verschiedenen Erdteilen vergleichend untersucht. Die bisher vorliegenden Ergebnisse von mtDNA-Sequenzen waren hinsichtlich der Abstammungsverhältnisse zwischen Neandertaler und modernem Menschen so interpretiert worden, dass sich im Genom moderner Menschen sehr wenige bis keine Spuren von Neandertaler-Erbgut finden. GREEN et al. interpretieren die von ihnen vorgelegten Genomdaten in phylogenetischer Hinsicht so, dass sich Beiträge des Neandertalergenoms in heutigen Menschen außerhalb von Afrika wiederfinden. Deutlich weniger als 10% im Genom von modernen Menschen, die nicht aus Afrika stammen, könnte von Neandertalern ererbt sein.

Eine umfangreiche Autorengruppe veröffentlichte 2013 (online) die komplette Genomsequenz einer Neandertalerfrau, von der ein fossiler

Abb. 2 Blick aus der Vindija-Höhle im Norden Kroatiens. Aus dieser Höhle stammen Fragmente von Neandertalerfossilien, die bei der Gewinnung des Genoms von Neandertalern eine bedeutende Rolle gespielt haben. (Wikipedia, Foto: Tomislav KRANJČIĆ, Creative Commons Attribution-Share Alike 2.0 Generic license)



Zehenknochen 2010 in der Denisova-Höhle im Altai-Gebirge Georgiens gefunden worden war (PRÜFER 2014). Das Fossilfragment war radiometrisch auf $50\,300 \pm 2\,200$ Jahre datiert worden. Das Genom konnte in einer hohen Qualität sequenziert werden (high-quality genome sequence; die einzelnen Genomfragmente waren durchschnittlich 52 mal sequenziert worden). In der genannten Arbeit wurde außerdem noch das Genom eines Neandertalerkindes (Altersangaben: 60 000 bis 70 000 radiometrische Jahre) aus der Mezmaiskaya-Höhle im Kaukasus mit einer geringen Zuverlässigkeit bestimmt (Fragmente durchschnittlich etwa 0,5 mal sequenziert). Das hier bestimmte Neandertalergenom weist im Vergleich zum modernen Humangenom 96 Veränderungen auf in Bereichen, die für Proteine codieren, und etwa weitere 35 000 in sogenannten nicht-codierenden Abschnitten. Die Untersuchung des Erbguts der Neandertalerfrau ergab, dass deren Eltern sehr nahe miteinander verwandt gewesen sind (Halbgeschwister). Fortpflanzungsgemeinschaft zwischen sehr nahen Verwandten scheint unter ihren Vorfahren üblich gewesen zu sein. Die vergleichende Analyse mit dem Erbgut von 25 heute lebenden Menschen interpretieren die Autoren so, dass es mehrere Ereignisse gab, bei denen zwischen Neandertalern, Denisova-Menschen (s. u.) und modernen Menschen Erbgut ausgetauscht wurde. Die zuverlässig bestimmte Genomsequenz dieser Neandertalerfrau erlaubte es den Autoren, eine Liste mit genetischen Veränderungen aufzustellen, die seit der Trennung von Neandertalern und Denisova-Mensch im Erbgut des modernen Menschen fixiert worden sind.

Inzwischen liegt eine Reihe von Publikationen vor, die über die gezielte Suche nach Genvarianten von Neandertalern im Erbgut moderner Menschen berichten. So haben SANKARARAMAN et al. (2014) 1004 Genome aus dem 1000-Genom-Projekt (eines der Nachfolgeprojekte des abgeschlossenen HGP; The 1000 Genomes Project Consortium 2012) nach Genvarianten durchsucht, die von Neandertalern ererbt worden sein könnten. Die Autoren fanden, dass Gene, die in den Hoden im Vergleich zu anderen Geweben auffällig häufiger exprimiert (abgelesen und damit genutzt) werden, besonders wenige Genvarianten von Neandertalern enthalten, und auch in den X-Chromosomen finden sich davon deutlich weniger. Aus diesem Befund schließen die Autoren, dass die Genvarianten von Neandertalern zu reduzierter Fruchtbarkeit bei Männern führen könnten, wenn sie auf Menschen mit modernem Humangenom stoßen. Überhaupt lassen die Genomdaten von Neandertalern und modernen Menschen erahnen, dass dort, wo es zur Fortpflanzungsgemeinschaft zwischen ihnen kommt, genetisch bedingte gesundheitli-

che Probleme vorprogrammiert sind (GIBBONS 2014). VERNOT & AKEY (2014) untersuchten, ausgehend von 1 bis 3% Neandertalergenom im Erbgut moderner nicht aus Afrika stammender Menschen, DNA-Sequenzen mit Neandertalermerkmalen in Genomen von 379 Europäern und 286 Ostasiaten. Dabei fanden sie insgesamt 15 Milliarden Basen, die ungefähr 20% des Neandertaler-Genoms umfassen. Im Erbgut einzelner moderner nichtafrikanischer Menschen finden sich zwar jeweils nur wenige Abschnitte, die dem Neandertalergenom gleichen, insgesamt sind darin aber ca. 20% des Neandertaler-Genoms enthalten. Die Autoren sind davon überzeugt, einen Weg für paläogenomische Studien gefunden zu haben, der es ermöglicht, Informationen über DNA-Sequenzen auf Populationsebene von ausgestorbenen Gruppen zu erhalten, selbst wenn von diesen keine fossilen Überreste vorliegen. Mit populationsgenetischen Modellen kann man diese Informationen aus bekannten fossilen Genomdaten durch Vergleich derselben mit dem Erbgut verschiedener heute lebender Menschen ermitteln. Inwiefern die dann gerechneten Modelle wirkliche Prozesse beschreiben, ist Gegenstand von Diskussionen.

Denisova-Mensch

Im Jahr 2008 war in der Denisova-Höhle (s. o.) ein fossiles Fingerknöchelchen (Phalanx) in einer Schicht gefunden worden, die auf 30 000 bis 50 000 Jahre (mittleres bis oberes Paläolithikum) radiometrisch datiert worden war (Abb. 3). Der Fingerknochen stammt von einem Kind und wurde aufgrund morphologischer Kriterien von in derselben Höhle gefundenen Neandertalern abgegrenzt. Denisova-Menschen können bisher aufgrund des genannten Fossils von einer kindlichen Phalanx beschrieben werden sowie anhand von zwei Backenzähnen (Molares), die erwachsenen, angesichts von mtDNA-Daten aber anderen Individuen von Denisova-Menschen zugerechnet werden. REICH et al. (2010) legten einen ersten Entwurf vor für das Genom des Denisova-Menschen aus einer Probe des Fingerknochens (die DNA-Fragmente waren durchschnittlich 1,9 mal sequenziert worden). Dieselbe Publikation enthält auch erste Ergebnisse einer genetischen Untersuchung eines Backenzahns. Die Autoren beschreiben Denisova-Menschen auf der Basis ihres Genoms als eigene Gruppe, die sich sowohl von Neandertalern als auch von modernen Menschen unterscheiden. Aufgrund von vergleichenden Genomuntersuchungen gehen REICH et al. davon aus, dass diese Menschengruppe nichts zum Genfluss von Neandertalern zu modernen Eurasiern beigetragen hat, dass sich jedoch etwa 4–6% ihres Genoms in heutigen

Abb. 3 Fossiles Fingerknöchelchen (Phalanx) des Denisova-Menschen. Aus diesem Fossil konnte DNA isoliert werden, die einen erstaunlich hohen Anteil (ca. 70%) aufwies, der zum ursprünglichen Lebewesen gehört. Von Denisova-Menschen sind bisher nur diese Phalanx und zwei Backenzähne bekannt. Sein Erbgut kennen wir dagegen weitgehend. (Foto: Max-Planck-Institut für Evolutionäre Anthropologie; Abdruck mit freundlicher Genehmigung)



Menschen in Südostasien und Ozeanien wiederfindet. Dies wurde durch Genomvergleiche mit dem Erbgut moderner Menschen aus diesen Erdteilen errechnet. Denisova-Menschen und Neandertaler werden als Geschwistergruppen betrachtet, d. h. in einer phylogenetischen Analyse von entsprechenden Genomdaten gruppieren diese beiden zusammen und stehen dem modernen Menschen (*H. sapiens*) in einem entsprechenden Stammbaum gegenüber. In einer nachfolgenden Arbeit liefern MEYER et al. (2012) zuverlässigere Genomdaten (DNA-Fragmente wurden durchschnittlich ca. 30 x sequenziert). In dieser Studie wurden gleichzeitig die Genome von 11 heute lebenden Individuen analysiert. Die Autoren stellen eine Reihe vergleichender Genomstudien vor und diskutieren z. B. die auffällig geringe Verschiedenartigkeit des Denisova-Genoms sowie dessen Unterschiede zum Erbgut moderner Menschen. Die Ergebnisse sind darin begrenzt, dass zwar viele moderne Genome in den Vergleich eingehen, die ein bestimmtes Spektrum abdecken, aus homininen Fossilien jedoch nur das Genom eines einzigen Individuums bekannt ist. Diese Unsicherheit sprechen auch COOPER & STRINGER (2013) an, wenn sie in einer Studie zu Verbreitung und Einfluss des Genoms von Denisova-Menschen feststellen, dass „angesichts der Unsicherheit der molekularen Daten“ die Unterschiede im Genom verträglich sein könnten mit einem unlängst (von STRINGER et al. 2012) vorgestellten Modell. Dieses geht davon aus, dass moderne Menschen, Neandertaler und Denisova-Menschen eine dreigeteilte Verästelung (Trichotomie) darstellen, die aus der weit verbreiteten mittelpleistozänen Art *Homo heidelbergensis* vor ungefähr 400 000 radiometrischen Jahren hervorgegangen ist. PENNISI (2013) berichtet von einer Tagung und zitiert einen

spanischen Forscher, dass mit all den genetischen Vermischungen die verschiedenen Menschengruppen eher einem Netzwerk als einem Baum gleichen. Selbst PÄÄBO sei sehr zurückhaltend darin, die Denisova-Menschen als eigene Art zu bezeichnen, und das Bild scheint mit jedem neuen Genom zusätzlich komplizierter zu werden. Es könnte sich ähnlich wie bei morphologischen Vergleichsstudien bei homininen Fossilien tendenziell ein netzwerkartiges Bild ergeben, das in einem Grundtypmodell gut zu erklären und auch zu erwarten wäre.

Hominine Fossilien aus Sima de los Huesos, Spanien

Die bisher ältesten Genomdaten aus homininen Fossilien wurden aus einem fossilen Oberschenkelknochen (Femur) gewonnen, der in einer bereits bekannten Höhle Sima de los Huesos in Nordspanien geborgen worden war (CALLAWAY 2013; vgl. Abb. 4). Dieser Femur und Überreste von insgesamt mehr als 28 Individuen aus der Höhle waren entweder frühen Neandertalern, *H. heidelbergensis* (einer nur unscharf charakterisierten Homininengruppe, aus der die Neandertaler hervorgegangen sein sollen) oder Menschen afrikanischen Ursprungs zugeordnet worden. Die von MEYER et al. (2013) veröffentlichten mtDNA-Sequenzen wiesen entgegen aller Erwartungen eine größere Ähnlichkeit mit denjenigen des Denisova-Menschen auf als mit denen des Neandertalers. MEYER et al. machen zum Alter des fossilen Femurs die Angabe ~ 400 000 Jahre. Die Autoren äußern die Hoffnung, dass sich mit den Sequenzdaten des gesamten Erbguts aus den Fossilien von Sima de los Huesos die Frage der Ähnlichkeit dieser Homininen zu



Abb. 4 Aufnahme von einer Grabungskampagne (2008) in der Gran Dolina, einem Höhlensystem in der Sierra de Atapuerca (Gebirgszug in der Provinz Burgos, im Nordwesten Spaniens). Zu diesem Höhlensystem gehört auch die im Text erwähnte Fundstelle Sierra de los Huesos. (Wikipedia, Foto: Mario Medesto MARA; GNU Freie Dokumentations-Lizenz)

Neandertalern bzw. Denisova-Menschen klären könnte. Diese Klärung scheint allerdings mit den derzeit verfügbaren Methoden nicht ohne weiteres erreichbar zu sein, da für die publizierten Daten für die mtDNA-Sequenz eine Probe von 2 g eingesetzt werden musste.

Weitere fossile Genomdaten von Homininen

In jüngster Zeit wurden von einem internationalen Team unter Leitung von Eske WILLERSLEV verschiedene fossile hominine Genomsequenzen ermittelt. Den Entwurf für die Genomsequenz eines auf ca. 24 000 Jahre, Oberes Paläolithikum, datierten Fossils eines anatomisch modernen Menschen, das in Mal'ta im Süden Sibiriens gefunden worden war, beschreiben RAGHAVAN et al. (2014). Das fossile Genom eines Angehörigen der Clovis-Kultur aus West Montana, USA (datiert auf ca. 12 707 bis 12 556 Jahre vor heute; spätes Pleistozän) veröffentlichten RASMUSSEN et al. (2014). Die Autoren diskutieren an diesen beiden Genomen die Besiedlungsgeschichte von Nordamerika aus Sibirien über Beringia und dann vorwiegend entlang der Westküste von Kanada und den USA in den Süden.

OLALDE et al. (2014) diskutieren mögliche Aspekte des Übergangs von Jäger- und Sammler-Kulturen zu landwirtschaftlichen Lebensformen. Sie tun dies anhand des fossilen Genoms eines ca. 7 000 Jahre alten mesolithischen Europäers, dessen Fossilien in La Brana-Arintero bei Leon in Spanien geborgen worden waren. Die

Autoren beschreiben Hinweise darauf, dass dieser Jäger und Sammler im Mesolithikum bereits Genvarianten aufweist, die im Zusammenhang mit Resistenz gegenüber Krankheitskeimen stehen.

Methodische Perspektiven

Typischerweise finden sich in den Fossilien, deren Genomdaten hier vorgestellt und diskutiert werden, ca. 1% endogene DNA, also genetisches Material, das mit hoher Wahrscheinlichkeit vom ursprünglichen Lebewesen stammt (und als endogen bezeichnet wird). Das bedeutet, dass der hauptsächliche Bestandteil an Nukleinsäuren als Kontamination mit dem Fossil in Kontakt gekommen ist. Die Kontamination kann unter den Lagerungsbedingungen vor dem Auffinden oder aber auch während der Bergung und Aufbereitung der Fossilien geschehen. Dabei handelt es sich um genetisches Material aus Mikroorganismen, Pilzen und weiteren Organismen, die am Abbau der Kadaver beteiligt waren oder eben von Menschen, die mit den Fossilien in Berührung gekommen sind. Der letztgenannte Aspekt ist vor allem für das Studium von fossilen homininen Genomen problematisch, da die DNA-Sequenzen sehr ähnlich sind.

Eine Ausnahme bei den hier besprochenen Fossilien stellt das Fingerglied des Denisova-Menschen dar, in dem nach bisherigen Erkenntnissen ca. 70% der isolierten DNA endogen sein soll. Dieser untypische Befund ist nur schwer zu erklären.

Um noch mehr fossile Genome für Untersuchungen zugänglich zu machen, müssen neue Protokolle für die Isolierung und Aufarbeitung von genetischem Material aus Fossilien entwickelt werden. In welche Richtung das beispielsweise gehen könnte, haben CARPENTER et al. (2013) beschrieben.

Was die Sequenzierungsmethode betrifft, so rückt die Einführung einer Methode näher, bei der ein Einzelstrang einer DNA-Doppelhelix durch die enge Pore eines porenbildenden Proteins geführt wird. Diese genetisch modifizierte Variante eines natürlichen Porenproteins ist in eine synthetische Membran integriert. Wenn die unterschiedlichen Basen die Engstelle passieren, kann durch die Messanordnung jeweils ein spezifisches elektrisches Potential abgeleitet werden. Diese sogenannte Nanopore-Technologie wird in vielen Laboratorien erforscht und entwickelt. PENNISI (2014) berichtet von den Ankündigungen einiger Firmen anlässlich einer Konferenz in Florida. Mit dieser Methode könnten im Prinzip die derzeit nicht sequenzierbaren Genomabschnitte, die ausgedehnte repetitive Bereiche aufweisen, analysiert werden.

Diskussion und Ausblick

Entgegen der populären Vorstellung vom entschlüsselten menschlichen Genom haben wir gegenwärtig kein wirklich vollständig sequenziertes menschliches Erbgut in dem Sinne, dass alle DNA-Basen komplett erfasst wären. Die bestehenden Lücken werden wohl erst geschlossen werden können, wenn neue Methoden zur zuverlässigen Sequenzierung sehr langer DNA-Stränge verfügbar werden.

Die Herausforderungen, die bei der Gewinnung genetischer Information aus Fossilien gemeistert werden müssen, wurden im Text angedeutet:

Der Aufwand, überhaupt relevantes genetisches Material aus Fossilien zu gewinnen ist nicht unerheblich und derzeit in nur wenigen Labors weltweit möglich.

Die Gefahr von Kontamination der Proben durch fremde DNA wird durch verschiedene Methoden der Anreicherung (Klonierung, PCR u. a.) stark erhöht und bedarf umfangreicher Sicherheitsvorkehrungen und Kontrollmaßnahmen. Mit letzter Sicherheit sind Kontaminationen nicht auszuschließen.

Chemisch veränderte fossile DNA muss für die Sequenzierung erst aufbereitet werden. Die modifizierten Positionen können nicht immer eindeutig rekonstruiert werden. Hier liegt eine grundsätzliche Fehlerquelle hinsichtlich der Verlässlichkeit der ermittelten Sequenz. Die sehr kleinen sequenzierten Genomfragmente

(typische Größenordnung: 100 Basenpaare und kleiner) müssen für die Erstellung eines Genoms zusammengefügt werden (Assemblierung). Dazu bedient man sich bekannter Genome, im Fall fossiler homininer Genome des „bekannten“ menschlichen Genoms. Um die beiden letztgenannten Punkte zu lösen werden verschiedene theoretische Überlegungen und Modelle verwendet; dies bedeutet, dass die fossilen Genome nur eingeschränkt als Daten oder Fakten betrachtet werden können.

Die fossilen Genomdaten liefern keinen von den Fossilien selbst unabhängigen Zugang, um Erkenntnisse über Vorgänge in der Vergangenheit zu gewinnen.

In den beschriebenen Beispielen wurde bereits deutlich, dass die fossilen Genomdaten nicht unabhängig von der Einordnung der entsprechenden Fossilien auf der Basis ihrer Morphologie verstanden, eingeordnet und diskutiert werden können.

Die fossilen DNA-Sequenzen liefern uns also kein von den Fossilien und deren geologischer, morphologischer und funktionaler Interpretation unabhängiges Bild zur Geschichte der Menschheit. Die bisher verfügbaren Genomsequenzdaten fossiler Homininen stellen demnach eher ein weiteres Element dar, das den einzelnen Fossilien, deren Interpretation und Einordnung zugeordnet werden muss. Derzeit scheinen diese fossilen Genom-„Daten“ in ihrer Bedeutung überbewertet.

Wenn diese Einschätzung zutrifft, dann erstaunen die Versuche umso mehr, den Eindruck zu erwecken, man könnte aufgrund der fossilen Genomdaten ein klares und aufgelöstes Bild der Abstammung des Menschen skizzieren. In Dmanisi in Georgien, der bisher ältesten Fundstelle menschlicher Fossilien außerhalb von Afrika, wurden bisher u. a. mehrere Schädel gefunden. LORDKIPANIDZE et al. (2013) beschreiben einen 2005 geborgenen Schädel und diskutieren die morphologischen Merkmale von fünf an dieser Stelle gefundenen Schädeln. Das weite Spektrum der Formenvielfalt dieser auf 1,8 Millionen radiometrische Jahre datierten Fossilien löste grundlegende Diskussionen aus (HUBLIN 2014) und belegt unsere begrenzte Fähigkeit, aus den derzeit bekannten Fossilien von Homininen eine konsistente Geschichte der Menschheit zu rekonstruieren. Vergleichende Studien von morphologischen Daten als Basis für phylogenetische Analysen (Abstammungsverhältnisse) liefern keine konsistenten Stammbäume, sondern zunehmend komplex vernetzte Zusammenhänge. Bei fossilen Genomdaten gibt es erste Anzeichen für ähnliche Trends. Vernetzte Strukturen liefern

jedoch nicht die erhofften Einsichten in vergangene Abstammungsverhältnisse. In Vorstellungen auf der Basis des Grundtypmodells fügen sich Darstellungen dieser Art jedoch zwanglos ein, ja sind sogar in diesem Konzept zu erwarten.

Angesichts dieser Beobachtung macht es nachdenklich, dass didaktisch gut aufbereitetes Lehrmaterial zur Abstammungsgeschichte des Menschen (PONTZER 2012) einen wenig differenzierten Eindruck widerspiegelt und in keiner Weise dem gerecht wird, was in Fachdiskussionen an offenen Fragen vorliegt.

Die derzeit verfügbaren Methoden und ihre absehbaren Weiterentwicklungen lassen für die nächste Zukunft ein weiterhin starkes Anwachsen von Publikationen über fossile Genome und deren phylogenetische Interpretation erwarten. Die hier dargestellten Probleme und offenen Fragen bleiben davon aber unberührt und es ist heute nicht absehbar, wie diese gelöst und beantwortet werden können.

Anmerkungen

- ¹ Svante PÄÄBO ist seit 1999 Direktor am Max-Planck-Institut für Evolutionäre Anthropologie in Leipzig und hat als Doktorand erstmals DNA einer Mumie (PÄÄBO 1985) kloniert.
- ² hypervariabler Bereich I der mtDNA-Kontroll-Region; Position 16.023 bis 16.400

Literatur

- ALLENTOF ME, COLLINS M, HARKER D, HAILE J, OSKAM CL, HALE ML, CAMPOS PF, SAMANIEGO JA, GILBERT MTP, WILLERSLEV E, ZHANG G, SCOFIELD RP, HOLDAWAY RN & BUNCE M (2012) The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils. *Proc. R. Soc. B* doi: 10.1098/rspb.2012.1745
- CALLAWAY E (2013) Hominin DNA baffles experts. *Nature* 504, 16–17.
- CARPENTER M et al. (2013) Pulling out the 1%: whole-genome capture for the targeted enrichment of ancient DNA sequencing libraries. *Am. J. Hum. Gen.* 93, 852–864.
- COOPER A & STRINGER CB (2013) Did the Denisovians cross the Wallace's line? *Science* 342, 321–323.
- DOOLITTLE WF (2013) Is junk DNA bunk? A critique of ENCODE. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 110, 5294–5300.
- GAUR D, ZHENG Y, PRICE N, AZEVEDO RBR, ZUFALL RA & ELHAIK E (2013) On the immortality of television sets: "Function" in the human genome according to the evolution-free gospel of ENCODE. *Genome Biol. Evol.* 5, 578–590.
- GIBBONS A (2014) Neanderthals and moderns made imperfect mates. *Science* 343, 471–472.
- GREEN RE, MALASPINAS A-S, KRAUSE J, BRIGGS AW, JOHNSON PL, UHLER C, MEYER M, GOOD JM, MARICIC T, STENZEL U, PRÜFER K, SIEBAUER M, BURBANO HA, RONAN M, ROTHBERG JM, EGHOLM M, RUDAN P, BRAJKOVIC D, KUCAN Z, GUSIN I, WIKSTRÖM M, LAKKONEN L, KELSO J, SLATKIN M & PÄÄBO S (2008) A complete Neandertal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing. *Cell* 134, 416–426.
- GREEN RE et al. (2010) A draft sequence of the Neandertal Genome. *Science* 328, 710–722.
- HIGUCHI R, BOWMAN B, FREIBERGER M, RYDER OA & WILSON AC (1984) DNA sequences from a Quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 312, 282–284.
- HOFREITER M (2009) Spurensuche in alter DNA. *Biol. i.u.Z.* 39, 176–184.
- HUBLIN J-J (2014) Paleoanthropology: *Homo erectus* and the limits of a paleontological species. *Curr. Biol.* 24, R82–R84.
- IHGSC (2004) Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431, 931–945.
- KING M-C & WILSON AC (1975) Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Science* 188, 107–116.
- KRINGS M, STONE A, SCHMITZ RW, KRANITZKI H, STONEKING M & PÄÄBO S (1997) Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90, 19–30.
- LINDAHL T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362, 709–715.
- MEYER M et al. (2012) A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual. *Science* 338, 222–226.
- MEYER M, FU Q, AXIMU-PETRI A, GLOCKE I, NICKEL B, ARSUGA J-L, MARTINEZ I, GRACIA A, BERMUDEZ DE CASTRO JM, CARBONELL E & PÄÄBO S (2013) A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Hue-sos. *Nature* 505, 403–406.
- OLALDE I et al. (2014) Derived immune and ancestral pigmentation alleles in a 7000-year-old mesolithic European. *Nature*, doi: 10.1038/nature12960
- PÄÄBO S (1985) Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 314, 644–645.
- PENNISI E (2013) More genomes from Denisova cave show mixing of early human groups. *Science* 340, 799.
- PENNISI E (2014) DNA sequencers still waiting for the nanopore revolution. *Science* 343, 829–830.
- PONTZER H (2012) Overview of hominin evolution. *nature education knowledge* 3(10):8 <http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/overview-of-hominin-evolution-89010983>
- PRÜFER K et al. (2014) The complete genome sequence of a Neanderthal from the Altai Mountains. *Nature* 505, 43–49.
- RAGHAVAN M et al. (2014) Upper paleolithic Siberian genome reveals dual ancestry of native American. *Nature* 505, 87–91.
- RASMUSSEN M et al. (2014) The genome of a late pleistocene human from Clovis burial site in Western Montana. *Nature* 506, 225–229.
- REICH D et al. (2010) Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature* 468, 1053–1060.
- SAKAI RK, SCHARF S, FALOONA F, MULLIS KB, HORN GT, EHLICH HA & ARNHEIM N (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230, 1350–1354.
- SANKARARAMAN S, MALICK S, DANNEMANN M, PRÜFER K, KELSO J, PÄÄBO S, PATTERSON N & REICH D (2014) The genomic landscape of Neandertal ancestry in present-day humans. *Nature*, doi: 10.1038/nature12961
- THE ENCODE PROJECT CONSORTIUM (2012) An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489, 57–74.
- The 1000 Genomes Project Consortium (2012) An integrated map of genetic variation from 1092 human genomes. *Nature* 491, 56–65.
- VERNOT B & AKEY JM (2014) Resurrecting surviving Neandertal lineages from modern human genomes. *Science* 343, 1017–1021.
- WOODWARD SR, WEYAND NJ & BUNNELL M (1994) DNA sequence from Cretaceous period bone fragments. *Science* 266, 1229–1232.
- ZISCHLER H, HÖSS M, HANDT O, VON HAESELER A, VAN DER KUYL AC & GOUDSMIT J (1995) Detecting dinosaur DNA. *Science* 268, 1192–1193.

Anschrift des Verfassers:

Harald Binder, Taborweg 8, 78467 Konstanz,
email: h-e.binder@t-online.de