

# **Phänomene der frühmittelalterlichen Reihengräberzeit aus molekularbiologischer Sicht**

---

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Biologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

---



eingereicht von  
Dipl.-Biol. Andreas Rott

München 2016



Erstgutachter: PD Dr. Albert Zink  
Zweitgutachter: Prof. Dr. Bernd Päßgen  
Tag der Abgabe: 08.12.2016  
Tag der mündlichen Prüfung: 21.03.2017



**INHALTSVERZEICHNIS**

Abbildungsverzeichnis .....	viii
Tabellenverzeichnis .....	ix
Abkürzungsverzeichnis .....	xii
1 Einleitung.....	13
1.1 Das frühmittelalterliche Bayern – Eine kurze Übersicht .....	14
1.2 Die frühmittelalterlichen Reihengräberfelder .....	16
1.2.1 Mehrfachgräber.....	16
1.2.1.1 Pest als Ursache für Mehrfachbestattungen?.....	17
1.2.1.2 Männermehrfachbestattungen .....	18
1.2.1.3 Tuffsteingräber.....	18
1.2.2 Bestattete mit unklarer Geschlechtszuweisung .....	19
1.2.3 Inhaltliche Fragestellungen.....	20
1.3 Molekulargenetische Analysen an Skelettmaterial .....	21
1.3.1 Charakteristika und Authentifizierungsmerkmale alter DNA .....	22
1.3.2 Authentifizierungsmerkmale für Ergebnisse.....	23
1.3.3 Marker zur Verwandtschaftsanalyse .....	24
1.3.3.1 Mitochondriale DNA.....	24
1.3.3.2 Y-chromosomale DNA .....	25
1.3.3.3 Autosomale Marker .....	26
1.3.4 Verwandtschaftsanalyse mittels NGS .....	28
1.3.5 Molekulargenetische Geschlechtsbestimmung.....	29
1.3.6 Molekularer Nachweis von Yersinia pestis.....	30
1.3.7 Quantitative Real-Time PCR in aDNA-Untersuchungen.....	30
1.3.8 Methodische Fragestellungen .....	31
2 Material .....	33
2.1 Gräberfeld Altenerding-Klettham.....	34
2.2 Gräberfeld Aschheim-Bajuwarenring.....	38
2.3 Tuffsteingräber.....	39
2.3.1 Herrsching am Ammersee .....	40
2.3.2 Wielenbach.....	41
2.3.3 Sindelsdorf .....	42
2.4 Kriegerbestattungen .....	43
2.4.1 Oberschneiding .....	43
2.4.2 Ergolding.....	44
2.5 Bestattungen mit widersprüchlicher Geschlechtszuweisung.....	45
3 Methoden.....	48
3.1 Probenentnahme .....	48
3.2 Aufbau des aDNA-labors .....	49
3.3 Probenvorbereitung und Extraktion der DNA .....	51
3.4 Quantifizierung der Menge mitochondrialer DNA .....	52
3.4.1 Erstellung einer Standardkurve .....	53
3.4.2 Real-Time PCR zur Quantifizierung der mitochondrialen DNA.....	53
3.4.3 Bearbeitung der Real-Time PCR und Quantifizierung der DNA-Ausgangsmenge.....	55
3.5 Feststellung von Haplotypen durch Sequenzierung der hypervariablen Region I .....	55
3.5.1 Amplifikation der HVR I.....	56
3.5.2 Aufreinigung, Sequenzierung und Sequenzauswertung .....	58
3.5.3 Bestimmung der mitochondrialen Haplogruppe .....	59
3.6 Bestimmung Y-chromosomaler Haplotypen.....	59
3.7 Erstellung genetischer Fingerabdrücke mit autosomalen Markern .....	60
3.7.1 Amplifikation der autosomalen Marker.....	60
3.7.2 Herstellung der Allelleitern zur Größenbestimmung amplifizierter Allele .....	62
3.7.3 Berechnung von Wahrscheinlichkeiten für Verwandtschaftsverhältnisse .....	62

3.8 Molekulargenetischer Nachweis des Pesterregers .....	63
3.9 Genetische Geschlechtsbestimmung mittels Real-Time PCR.....	64
4 Ergebnisse .....	67
4.1 Etablierung der PCR-Reaktionen.....	67
4.1.1 Quantifizierungsfragment (Fragment A).....	67
4.1.2 Primer für HVR I (Fragmente B bis G).....	68
4.1.3 Amplifikation autosomaler STRs .....	70
4.1.4 Amplifikation, Aufreinigung und Reamplifikation der Allelleitern .....	71
4.1.5 Amplifikation des geschlechtsspezifischen Abschnitts des Amelogenings.....	72
4.2 Ergebnisse der Untersuchungen der Skelettproben aus Mehrfachbestattungen.....	73
4.2.1 Extraktions- und PCR-Kontrollen .....	73
4.2.1.1 Mitochondriale DNA.....	73
4.2.1.2 Nukleäre DNA.....	74
4.2.1.3 Y. pestis-spezifische DNA .....	75
4.2.2 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen der Proben aus Altenerding.....	75
4.2.2.1 Quantifizierung der DNA-Menge.....	75
4.2.2.2 Amplifikation der HVR I aller Individuen aus Altenerding.....	76
4.2.2.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung.....	78
4.2.2.4 Analyse von Y-STRs bei morphologisch und genetisch als männlich bestimmten Individuen aus Altenerding.....	79
4.2.2.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsanalysen mit Familias.....	80
4.2.2.6 Nachweis von Yersinia pestis in Altenerding.....	81
4.2.3 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen der Proben aus Aschheim.....	82
4.2.3.1 Quantifizierung der DNA-Menge.....	82
4.2.3.2 Amplifikation der HVR I aller Individuen aus Aschheim .....	83
4.2.3.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung.....	86
4.2.3.4 Analyse von Y-STRs bei morphologisch und genetisch als männlich bestimmten Individuen aus Aschheim.....	87
4.2.3.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsberechnungen mit Familias .....	88
4.2.4 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen aus Oberschneiding.....	89
4.2.4.1 Quantifizierung der DNA-Menge.....	89
4.2.4.2 Amplifikation der HVR I der Individuen aus Oberschneiding .....	90
4.2.4.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung.....	91
4.2.4.4 Analyse von Y-STRs aller Individuen aus Oberschneiding.....	91
4.2.4.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsberechnungen mit Familias .....	92
4.2.5 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen aus Ergolding.....	92
4.2.6 Ergebnisse Tuffplattengräber nach Fundplätzen.....	93
4.2.6.1 Quantifizierung der DNA-Menge.....	94
4.2.6.2 Amplifikation der HVR I der Individuen aus Tuffplattengräbern .....	96
4.2.6.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung der Individuen aus Tuffplattengräbern.....	99
4.2.6.4 Analyse von Y-STRs der männlichen Individuen aus Tuffplattengräbern.....	101
4.2.6.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsberechnungen mit Familias .....	105
4.2.6.6 Ergebnisse der Screening-PCRs zum Nachweis von Y. pestis.....	109
4.3 Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmungen in anthropologisch-archäologisch divergierenden Fällen.....	109
4.3.1 Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmung in einem TaqMan-Ansatz.....	109
4.3.2 Analyse von autosomalen und Y-chromosomal STRs der Individuen aus anthropologisch-archäologisch divergierenden Fällen.....	110
5 Diskussion .....	113
5.1 Methodenetablierung .....	113
5.1.1 Quantifizierung mitochondrialer DNA .....	113
5.1.2 Amplifikation der mitochondrialen HVR I .....	117
5.1.3 Verwandtschaftsanalyse mit Hilfe autosomaler miniSTRs .....	118
5.1.3.1 Amplifikation der ausgewählten Marker.....	119

5.1.3.2 Quantifizierung mitochondrialer DNA zur Beurteilung des Erhaltungszustands der nukleären STR-Marker.....	123
5.1.3.3 Berechnung der Wahrscheinlichkeit für Verwandtschaft.....	126
5.1.4 Amplifikation von Amelogenin in einem TaqMan-Ansatz.....	127
5.2 Eignung der etablierten Methoden für die Analyse alter DNA.....	132
5.3 Authentizität der erhaltenen Ergebnisse .....	132
5.4 Ergebnisse der Pestscreenings.....	136
5.5 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Untersuchungen.....	137
5.5.1 Verwandtschaften in Mehrfachbestattungen auf Reihengräberfeldern.....	137
5.5.1.1 Mehrfachbestattungen in Altenerding.....	137
5.5.1.2 Ursachen für Mehrfachbestattungen.....	142
5.5.2 Männermehrfachbestattungen – Opfer des frühmittelalterlichen Fehdewesens? .....	145
5.5.3 Frühmittelalterliche Tuffplattengräber als Familiengrablegen? .....	148
5.5.3.1 Herrsching am Ammersee .....	148
5.5.3.2 Wielenbach.....	150
5.5.3.3 Sindelsdorf .....	154
5.5.3.4 Tuffplattengräber als Adelsbegräbnisse? .....	155
5.6 Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmungen – Beitrag der DNA-Analyse zu frühmittelalterlichen Frauen in Waffen .....	157
5.7 Zusammenfassung: Bestattungsphänomene der merowingerzeitlichen Reihengräberkultur aus Sicht der Molekularbiologie .....	159
6 Ausblick.....	162
7 Literatur .....	164
8 Anhang.....	178
9 Lebenslauf.....	228
10 Danksagung.....	232
11 Erklärung.....	233

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1   Stammesgebiet der Bajuwaren während der Herrschaft Tassilo III.....	15
Abbildung 2   Prinzip der STRs. ....	26
Abbildung 3   Beispielhafter Stammbaum.....	27
Abbildung 4   Karte des südlichen Bayern mit den hier bearbeiteten Fundplätzen.....	33
Abbildung 5   Plan des Gräberfelds von Altenerding-Klettham (Abbildung verändert nach HAKENBECK, 2007). ....	35
Abbildung 6   Beispiele für die Zusammensetzungen einiger Mehrfachgräber aus Altenerding. ....	36
Abbildung 7   Übersichtsplan über das aDNA-Labor des ArchaeoBioCenters <sup>LMU</sup> . ....	50
Abbildung 8   Schema zur Amplifikation der HVR I des mitochondrialen Genoms. ....	56
Abbildung 9   Test der Quantifizierungsreaktion mit und ohne BSA. ....	68
Abbildung 10   Unterschiedliche Extrakte in einer Testreaktion zur Etablierung von Fragment B. ....	69
Abbildung 11   Wahrscheinlichster Stammbaum für die Individuen aus der Mehrfachbestattung A 119/ A 120/ A 126 nach Berechnung mit Familias. ....	89
Abbildung 12   Übersicht über die mögliche verwandtschaftliche Verflechtung der Individuen aus den Bestattungen 20, 32 und 34 vom Fundplatz Wielenbach.....	108
Abbildung 13   STR-Profil der Positivkontrolle 007.....	120
Abbildung 14   Allelleiter des Menteype® Nonaplex I-Kits (Biotype) amplifiziert mit den etablierten Primerpaaren.....	121
Abbildung 15   Ergebnis der Amplifikation der Allelleiter ohne Substitution von dTTP. ....	122
Abbildung 16   Quantifizierung der mitochondrialen DNA und Erfolg der Amplifikation autosomaler STRs. ....	124
Abbildung 17   Vergleich der Reaktionskinetik von Standard und Proben im TaqMan-Ansatz. ....	128
Abbildung 18   Überprüfung der Spezifität der Amelogenin-Amplifikationen im Gelbild. ....	129
Abbildung 19   Ergebnisse der Quantifizierung und Amplifikation der mitochondrialen DNA..	134
Abbildung 20   Amplifizierbarkeit der autosomalen STR-Marker. ....	135
Abbildung 21   Beispiele für unterschiedliche Arten der Kommunikation von Bestatteten aus Altenerding.....	140
Abbildung 22   Ausschnitt aus dem Gräberfeldplan von Herrsching am Ammersee. ....	149
Abbildung 23   Wahrscheinlicher Stammbaum für die verwandtschaftliche Beziehung der Individuen aus Herrsching a. Ammersee. ....	150
Abbildung 24   Ausschnitt aus dem Gräberfeldplan von Wielenbach.....	151
Abbildung 25   Übersicht über die möglichen Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb und zwischen den Gräbern 20, 32 und 34 von Wielenbach. ....	152
Abbildung 26   Ausschnitt aus dem Gräberfeldplan von Sindelsdorf. ....	154
Abbildung 27   Stammbaum der Beziehungen des Individuums aus dem Sindelsdorfer Tuffplattengrab zu den benachbarten Bestattungen. ....	154
Abbildung 28   Schematische Verteilung der Merkmalsausprägungen zwischen Männern und Frauen.....	158

**TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1   Im Rahmen der Arbeit beprobte Skelette aus Mehrfachbestattungen des Fundplatzes Altenerding-Klettham. ....	37
Tabelle 2   Skelette vom Fundplatz Aschheim-Bajuwarenring, die im Zuge der vorliegenden Arbeit beprobt wurden.....	39
Tabelle 3   Untersuchte Individuen des Fundplatzes Herrsching am Ammersee mit ausgewählten Proben.....	41
Tabelle 4   Auswahl der untersuchten Individuen aus Wielenbach. ....	42
Tabelle 5   Untersuchte Individuen vom Fundplatz Sindelsdorf.....	43
Tabelle 6   Individuen aus der Männermehrfachbestattung Befund 159 von Oberschneiding. ....	44
Tabelle 7   Individuen aus einer der Männermehrfachbestattungen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden.....	45
Tabelle 8   Grabbefunde mit widersprüchlichen Geschlechtsansprachen.....	46
Tabelle 9   Sequenzen der Primer, die für die Quantifizierungsreaktion genutzt wurden. ....	54
Tabelle 10   Komponenten des Reaktionsmixes für die Real-Time PCR zur Quantifizierung der Zahl an Ausgangsmolekülen.....	54
Tabelle 11   PCR-Protokoll für die Quantifizierung der mitochondrialen DNA-Menge.....	54
Tabelle 12   Verwendete Primer für die Amplifikation der mitochondrialen Genomabschnitte. ....	57
Tabelle 13   Reaktionsmische für die Amplifikation der hypervariablen Region I des mitochondrialen Genoms. ....	57
Tabelle 14   Temperaturprofile, die für die unterschiedlichen Primerpaare (B-G) getestet wurden.....	58
Tabelle 15   Reaktionsmix für die Sequenzierung der amplifizierten Abschnitte des mitochondrialen Genoms. ....	58
Tabelle 16   Temperaturprofil der Sequenzierreaktion für die amplifizierten Abschnitte des mitochondrialen Genoms. ....	59
Tabelle 17   Mastermix für die Fragmentlängenanalyse der STR-Reaktionen.....	60
Tabelle 18   Sequenzen und fluoreszente Markierungen der Primer zur Amplifikation der autosomalen STRs.....	61
Tabelle 19   Komponenten des Reaktionsmix zur Amplifikation der autosomalen STRs. ....	61
Tabelle 20   PCR-Protokoll für die Amplifikation der autosomalen STRs.....	62
Tabelle 21   Primer für das Screening auf das Vorhandensein von <i>Y. pestis</i> . ....	63
Tabelle 22   Mastermix und Temperaturprofil der Touch-Down-PCR zum Nachweis von <i>Y. pestis</i> . ....	64
Tabelle 23   Sonden für die Detektion der X- und Y-spezifischen Varianten des Amelogenin-Genorts.....	65
Tabelle 24   Komponenten des Reaktionsmixes für die Quantifizierung der geschlechtsspezifischen Varianten des Amelogeningens.....	65
Tabelle 25   Getestete PCR-Bedingungen für die Amplifikation der X- und Y-spezifischen Abschnitte des Amelogeningens in einem TaqMan-Ansatz. ....	66
Tabelle 26   Verdünnungsreihen der beiden Standard-DNA-Sätze für weibliche (9947 A) und männliche (2800 M) DNA.....	66
Tabelle 27   Finales Protokoll für die Quantifizierung der Ausgangsmenge der Menge mitochondrialer DNA in einem Extrakt.....	67
Tabelle 28   Finale Protokolle für die Amplifikation der hypervariablen Region I des mitochondrialen Genoms. ....	70
Tabelle 29   Finales Protokoll für die Amplifikation der autosomalen STRs und des geschlechtsspezifischen Markers Amelogenin. ....	71
Tabelle 30   Finale Mischungsverhältnisse der jeweiligen Primer zur Amplifikation der unterschiedlichen autosomalen Marker und Amelogenin.....	71
Tabelle 31   Finales Protokoll zur Amplifikation des geschlechtsspezifischen Abschnitts des Amelogeningens in einem TaqMan-Ansatz.....	72

Tabelle 32   Ergebnisse der Quantifikationsreaktionen der mitgeführten Extraktionskontrollen. .....	74
Tabelle 33   Ergebnisse der Quantifizierung der Anzahl amplifizierbarer Moleküle des mitochondrialen Genoms für Altenerding.....	75
Tabelle 34   Ergebnisse der Sequenzierungen der hypervariablen Region I und des kodierenden Abschnittes des mitochondrialen Genoms der Individuen aus Altenerding.....	77
Tabelle 35   Ergebnisse der Analyse autosomaler STRs der Individuen aus Altenerding.....	78
Tabelle 36   Y-STR-Profile der untersuchten Individuen aus Altenerding.....	79
Tabelle 37   Wahrscheinlichste verwandtschaftliche Verhältnisse innerhalb der Mehrfachbestattungen aus Altenerding.....	80
Tabelle 38   Ergebnisse des pla-Screenings auf die Anwesenheit von <i>Yersinia pestis</i> im Probenmaterial.....	82
Tabelle 39   Ergebnisse der Quantifizierung amplifizierbarer Moleküle des mitochondrialen Genoms für Aschheim.....	83
Tabelle 40   Ergebnisse der Sequenzierung der hypervariablen Region I und eines Abschnitts der kodierenden Region des mitochondrialen Genoms aller untersuchten Individuen aus Aschheim. .....	85
Tabelle 41   Ergebnisse der Analysen der autosomalen STRs der Individuen aus Aschheim.....	86
Tabelle 42   Y-STR-Profile der untersuchten Individuen aus Aschheim.....	87
Tabelle 43   Wahrscheinlichste Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den jeweiligen Individuen nach Berechnung mit Familias.....	88
Tabelle 44   Ergebnisse der Quantifizierung amplifizierbarer Moleküle des mitochondrialen Genoms für Oberschneiding.....	90
Tabelle 45   Ergebnisse der Sequenzierung der mitochondrialen HVR I und eines Abschnitts der kodierenden Region für die Individuen aus Oberschneiding.....	90
Tabelle 46   Ergebnisse der Analysen der autosomalen STRs für die Individuen aus Oberschneiding.....	91
Tabelle 47   Y-STR-Profile für die untersuchten Individuen aus Oberschneiding.....	92
Tabelle 48   Ergebnisse der Sequenzierung der HVR I für die Individuen aus Ergolding.....	93
Tabelle 49   Ergebnisse der Quantifizierungsreaktionen der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.....	94
Tabelle 50   Quantifizierungsergebnisse der Individuen aus den untersuchten Bestattungen aus Wielenbach.....	95
Tabelle 51   Ergebnisse der qPCRs für die Individuen vom Fundplatz Sindelsdorf.....	96
Tabelle 52   Ergebnisse der Analyse der HVR I-Sequenz der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.....	96
Tabelle 53   Ergebnisse der Sequenzierung der HVR I der untersuchten Individuen aus Wielenbach.....	98
Tabelle 54   Ergebnisse der Bestimmung der HVR I-Sequenz für die Individuen aus Sindelsdorf. .....	99
Tabelle 55   Ergebnisse der miniSTR-Analyse der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.....	99
Tabelle 56   STR-Profile der untersuchten Individuen aus Wielenbach.....	100
Tabelle 57   Ergebnisse der STR-Typisierungen der Individuen aus Sindelsdorf.....	101
Tabelle 58   Ergebnisse der Y-STR-Analysen der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.....	102
Tabelle 59   Y-STR-Profile der Individuen aus der Mehrfachbestattung Wielenbach 20.....	103
Tabelle 60   Ergebnisse der Analyse der Y-chromosomalen STRs der Individuen aus den Bestattungen Wielenbach 32 und 34.....	104
Tabelle 61   Y-STR-Profile der männlichen Individuen vom Fundplatz Sindelsdorf.....	105
Tabelle 62   Übersicht über die möglichen verwandtschaftlichen Verhältnisse der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.....	106
Tabelle 63   Übersicht über die möglichen verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen aus Wielenbach.....	106
Tabelle 64   Mögliche verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Bestatteten aus Sindelsdorf.....	108

Tabelle 65 | Vergleich der Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmungen aus dem TaqMan-Ansatz und dem MiniFiler..... 110

Tabelle 66 | STR-Typisierung der untersuchten Individuen mittels AmpfSTR MiniFiler..... 111

Tabelle 67 | Ergebnisse der Bestimmung der Y-STRs mit dem AmpfSTR Yfiler bei zuvor als genetisch männlich identifizierten Individuen..... 112

Tabelle 68 | Quantifizierungstestlauf mit alten Proben mit und ohne BSA-Zugabe. .... 115

Tabelle 69 | C<sub>T</sub>-Werte der Standards mit und ohne Zugabe von BSA..... 115

Tabelle 70 | Einteilung der *likelihood ratios* nach GOODWIN ET AL. (2011)..... 127

Tabelle 71 | Vergleich der Reaktionsausfälle zwischen dem TaqMan-Ansatz und dem Minifiler™. .... 130

Tabelle 72 | Wahrscheinlichstes Verwandtschaftsverhältnis der Individuen aus Altenerding im Vergleich mit den mitochondrialen Haplotypen..... 138

Tabelle 73 | Die möglichen Personenkombinationen in Mehrfachbestattungen aus Altenerding und die Verwandtschaft der darin bestatteten..... 139

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

SI-Einheiten sowie gebräuchliche Nicht-SI-Einheiten sind im folgenden Verzeichnis nicht aufgeführt. Auch Elementsymbole sind nicht Bestandteil dieses Verzeichnisses. Für chemische Verbindungen ist jeweils der gebräuchliche Trivialname angegeben.

A	Adenin
aDNA	alte Desoxyribonukleinsäure
bp	Basenpaare (Einheit)
BSA	bovines Serumalbumin
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
C <sub>T</sub>	<i>Threshold Cycle</i> (Reaktionszyklus, bei dem ein definierter Fluoreszenz-Schwellenwert zum ersten Mal überschritten wird)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
dUTP	Desoxyuridintriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
G	Guanin
H <sub>0</sub>	Nullhypothese
HSA	humanes Serumalbumin
HVR I	Hypervariable Region I des mitochondrialen Genoms
HVR II	Hypervariable Region II des mitochondrialen Genoms
HVR III	Hypervariable Region III des mitochondrialen Genoms
Jhd.	Jahrhundert
LR	<i>likelihood ratio</i>
MGB	<i>minor groove binder</i>
mtDNA	mitochondriale Desoxyribonukleinsäure
NaOCl	Natriumhypochlorit
n. Chr.	nach Christus
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NRY	nicht-rekombinierende Region des Y-Chromosoms (engl. <i>non-recombining region of Y chromosome</i> )
PP	<i>posterior probability</i>
PCR	Polymerasekettenreaktion
qPCR	Quantitative Polymerasekettenreaktion
rCRS	revidierte Cambridge-Referenzsequenz (engl. <i>revised Cambridge Reference Sequence</i> )
SDS	Natriumdodecylsulfat
SNP	Einzelnukleotidpolymorphismus (engl. <i>single nucleotide polymorphism</i> )
STR	Tandemrepetitive Sequenz (engl. <i>short tandem repeat</i> )
T	Thymin
U	Uracil
UV	Ultraviolett
UNG	Uracil-N-Glykosylase
Wdh.	Wiederholung
Y-STR	Y-chromosomale tandemrepetitive Sequenz (siehe auch 'STR')
z.B.	zum Beispiel

## **1 EINLEITUNG**

Die Fortschritte auf dem Arbeitsfeld der Paläogenetik haben in den letzten Jahren zu einer ständigen Verbesserung der methodischen Herangehensweise an die Analyse konservierter DNA geführt. In den letzten Jahrzehnten konnten auf diese Weise genetische Daten generiert werden, mit deren Hilfe auch paläosoziologische Fragestellungen beantwortet oder zumindest Antwortmöglichkeiten gegeben werden konnten (z. B. BACA ET AL., 2012, BOLLONGINO ET AL., 2013, DEGUILLOUX ET AL., 2014, HAAK ET AL., 2008).

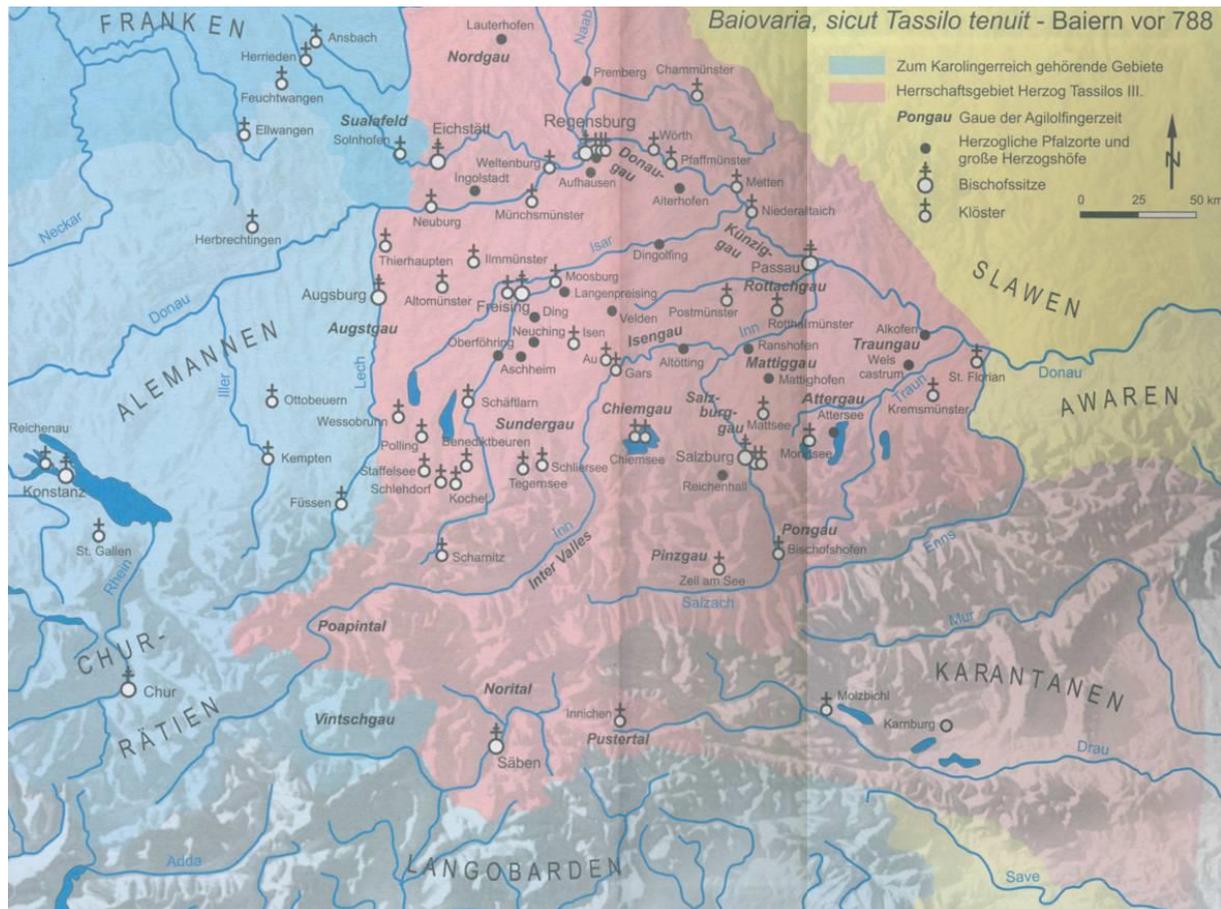
Auch für die Reihengräberkultur des frühen Mittelalters können mit diesen Methoden Antwortmöglichkeiten auf besondere Bestattungsformen erwartet werden. Hier treten mit einiger Regelmäßigkeit bestimmte Phänomene auf, zu deren Beantwortung die Molekularbiologie wertvolle Beiträge leisten kann. Zum einen findet man auf den sogenannten Reihengräberfeldern stets Mehrfachgräber, die in ihrer Anzahl und Zusammensetzung von Fundplatz zu Fundplatz variieren können (LÜDEMANN, 1990), zum anderen treten immer wieder Bestattungen auf, bei denen die anthropologische und archäologische Geschlechtszuweisung voneinander abweichen (z. B. GÄRTNER, 2013). Weiterhin finden sich neben der Bestattung in „Reihe“ besondere Bestattungsformen, von denen hier die sogenannten Tuffsteingräber aufgegriffen werden sollen.

Das frühe Mittelalter in Bayern gilt als „Dunkles Zeitalter“, da nach dem Rückzug des römischen Reiches aus dem Gebiet nördlich der Alpen zunächst keine schriftlichen Quellen für diese Region und Zeit vorliegen (STEINACHER, 2012). Die einzigen zur Verfügung stehenden Quellen für diese Epoche stellen somit die archäologischen und anthropologischen Funde dar, die es zu interpretieren gilt. In der vorliegenden Arbeit sollen daher zum ersten Mal in größerem Rahmen Individuen aus Mehrfachbestattungen von unterschiedlichen Fundplätzen hinsichtlich möglicher verwandtschaftlicher Beziehungen untersucht werden. Um dies zu erreichen sollen außerdem PCR-Protokolle zur Amplifikation verwandtschaftlicher Marker an die Voraussetzungen für die Arbeit mit alter DNA angepasst und anschließend auf das Probenkollektiv angewandt werden. Als mögliche Ursache für das Auftreten von Mehrfachbestattungen wird u.a. die Pest diskutiert (HARBECK ET AL., 2013). Daher werden Individuen aus Mehrfachbestattungen auf den Krankheitserreger *Yersinia pestis* hin untersucht, von dem mittlerweile bekannt ist, dass er ursächlich für die im Frühmittelalter grassierende Justinianische Pest war (WIECHMANN & GRUPE, 2005, HARBECK ET AL., 2013, WAGNER ET AL., 2014). Um die Frage der divergierenden Geschlechtszuweisungen näher zu ergründen, werden außerdem verschiedene Methoden zur genetischen Geschlechtsbestimmung bei diesen Individuen angewandt und miteinander verglichen.

Im Folgenden sollen die im Zentrum dieser Arbeit stehenden Phänomene sowie mögliche Lösungsansätze zu ihrer näheren Aufklärung beschrieben werden.

## **1.1 DAS FRÜHMITTELALTERLICHE BAYERN – EINE KURZE ÜBERSICHT**

Mit dem Beginn des vierten Jahrhunderts zieht sich das römische Imperium immer mehr aus dem Gebiet nördlich der Alpen zurück. Zunächst bleibt Rom auch in dieser Zeit das Zentrum politischer Macht, aber nach zahlreichen Einfällen germanischer Stämme in die Provinzen nördlich der Alpen und mehreren gescheiterten Konsolidierungsversuchen werden im Laufe des 5. Jahrhunderts die nördlichen Provinzen Roms aufgegeben. Mit der Aufgabe dieser Gebiete fehlen für diesen Zeitraum schriftliche Aufzeichnungen über das Schicksal der ehemaligen Provinzen zunächst beinahe völlig (STEINACHER, 2012). Spätestens seit der Mitte des 6. Jahrhunderts werden die in den ehemaligen römischen Provinzen Raetia II und Noricum ripense ansässigen Bewohner in der Geschichtsschreibung als Bajuwaren bezeichnet (HAAS-GEBHARD, 2013, STEINACHER, 2012). Bis heute ist dabei die Herkunft und Ethnogenese dieses germanischen Stammes unklar (HAAS-GEBHARD, 2013, STEINACHER, 2012). Umgeben war das Stammesgebiet der Bajuwaren von den Alamannen im Westen, den Thüringern im Norden, den Slaven und Avarern im Osten und den Langobarden im Osten und Süden (HAAS-GEBHARD, 2013). Das von den bajuwarischen Stammeshäuptern kontrollierte Gebiet erstreckte sich dabei nicht nur auf das heutige Bayern, sondern umfasste auch Gebiete des heutigen Österreichs sowie Südtirols. Während der genaue Zeitpunkt des Auftretens der Bajuwaren in der Geschichte mangels zeitgenössischer Quellen nach wie vor im Dunkeln liegt, ist das Ende der bajuwarischen Herrschaft mit der Absetzung des letzten bajuwarischen Stammeshäupters, Tassilo III., im Jahre 788 durch Karl den Großen genau datiert (HAAS-GEBHARD, 2013, STÖRMER, 2002; Abbildung 1.)



**Abbildung 1 | Stammesgebiet der Bajuwaren während der Herrschaft Tassilo III.** Dargestellt ist das von den Bajuwaren gehaltene Gebiet (dunkleres Rot) sowie die umgebenden Stammesgebiete. Abbildung aus FEHR & HEITMEIER (2012).

Man geht davon aus, dass nach dem Rückzug des römischen Imperiums nördlich der Alpen eine allmähliche Ruralisierung der Gebiete stattfand. Die Bevölkerung gab viele der befestigten Städte nach und nach auf und es entstanden kleine Ansiedlungen, die in der Regel eine Größe von vermutlich 10 Höfen nicht merklich überschritten (FEHR, 2012, HAAS-GEHBARD, 2013). Nach dem bisherigen archäologischen Befund für diese Zeit ist außerdem davon auszugehen, dass die Siedlungen keine festen Ansiedlungen im heutigen Sinne waren, sondern vielmehr Wandersiedlungen, deren Gebäude über die Generationen immer wieder um einige Meter versetzt wurden (HAAS-GEHBARD, 2013). Dementsprechend dürfte das frühmittelalterliche Bayern relativ dünn mit bäuerlichen Gemeinschaften besiedelt gewesen sein (HAAS-GEHBARD, 2013).

Hinweise zum alltäglichen Leben sind für den Zeitraum des Frühmittelalters nur sehr spärlich vorhanden und werden meist indirekt aus dem Gesetzbuch der Bajuwaren, der *Lex Baiuvariorum*, abgeleitet, da andere Schriftquellen für diese Zeit nicht zur Verfügung stehen oder erst einige Jahrhunderte später verfasst wurden als die in dieser Arbeit behandelten Bestattungen. So wird vermutet, dass die *Lex* selbst in ihrer endgültigen Fassung erst in der 1. Hälfte des 8. Jahrhunderts entstanden ist (HAAS-GEHBARD, 2013). Dennoch ist anzunehmen, dass

die dort beschriebenen gesellschaftlichen Strukturen bereits seit einigen Jahrhunderten im bajuwarischen Stammesgebiet bestanden. So ist bekannt, dass sich die Gesellschaft in Höhergestellte, Freie, Freigelassene und Unfreie gliederte. Ein echter Adel in unserem heutigen Verständnis hat im frühen Mittelalter vermutlich noch nicht existiert. Daher wird das Wort „Adel“ im Nachfolgenden in Anführungszeichen verwendet. Auch die Geschlechterrollen waren vermutlich sehr strikt verteilt (siehe 1.2.2).

## **1.2 DIE FRÜHMITTELALTERLICHEN REIHENGRÄBERFELDER**

Seit der zweiten Hälfte des 5. Jahrhunderts werden im Untersuchungsgebiet die Verstorbenen in der Regel auf neu angelegten Friedhöfen bestattet (HAAS-GEBHARD, 2013). Dabei handelt es sich teilweise um die Weiterführung einer Bestattungssitte, die bereits in spätrömischer Zeit aufgekommen war, nämlich der Beisetzung in einzelnen Körpergräbern (FEHR, 2012). Einzelne Gräberfelder dieser Art zeigen seit dem 6. Jhd. die Struktur der sogenannten Reihengräberfelder, auf denen die Verstorbenen (häufig) in langen Reihen nebeneinander angeordnet werden. Die Toten werden in W-O-Richtung (Kopf im Westen, Füße im Osten) in gestreckter Rückenlage mit meist seitlich anliegenden Armen beigesetzt. Die Gräberfelder dieser Zeit können in ihrer Größe sehr stark variieren und umfassen seit dem 6. Jhd. oftmals wenige hundert bis weit über 1000 Bestattungen. Die Belegung solcher Gräberfelder ist normalerweise über einen längeren Zeitraum nachzuweisen (FEHR, 2012, HAAS-GEBHARD, 2013). Gerade bei den größeren Bestattungsarealen, die 1000 oder mehr Bestattungen aufweisen, könnte es sich in Einzelfällen nicht nur um das Begräbnisareal einer einzigen dörflichen Ansiedlung, sondern um den gemeinsamen Friedhof einer ganzen Siedlungskammer handeln (HAAS-GEBHARD, 2013).

### **1.2.1 Mehrfachgräber**

Die Bestattung mehrerer Individuen in einem gemeinsamen Grab muss im Untersuchungsgebiet immer als eine besondere Erscheinung betrachtet werden, da jedem Individuum in der Regel ein eigenes Grab zugesprochen wurde (LÜDEMANN, 1990, WAHL, 1994). Die möglichen Gründe für eine sogenannte Mehrfachbestattung, also einer Bestattung mehrerer Individuen zur gleichen Zeit, können vielfach sein. Während pragmatische Gründe wie beispielsweise Platzmangel oder die Verschiebung von Bestattungen wegen schlechter Witterung (z.B. Frost) mit anschließender Beisetzung aller aufgeschobenen Bestattungen in einem einzigen Grab immer wieder als mögliche Ursachen diskutiert werden, werden meistens familiäre Bindungen als Hauptmotiv für eine gemeinsame Bestattung angenommen (LÜDEMANN, 1990, WAHL, 1994). Nach LÜDEMANN (1990) muss auch eine zeitgleiche Bestattung von Individuen einer Familienbestattung nicht

widersprechen, da es sich um familiäre Schicksalsgemeinschaften handeln kann, die im Zuge von Kämpfen oder durch Krankheiten (s. u.) oder andere Unglücke umgekommen sein mögen.

Nach derselben Autorin können mehrere Arten der Mehrfachgräber unterschieden werden: Mehrfachbestattungen werden dabei nur jene Gräber genannt, bei denen davon ausgegangen werden kann, dass die Beisetzung der darin befindlichen Individuen tatsächlich gleichzeitig stattgefunden hat. Weiterhin kann es zu Nachbestattungen kommen, bei denen ein weiteres Individuum in ein bereits bestehendes Grab eingebracht wird, wobei häufig die primäre Bestattung gestört wird. Unter Superpositionen versteht man eine Lagerung von mehreren Individuen, die nur von einer mehr oder weniger mächtigen Erdschicht getrennt sind. Überschneidungen von Gräbern können dabei intentionell oder zufällig geschehen. Die letzte bekannte Art der Mehrfachgräber sind sogenannte additive Gräber. Dabei werden Gräber nebeneinander gereiht und teilen sich in der Regel eine Stein- oder möglicherweise auch eine Holzwand, die der seitlichen Abgrenzung der einzelnen Gräber dient (LÜDEMANN, 1990).

Mehrfachbestattungen kommen dabei in allen möglichen Zusammensetzungen vor. Am häufigsten handelt es sich um die Beisetzung zweier Individuen in einem gemeinsamen Grab. Individuen jeglichen Alters und Geschlechts wurden gemeinsam bestattet, wenngleich die Kombination einer Frau und eines Kindes die häufigste Variante in allen Epochen zu sein scheint (LÜDEMANN, 1990, WAHL, 1994).

#### **1.2.1.1 Pest als Ursache für Mehrfachbestattungen?**

Auf vielen Reihengräberfeldern ist auffällig, dass sich zu einer gewissen Zeit das Auftreten von Mehrfachbestattungen zu häufen scheint. Da dieser Zeitrahmen sich mit Beschreibungen einer Pest-Epidemie im Süden Europas, der sogenannten Justinianischen Pest, deckt, kamen früh Spekulationen auf (GUTSMIEDL-SCHÜMANN, 2010, WIECHMANN & GRUPE, 2005), es könne sich bei diesen „Massengräbern“ um Bestattungen von Pestopfern handeln. Bereits 2005 konnten WIECHMANN & GRUPE (2005) diesen Verdacht für eine Bestattung aus Aschheim erhärten, indem hier *Yersinia pestis* (*Y. pestis*)-spezifische Fragmente des *pla*-Gens nachgewiesen werden konnten. Der endgültige Beweis mit einer phylogenetischen Einordnung des *Y. pestis*-Stammes, der ursächlich für die Justinianische Pest ist, konnte schließlich von HARBECK ET AL. (2013) erbracht und mittlerweile durch ein vollständiges Genom bestätigt werden (WAGNER ET AL., 2014). Weiterhin konnten HARBECK ET AL. (2013) zeigen, dass nicht nur große Massengräber, sondern auch eine Häufung mehrerer kleinerer Mehrfachbestattungen auf Seuchengeschehen hinweisen können. Dieser Sachverhalt kann nicht nur für das in HARBECK ET AL. (2013) untersuchte Gräberfeld von Aschheim, sondern für alle frühmittelalterlichen Reihengräberfelder vermutet werden, bedarf jedoch noch weiterer Untersuchungen.

### 1.2.1.2 Männermehrfachbestattungen

Eine weitere Besonderheit im frühen Mittelalter stellt die Bestattung mehrerer Männer in einer gemeinsamen Grabgrube dar. Obwohl diese Sitte – nach dem archäologischen Fundgut zu urteilen – im süddeutschen Raum relativ weit verbreitet gewesen zu sein scheint, gibt es keine historische Erwähnung, die einen Erklärungsansatz dafür liefern könnte (SCHNEIDER, 2008). Dennoch können auf frühmittelalterlichen Reihengräberfeldern einige derartige Bestattungen aufgefunden werden, die in Bezug auf die Anordnung und Anzahl der Beigesetzten einer bestimmten Regelmäßigkeit zu folgen scheinen (SCHNEIDER, 2008). Die diskutierten Erklärungsansätze dafür reichen von einem gemeinsamen Tod im Kampf über eine mögliche Totenfolge (SCHNEIDER, 2008) bis hin zu Homosexualität (MENNINGER ET AL., 2004), am wahrscheinlichsten handelt es sich bei diesen Bestatteten aber um Opfer des merowingerzeitlichen Fehdewesens, da sehr viele der Bestatteten perimortale (Hieb-) Verletzungen aufweisen (HAAS-GEHARD, 2013, SCHNEIDER, 2008, STEUER, 2008).

Nicht ganz unabhängig von der Frage nach der Ursache dieser Erscheinungsform von Mehrfachbestattungen ist die Frage nach einer möglichen Verwandtschaft der Verstorbenen. So wird häufig angenommen, dass es sich bei diesen Bestattungen um Familiengrablegen handeln könnte (SCHNEIDER, 2008). Trotz der relativ hohen Anzahl dokumentierter und archivierter Männermehrfachbestattungen und der Fortschritte in den Untersuchungsmethoden innerhalb der letzten Jahre sind bisher nur wenige dieser Gräber hinsichtlich genetischer Verwandtschaft untersucht worden (SCHNEIDER, 2008, STEUER, 2008). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten mögliche Verwandtschaften (VANEK ET AL., 2009) und Verwandtschaftsausschlüsse mütterlicherseits (WAHL ET AL., 2014).

Ebenfalls an die Fragestellungen zu diesen Mehrfachbestattungen von Männern angeknüpft ist die Vermutung, dass sich in vermeintlichen Männerbestattungen zuweilen auch scheinbar weibliche Individuen finden lassen, die durch ihre Waffenausstattung Anlass zu vielen Diskussionen liefern (siehe 1.2.2).

### 1.2.1.3 Tuffsteingräber

Bei den sogenannten Tuffsteingräbern handelt es sich um nach dem verwendeten Baumaterial benannte Steinplattengräber, die ab der zweiten Hälfte des 7. Jahrhunderts auf bajuwarischem Gebiet auftreten und bis mindestens ins 8. Jahrhundert gebräuchlich waren (SCHOLZ, 2002, KELLER 1995). Wenngleich diese Art von Gräbern in ganz Mitteleuropa zu dieser Zeit auftritt, findet sich im bajuwarischen Raum doch eine Häufung dieser Bestattungsform im Seengebiet südlich von München mit einer allmählichen „Ausdünnung“ Richtung Norden, Osten und Westen (HABERSTROH, 2014, SCHOLZ, 2002). Zumeist finden sich Steinplattengräber auf regulären Gräberfeldern mitten unter den ansonsten üblichen Erdbestattungen, jedoch kommen sie auch auf Separatfriedhöfen vor, wie dies z. B. in Herrsching am Ammersee der Fall ist (BURZLER, 2000,

KELLER, 1995, SCHOLZ, 2002). Die frühesten Bestattungen in Tuffsteingräbern treten als Einzelbestattungen auf den Gräberfeldern auf, scheinen jedoch später für eine längere Dauer belegt worden zu sein, sodass davon ausgegangen wird, dass es sich möglicherweise um Familiengrabstätten gehandelt haben könnte (HABERSTROH, 2014, SCHOLZ, 2002).

Die Interpretationen dieser Bestattungsart sind vielfältig. Aufgrund der Konzentration der Steinplattengräber auf ehemals römischem Gebiet wird einerseits vermutet, dass es sich hierbei um Grabstätten von Familienverbänden handeln könnte, die immer noch oder möglicherweise auch wieder in romanischer Tradition bestatten. Zum anderen wird aufgrund der Tatsache, dass vor allem die frühen Bestattungen oder auch die Gründerbestattungen häufig mit reichen Beigaben ausgestattet waren, oft angenommen, dass es sich hierbei um eine gesellschaftliche Schicht gehandelt haben könnte, die wichtige politische Ämter bekleidet hat und sich auch in der Bestattungsform von den übrigen Angehörigen der freien Bevölkerung unterscheiden wollte, oder möglicherweise um Angehörige eines frühen „Adels“. Daran angeschlossen stellt sich für die Tuffplattengräber die Frage, ob diese Begräbnisstätten und damit möglicherweise auch die soziale Stellung der Bestatteten erblich waren (HABERSTROH, 2014, SCHOLZ, 2002).

### 1.2.2 Bestattete mit unklarer Geschlechtszuweisung

Normalerweise wurden Individuen im frühen Mittelalter mit geschlechtsspezifischen Beigaben bestattet, so werden Männer und Jungen häufig mit Waffenbeigaben, Frauen und Mädchen meist mit Schmuckbeigaben bestattet (BRATHER, 2008, GÄRTNER, 2013). In der Regel können die Bestatteten dabei auch über ihre Beigaben relativ sicher geschlechtsbestimmt werden. In dieser Beigabensitte ist wohl auch die klassische Rollenverteilung der beiden Geschlechter im Frühmittelalter widerspiegelt. Während Männer physisch anstrengende Arbeiten verrichteten, Handel trieben, Krieg führten und politische sowie Rechtsgeschäfte tätigten, war es Frauen vorbehalten, zu heiraten, Kinder zu bekommen und sich um Haus, Hof und die Familie zu kümmern (BITEL, 2002).

Dennoch gibt es immer wieder Fälle, in denen sich die archäologische und die anthropologische Geschlechtsbestimmung widersprechen (GÄRTNER, 2013, GÄRTNER ET AL., 2014, HAAS-GEHBARD, 2013). In vielen Fällen handelt es sich dabei um Frauen, die mit Waffenausrüstung bestattet wurden und damit Anlass zur Postulierung frühmittelalterlicher „Amazonen“ gegeben haben (z. B. GÄRTNER, 2012, SCHNEIDER, 2008). Ein Absatz der *Lex Baiuvariorum*, der das Strafmaß für den Angriff auf eine Frau verringert, wenn diese selbst zur Waffe greift, wird häufig auch dahingehend gewertet, dass (bajuwarische) Frauen durchaus als „Kriegerinnen“ fungiert haben könnten, wenngleich vermutlich nur in Familienfehden und nicht in kriegerischen Auseinandersetzungen mit anderen Stämmen (HAAS-GEHBARD, 2013). Befeuert wurde diese Diskussion zusätzlich durch eine mittlerweile widerlegte molekulare Geschlechtsbestimmung

einer vermeintlichen Frau, die in Niederstotzingen zusammen mit 2 Männern in Rüstung begraben wurde (WAHL ET AL., 2014, ZELLER, 2000). Es finden sich jedoch auch scheinbar männliche Individuen im Frühmittelalter, die mit eher weiblich assoziierten Beigaben bestattet wurden.

### 1.2.3 Inhaltliche Fragestellungen

Im Zuge dieser Arbeit sollten erstmalig die unter 1.2.1 und 1.2.2 beschriebenen Phänomene der frühmittelalterlichen Reihengräberkultur in größerem Umfang beleuchtet werden. Dabei steht die Untersuchung der Mehrfachbestattungen und Tuffsteingräber im Fokus. Wie in KELLER ET AL. (2015) formuliert, stellen sich bei derartigen Befunden in der Regel zwei Fragen: Waren die Verstorbenen biologisch miteinander verwandt? Und was führte zur besonderen Bestattungsweise und zum gleichzeitigen oder zeitnahen Tod der Bestatteten und damit zu deren gleichzeitiger Bestattung?

Die Bestimmung der Todesursache stellt dabei eine große Herausforderung dar, da nicht jede tödliche Verletzung zwangsläufig Spuren hinterlässt und auch Krankheiten nicht immer zu sichtbaren Spuren am Skelett führen müssen. In den letzten Jahrzehnten hat sich jedoch, wie unter 1.2.1.1 beschrieben, *Y. pestis* als ursächlich für die Justinianische Pest des 6. Jahrhunderts herausgestellt. Damit gibt es für diesen Zeitraum zumindest einen Krankheitserreger, der für den gleichzeitigen Tod mehrerer Menschen verantwortlich sein kann und zudem mit molekulargenetischen Analyseverfahren unter Umständen auch heute noch nachweisbar ist. Daher wurden die Skelette, bei denen zuvor noch kein Nachweis von *Y. pestis* versucht wurde, einem Screening nach spezifischen Plasmiden für diesen Krankheitserreger unterzogen. Unabhängig von der Frage nach der gemeinsamen Todesursache, stellt sich auch immer die Frage nach einer möglichen Verwandtschaft von zusammen bestatteten Individuen. Zur Beantwortung dieser Frage stehen in der Molekulargenetik viele Marker zur Verfügung, auf die im Folgenden einzugehen sein wird.

Im Falle der divergierenden Geschlechtszuweisungen kann seitens der Molekularbiologie die Bestimmung des genetischen Geschlechts erfolgen, um zu klären, ob in dieser Zeit tatsächlich einzelne Individuen mit Beigaben, die für ihr biologisches Geschlecht untypisch sind, beigasetzt wurden.

Um diese Fragen zu beantworten mussten im Zuge dieser Arbeit Protokolle, die auf die Beantwortung derselben zugeschnitten und für die Arbeit mit altem DNA-Material geeignet sind (s. u.), etabliert werden. Lediglich im Falle des Screenings auf die Anwesenheit von *Y. pestis* konnte auf Protokolle aus einer früheren Arbeit der Arbeitsgruppe (SEIFERT, 2013, SEIFERT ET AL., 2013) zurückgegriffen werden.

### 1.3 MOLEKULARGENETISCHE ANALYSEN AN SKELETTMATERIAL

Die Analyse alter DNA (aDNA) aus bodengelagerten Hartgeweben ist möglich, da die Moleküle unter bestimmten Voraussetzungen auch mehrere tausende Jahre im Erdreich erhalten bleiben können. Die negativ geladenen Molekülketten können an das Knochenmineral binden und so DNA-Mineral-Kolloide formen, die einige Zeit überdauern können (GRUNENWALD ET AL., 2014). Darüber hinaus kann auch eine Interaktion von DNA und Strukturproteinen wie dem Kollagen stattfinden (SOSA ET AL., 2013). Auf diese Weise weitgehend geschützt, können DNA-Moleküle – abhängig von den Liegebedingungen (KIRSANOW & BURGER, 2012)- theoretisch mehrere tausend bis hunderttausende Jahre im Erdreich lagern und überdauern, wenngleich authentische DNA-Sequenzen älter als eine Million Jahre eher unwahrscheinlich sind (WILLERSLEV & COOPER, 2005, ALLENTOFT ET AL., 2012).

Dadurch war es möglich, verwandtschaftliche Verhältnisse in einigen (prä-)historischen Bestattungen aufzuklären oder gar auszuschließen. Als Beispiele seien an dieser Stelle jedoch nur einige erwähnt: In vier neolithischen Mehrfachbestattungen aus Eulau konnte gezeigt werden, dass hier die üblichen Bestattungsmuster – vor allem die Lage der Toten – durchbrochen wurden, um genetische und im Falle von Nicht-Verwandten offensichtlich supragenetische Beziehungen zum Ausdruck zu bringen (HAAK ET AL., 2008). GAMBA ET AL. (2011) konnten zeigen, dass für Mehrfachbestattungen aus dem 15. Jahrhundert in einer spanischen Kirche Verwandtschaften der Bestatteten zum großen Teil ausgeschlossen werden können. In einer neolithischen Mehrfachbestattung zweier Männer mit sechs Kindern konnte gezeigt werden, dass die Individuen innerhalb der Bestattung entsprechend ihrer Verwandtschaft gruppiert wurden (KELLER ET AL., 2015).

Als besonders geeignetes Probenmaterial haben sich in vielen Untersuchungen Zähne erwiesen (z. B. GILBERT ET AL., 2005), vor allem wenn diese noch fest im Kieferknochen sitzen. Geschützt durch den Zahnschmelz, der das härteste Gewebe im Organismus darstellt, und den Kieferknochen sind Zähne zum einen gegenüber Kontaminationen von außen wesentlich resistenter als Knochen (PILLI ET AL. 2013) zum anderen konnte gezeigt werden, dass Dentin einen sehr guten Schutz gegen hydrolytischen Abbau der DNA als auch gegen enzymatischen Verdau darstellt (BRUNDIN ET AL. 2014). Daneben haben sich in neuesten Studien auch Felsenbeine, die dichtesten Knochen des Säugerskeletts, als besonders geeignet herausgestellt, da hier der Anteil endogener DNA am DNA-Gesamtgehalt besonders hoch ist (GAMBA ET AL., 2014). Da diese Studie erst nach dem Beginn der vorliegenden Arbeit erschienen ist, wurden für diese zunächst die zu der Zeit bevorzugten Zähne beprobt. Erst für einige Nachbeprobungen (siehe 2.3.2) konnten schließlich auch Felsenbeine berücksichtigt werden.

Allerdings akkumuliert die DNA trotz dieses Schutzes, bedingt durch wechselnde Umwelteinflüsse, chemische Veränderungen. Dies wiederum stellt die molekularbiologische

Arbeit mit bodengelagertem Material vor einige Herausforderungen, denen mit adäquaten Methoden begegnet werden muss.

### 1.3.1 Charakteristika und Authentifizierungsmerkmale alter DNA

Alte DNA weist einige Veränderungen zu moderner DNA auf, die bei der Bearbeitung besonders berücksichtigt werden müssen. Neben der durch die Degradation während der Liegezeit bedingten geringen Anzahl an Ausgangsmolekülen (WILLERSLEV & COOPER, 2005) liegen die Moleküle zusätzlich physikalisch und chemisch verändert vor. Häufig existieren nur noch sehr kurze DNA-Fragmente, da die Molekülketten hydrolytisch gespalten wurden. Die übliche Länge amplifizierbarer Fragmente liegt daher lediglich in einem Bereich von weit unter 100 bis etwa 500 Basenpaaren (bp) Länge (PÄÄBO, 1989, HÖSS ET AL., 1996, HOFREITER ET AL., 2014), wenngleich auch Ausnahmen aus besonderen Liegebedingungen bekannt und anerkannt sind (LAMBERT ET AL., 2002). Darüber hinaus sind die in den DNA-Ketten enthaltenen Basen zum Teil chemisch modifiziert. Die bei weitem häufigste Veränderung entsteht hierbei durch die Deaminierung der Base Cytosin (C; GILBERT ET AL., 2003A). Während viele chemische Veränderungen dazu führen, dass überhaupt keine DNA mehr aus einer Probe amplifiziert werden kann, führt die Veränderung einzelner Basen häufig zu einer Fehlpaarung der Basen während der PCR und in der Folge auch zu einer Transition, die eine Mutation vortäuschen kann. Im Falle der Deaminierung von C würde dabei eine Uracilbase (U) im DNA-Strang entstehen, welche während der Amplifikation nicht mehr mit Guanin (G) sondern stattdessen mit Adenin (A) paart. In einem erneuten Amplifikationszyklus würde gegenüber des A somit Thymin (T) statt C eingebaut (PÄÄBO, 1989, PÄÄBO ET AL., 2004) und somit in der Sequenz fälschlicherweise eine Mutation angenommen werden (C-zu-T-Transition; Typ II-Transition). Eine ausführliche Übersicht über die Charakteristika alter DNA geben BROWN & BROWN (2011; 118-124) und GRUPE ET AL. (2014; 479-503).

Ein weiteres Phänomen bei der Arbeit mit aDNA ist die Gefahr sogenannter (allelischer) Dropouts (BUTLER, 2010). Es handelt sich dabei um den Ausfall einzelner Sequenzen oder Allele in der PCR. Während dies bei uniparental vererbten Markern lediglich zum Fehlen einiger Abschnitte des Genoms führt, die somit für eine Auswertung nicht zur Verfügung stehen, hat dies vor allem Einfluss auf biparental vererbte Marker. Bei autosomalen short tandem repeats (STRs) beispielsweise kann durch PCR-basierte Methoden bei archäologischen Proben nie mit absoluter Sicherheit nachgewiesen werden, dass ein Individuum homozygot ist, also zweimal das gleiche Allel aufweist, da immer eine Restwahrscheinlichkeit bleibt, dass ein weiteres, im lebenden Organismus vorhandenes Allel nicht mehr amplifizierbar ist. Gleiches gilt für die genetische Geschlechtsbestimmung, bei der lediglich männliche Individuen mit einiger Sicherheit bestimmt werden können (siehe 1.3.5). Zwar kann durch wiederholte Amplifikation die Gefahr von

zufälligen Ausfällen einzelner Allele minimiert werden, jedoch muss bei der Auswertung vermeintlich homozygoter Individuen zumindest berücksichtigt werden, dass es sich hier um einen allelischen Dropout handeln kann.

Das Zusammenspiel aus geringer Startkopienzahl und chemischen Veränderungen der extrahierten Moleküle macht aDNA besonders anfällig für Kontamination modernen Ursprungs (WILLERSLEV & COOPER, 2005), weswegen für die erfolgreiche Arbeit mit altem Material bestimmte Voraussetzungen an die Räumlichkeiten und verwendeten Protokolle gestellt werden müssen (COOPER & POINAR, 2000, PÄÄBO ET AL., 2004, WIECHMANN ET AL., 2012). Die Einhaltung dieser Bedingungen ist neben vielen anderen ein Kriterium für die Authentizität der erhaltenen Ergebnisse.

### 1.3.2 Authentifizierungsmerkmale für Ergebnisse

In die Beurteilung der Authentizität möglicher Ergebnisse fließt bereits deren Entstehungsprozess mit ein. Die Arbeiten mit alten Proben sollten nach Möglichkeit in einem Gebäude(-trakt) stattfinden, der physikalisch von Bereichen, in denen andere molekularbiologische Arbeiten stattfinden, getrennt ist (LINDAHL, 1993). Während der Arbeit ist ein strenges „Einbahnstraßenprinzip“ einzuhalten, was nichts anderes bedeutet, als dass Proben bzw. alle Bearbeitungsschritte und -zwischenritte nur in einer Richtung den gesamten Bearbeitungsprozess und damit das Labor durchlaufen.

Auch die Protokolle für die Bearbeitung alter Proben sollten darauf ausgelegt sein, Kontaminationen zu vermeiden. Durch den Einsatz von Uracil-N-Glykosylase (Uracil-DNA-Glykosylase; UNG) kombiniert mit dem Nukleotid dUTP statt dTTP im PCR-Reaktionsmix kann zum einen eine Verringerung der Gefahr von Amplifikatübertragungen zwischen dem Post- und Prä-PCR-Bereich bewirkt werden (LONGO ET AL., 1990), welche eine der größten Kontaminationsrisiken bei der Arbeit mit aDNA darstellt (HUMMEL, 2003). Zum anderen können mit Hilfe dieses Enzyms auch durch Degradation entstandene U aus den Molekülen entfernt werden und somit die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse in Form von C-zu-T-Transitionen verringert werden (GILBERT ET AL., 2003B).

Ein weiteres Kriterium zur Beurteilung der gewonnenen Ergebnisse stellt das molekulare Verhalten selbst dar. Aufgrund der bereits beschriebenen Fragmentierung der Moleküle sollten kürzere Fragmente generell besser bzw. häufiger amplifizierbar sein als längere Fragmente (COOPER & POINAR, 2000, HOFREITER ET AL., 2014). Auch der Ausfall einiger Proben muss bei der Arbeit mit altem Material erwartet werden. Darüber hinaus kann auch eine Quantifizierung wertvolle Hinweise auf die Beurteilung der Ergebnisse liefern. Wenn in einer Reaktion eine genügend große Anzahl an Ausgangsmolekülen vorhanden war, kann dies die Authentizität der Ergebnisse unterstreichen. Startet eine Reaktion ausgehend von mehr als 1000 Molekülen

(HANDT ET AL., 1996), kann zum einen ausgeschlossen werden, dass es sich dabei um amplifizierte sporadische Kontaminationen handelt (COOPER & POINAR, 2000), zum anderen kann ausgeschlossen werden, dass Ergebnisse entweder auf falsch eingebaute Nukleotide durch Degradationsartefakte oder PCR-Fehler zurückgehen (HANDT ET AL., 1996, HOFREITER ET AL., 2001).

Daneben sind auch die allgemeingültigen Kriterien zur Beurteilung von PCR-Reaktionen auf Experimente mit aDNA anzuwenden. Hierzu zählt vor allem die Mitführung von Negativkontrollen sowohl bei der Extraktion als auch der Amplifikation der Proben-DNA (COOPER & POINAR, 2000), um mögliche Kontaminationen der verwendeten Chemikalien und Materialien auszuschließen, ebenso wie die Reproduzierbarkeit der erhaltenen Ergebnisse (WINTERS ET AL., 2011).

Eine ausführliche Zusammenfassung der Authentizitätskriterien für aDNA-Ergebnisse findet sich in COOPER & POINAR (2000) und PÄÄBO ET AL. (2004).

### **1.3.3 Marker zur Verwandtschaftsanalyse**

Zur Analyse verwandtschaftlicher Verhältnisse stehen unterschiedliche Marker zur Verfügung. Je nach Kombination dieser Marker können verschiedene Aussagen zum möglichen Verwandtschaftsgrad von Individuen getroffen werden.

#### **1.3.3.1 Mitochondriale DNA**

Neben der im Zellkern lokalisierten DNA besitzen auch die Mitochondrien einer Zelle ein eigenes Genom, das 16.569 bp lang ist und im Gegensatz zur nukleären DNA, die nur in zwei Kopien pro Zelle vorliegt, in mehreren hundert bis tausend Kopien pro Zelle zu finden ist (BUTLER, 2010).

Nach wie vor findet man im Feld der aDNA-Analyse am häufigsten Untersuchungen der mitochondrialen DNA (mtDNA). Die Ursache hierfür liegt vermutlich in der größeren Häufigkeit dieses Moleküls gegenüber der im Kern lokalisierten DNA, da hierdurch die Wahrscheinlichkeit der Erhaltung höher liegt (HOFREITER ET AL., 2001).

Bezogen auf verwandtschaftliche Beziehungen kann die mtDNA aufgrund ihres Vererbungsmodus Hinweise auf mütterliche Vererbungslinien liefern. Das Molekül wird über die Eizelle im Regelfall nur von der Mutter an alle Nachkommen weitervererbt. Da durch diesen uniparentalen Vererbungsmodus keine Rekombination stattfindet, wird die mtDNA als Haplotyp mehr oder weniger unverändert von Generation zu Generation weitergegeben. Veränderungen können dabei nur durch Mutationen entstehen. Für Abstammungsuntersuchungen wird häufig ein bestimmter Bereich der mtDNA, die sogenannte hypervariable Region oder Kontrollregion, untersucht (BUTLER, 2010). Die hypervariable Region kann dabei nochmals in drei Unterregionen geteilt werden, die üblicher Weise als HVR I, HVR II und HVR III bezeichnet

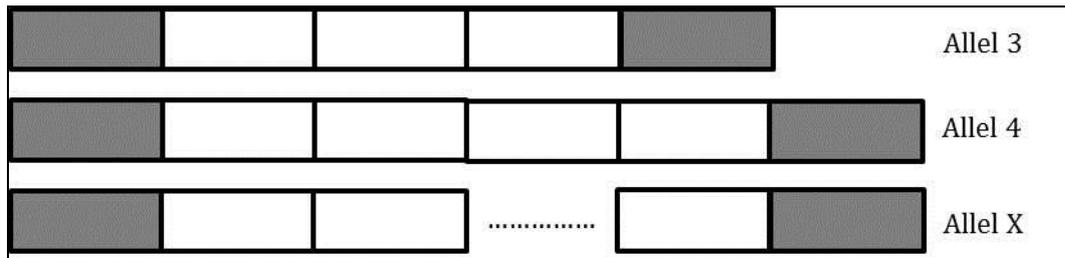
werden (BUTLER, 2010, GOODWIN ET AL., 2011). Es handelt sich dabei um einen Abschnitt, der nicht-kodierend ist und daher über die Zeit sehr viele Mutationen akkumuliert hat und sehr divers geworden ist. Für sämtliche Untersuchungen werden Mutationen gegenüber einer Referenzsequenz, der *revised Cambridge Reference Sequence* (rCRS; ANDREWS ET AL., 1999) untersucht. Durch die unveränderte Weitergabe von der Mutter auf all ihre Nachkommen, kann die mtDNA benutzt werden, um maternale Abstammungslinien aufzudecken und so Hinweise auf die Verwandtschaft von Personen liefern. Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass Agnes von Waiblingen die Mutter von Adalbert, einem Sohn Leopolds III., der in der Thronfolge zugunsten seines jüngeren Bruders Leopold IV übergegangen wurde, ist (BAUER ET AL., 2012). Weiterhin konnte die Annahme der Echtheit der Gebeine des Gründers von Stockholm, Birger Jarl, untermauert werden (MALMSTRÖM ET AL., 2012) und die sterblichen Überreste Ned Kellys identifiziert werden (BLAU ET AL., 2014).

Obwohl also die mtDNA das am häufigsten untersuchte Molekül in Studien zu alter DNA darstellt, sind die Aussagemöglichkeiten dieses Markers alleine für Verwandtschaftsuntersuchungen relativ begrenzt, da mit seiner Hilfe nur mütterliche Verwandtschaftslinien nachvollzogen und keine genauen Verwandtschaftsverhältnisse bestimmt werden können (BUTLER, 2010). So wurden auch in den oben genannten Untersuchungen zusätzliche Marker für eine genauere Charakterisierung der verwandtschaftlichen Verhältnisse herangezogen.

### 1.3.3.2 Y-chromosomale DNA

Analog zur mitochondrialen DNA wird die Y-chromosomale nur vom Vater vererbt. Im Unterschied zur mitochondrialen Vererbung wird das Y-Chromosom jedoch nur an alle männlichen Nachkommen eines Vaters weitergegeben (BUTLER, 2010). Untersucht werden dabei in der Regel sogenannte STRs in der nicht-rekombinierenden Region des Y-Chromosoms (NRY). Dabei handelt es sich um tandem-repetitive Marker, deren Allele sich durch eine gewisse Anzahl an Wiederholungen einer bestimmten Sequenz auszeichnen (Abbildung 2). Bei den Wiederholungseinheiten handelt es sich aus methodischen Gründen üblicherweise um Tetranukleotide, also um eine Wiederholungsfolge, die aus vier sich wiederholenden Nukleotiden besteht (BUTLER, 2010). Durch die Bestimmung der Länge eines Amplicons und Abgleich mit einer Standardleiter können die jeweiligen Allele einer Probe benannt werden.

Wie bei der mitochondrialen DNA wird die Y-chromosomale DNA wegen der mangelnden Rekombinationsmöglichkeit als Haplotyp vererbt. Der kurze Abschnitt, in dem das Y-Chromosom homolog zum X-Chromosom und damit rekombinationsfähig ist, wird sowohl für verwandtschaftliche als auch evolutionsbiologische Untersuchungen in der Regel ausgespart (BUTLER, 2010, JOBLING & TYLER-SMITH, 2003).



**Abbildung 2 | Prinzip der STRs.** Zwischen den Primerbindestellen (grau) befinden sich repetitive Sequenzen (weiß). Die einzelnen Allele unterscheiden sich in der Anzahl der jeweiligen Wiederholungseinheiten. Die Nomenklatur erfolgt üblicherweise anhand der Anzahl der wiederholten Einheiten, sodass Allel 4 vier Wiederholungseinheiten trägt, usw.

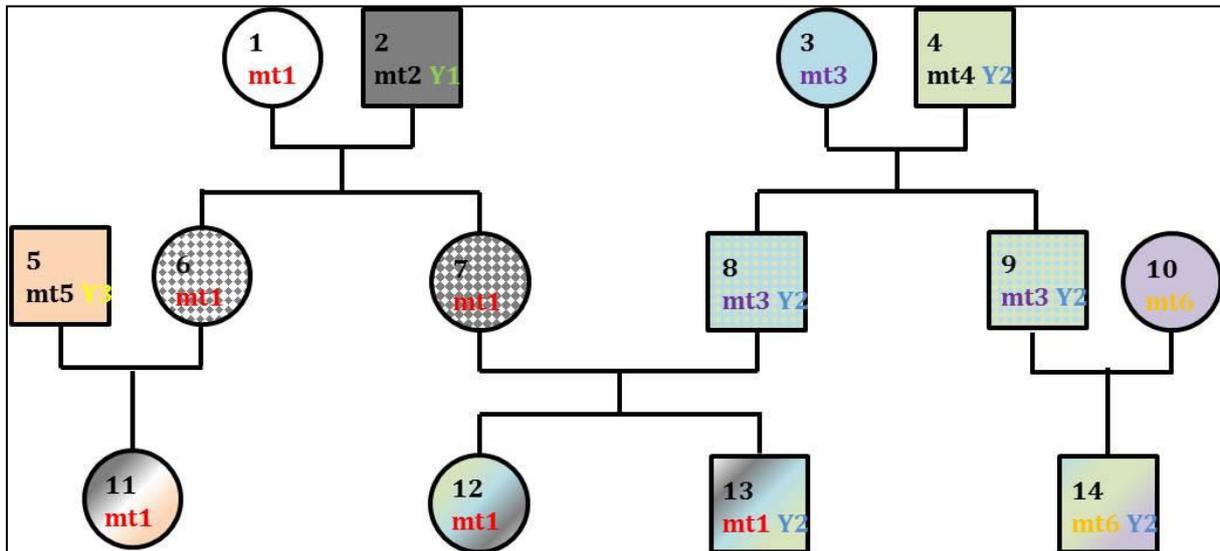
Auch hier können Veränderungen nur durch Mutationen der untersuchten Marker entstehen, sodass für Verwandtschaftsuntersuchungen paternale Abstammungslinien in Stammbäumen verfolgt werden können. Mit Hilfe dieser Marker konnten HAAK ET AL. (2008) die mit 4.600 Jahren bislang älteste Kernfamilie identifizieren, obwohl einige autosomale Marker für manche Individuen keine verwertbaren Ergebnisse lieferten. In einer weiteren Studie konnte anhand der Y-STRs für den spätantiken Fundplatz Erding, Kletthamer Feld eine familiäre Zusammengehörigkeit der dort bestatteten Männer ausgeschlossen werden und somit die Hypothese für die Existenz von Angehörigen eines Militärlagers erhärtet werden (SOFESO ET AL., 2012).

### 1.3.3.3 Autosomale Marker

Neben der mitochondrialen und Y-chromosomalen DNA sind autosomale Marker, also Marker, die nicht auf den Geschlechtschromosomen lokalisiert sind, für verwandtschaftliche Untersuchungen am aufschlussreichsten, da sie keinem uniparentalen sondern einem zufälligen, biparentalen Vererbungsmodus folgen (BUTLER, 2010). Auf diese Weise erhält jeder Nachkomme je eine Hälfte seiner Marker von Mutter und Vater. Die Aufteilung der elterlichen Allele erfolgt dabei zufällig. Auch bei den untersuchten autosomalen Markern handelt es sich in der Regel um STRs, die in nicht-kodierenden Regionen der jeweiligen Chromosomen liegen und physikalisch zumindest soweit getrennt voneinander liegen, dass sie unabhängig voneinander rekombinieren können (BUTLER & HILL, 2012). Unter Zuhilfenahme der Frequenzen der bestimmten Allele, für die mittlerweile für beinahe alle Regionen der Welt umfangreiche Datenbanken zur Verfügung stehen, kann somit eine Wahrscheinlichkeit für jedes Verwandtschaftsverhältnis ermittelt und damit die Hypothese einer Verwandtschaft untermauert oder verworfen werden (BUTLER, 2010, GOODWIN ET AL., 2011).

Im Gegensatz zu den mitochondrialen und Y-chromosomalen Markern, bei denen keine Unterscheidung von bestimmten Verwandtschaftsverhältnissen möglich ist (Abbildung 3), können mit autosomalen STRs verwandtschaftliche Verhältnisse näher eingegrenzt werden.

Das Verhältnis von Onkel und Nichte (Ind. 9 und 12 in Abbildung 3) kann wie in der Abbildung gezeigt häufig nur durch autosomale Marker greifbar sein, wenn auf der Ebene der mitochondrialen DNA keine Übereinstimmung vorliegt. Ähnliches gilt für das Verhältnis von Vater zu Tochter (Ind. 2, 6 und 7 in Abbildung 3).



**Abbildung 3 | Beispielhafter Stammbaum.** Wie im Stammbaum dargestellt, sind die Unterscheidungsmöglichkeiten der Verwandtschaftsverhältnisse anhand der mitochondrialen (mt1-6) und Y-chromosomalen DNA (Y1-3) weniger ausgeprägt als mit autosomalen Markern (Füllung der Formen). Während Geschwister (Individuen 6/7 und 8/9) mit den nicht-autosomalen Markern unter Umständen identisch erscheinen können, ist eine Unterscheidung anhand der autosomalen Marker möglich. Zwar sind sich enge Verwandte in diesen Markern sehr ähnlich, aber dennoch eindeutig unterscheidbar. Entferntere Verhältnisse wie Onkel-Nichte (Ind. 9, 12) sind in vielen Fällen nur durch autosomale Marker zu fassen. Ebenfalls erkennbar ist, dass alle Nachkommen einer Frau den gleichen mt-Haplotyp tragen (Ind. 1, 6, 7, 11, 12 sowie Ind. 3, 8, 9) und alle männlichen Nachkommen eines Mannes den gleichen Y-Haplotypen (Ind. 4, 8, 9, 13, 14). Kreise symbolisieren Frauen, Quadrate symbolisieren Männer.

Das größte Problem bei der Untersuchung der autosomalen STRs an altem Material stellt neben den erwarteten geringeren Erhaltungsaussichten der nukleären Marker die Länge der üblicherweise produzierten Amplicons der STRs dar. Diese liegen für die meisten Marker deutlich über 100 bis hin zu 450 bp, was häufig zu Ausfällen einzelner, insbesondere langer, Allele oder sogar ganzer Marker geführt hat (BUTLER, 2010). Daher hat die Arbeitsgruppe um J. M. Butler am *National Institute of Standards and Technology* in den letzten Jahren umfangreiche Studien zur Charakterisierung unterschiedlicher STR-Marker und vor allem zur Verkürzung deren Amplicons durchgeführt, um ihre Anwendungsmöglichkeiten für schwieriges Material zu verbessern (BUTLER ET AL., 2003, COBLE & BUTLER, 2005, HILL ET AL., 2008).

Obwohl mittlerweile ein Multiplex-Kit zur Amplifikation verkürzter Marker kommerziell erhältlich ist (AmpF $\ell$ STR® Minifiler™, Applied Biosystems), kann dieses nicht an die Verwendung des UNG-dUTP-Systems angepasst werden. Darüber hinaus ist die Markerauswahl an den amerikanischen Markt angepasst, sodass einige Marker integriert sind, für die in europäischen Datenbanken weniger Informationen zur Verfügung stehen, da sie hier nicht regelhaft untersucht werden. Daher wird in dieser Arbeit angestrebt eine Kombination aus

Markern zusammenzustellen, für die ausreichend Datenbankinformationen zur Verfügung stehen, und entsprechende Multiplex-Reaktionen unter Verwendung des UNG-dUTP-Systems für die Verwandtschaftsanalyse zu etablieren.

### 1.3.4 Verwandtschaftsanalyse mittels NGS

Die Weiterentwicklung der genetischen Methoden hat in den letzten Jahren dazu geführt, dass nunmehr mit der Technik des sogenannten Next Generation Sequencing (NGS) Moleküle während der Amplifikation sequenziert werden können. Damit war es erstmals möglich, vergleichsweise schnell und kostengünstig komplette Genome zu sequenzieren.

Die Technik hat seitdem in beinahe alle Bereiche der Genetik – und damit auch der Paläogenetik – Einzug gehalten, was vor allem in der Paläogenetik dazu geführt hat, dass populationsgenetische Studien nun mit einer sehr viel größeren Datenbasis durchgeführt werden können (z. B. MEYER ET AL., 2012, SKOGLUND ET AL., 2012, SCHIFFELS ET AL., 2016). Diese Untersuchungen beruhen derzeit hauptsächlich auf der Sequenzierung vollständiger mitochondrialer Genome (z. B. POSTH ET AL., 2016), da die nukleäre DNA in der Regel nicht zahlreich genug vorhanden ist, um komplette nukleäre Genome sequenzieren zu können, dennoch gelingt es durch ständige methodische Verbesserungen auf dem Feld zunehmend auch kerngenomische DNA aus den unterschiedlichsten Zeitstellungen zu untersuchen, wovon einige aktuelle Studien zeugen (z. B. ALLENTOFT ET AL., 2015, BROUSHAKI ET AL., 2016, FU ET AL., 2014, GAMBA ET AL., 2014, HAAK ET AL., 2015, LAZARIDIS ET AL., 2014, SCHIFFELS ET AL., 2016).

Auch für verwandtschaftliche Untersuchungen können komplette mitochondriale Genome verwendet werden und können hierbei sehr viel eindeutiger Ergebnisse liefern. Da sich die hypervariable Region jedoch aufgrund ihrer Eigenschaft als nicht-kodierende Region des mitochondrialen Genoms evolutionsneutral verhält und somit viele Mutationen anhäuft, kann sie für die Feststellung bzw. den Ausschluss von mütterlichen Verwandtschaften verwendet werden (BUTLER, 2010). In der Forensik wird sie daher immer noch regelmäßig untersucht (BUTLER, 2010, CHAITANYA ET AL., 2016).

Ein ähnlicher Sachverhalt trifft auf die Bestimmung der STRs zu. Zwar ist es prinzipiell möglich, diese mittels NGS-Verfahren zu analysieren, jedoch erfordert dies einigen Aufwand. Zunächst müssen für eine erfolgreiche Sequenzierung der repetitiven Sequenzen diese angereichert werden, was momentan am einfachsten durch PCR-Verfahren zu lösen ist (SCHEIBLE ET AL., 2014, CARBONI ET AL., 2015, CHURCHILL ET AL., 2016). In diesem Falle ist es wohl noch immer die schnellste Methode, eine PCR mit fluoreszenzmarkierten Primern durchzuführen und diese anschließend mit Kapillarsequenzierern elektrophoretisch aufzutrennen, wie es bisher üblich ist. Auch die Datenauswertung wird bei der Analyse von STRs mittels NGS vor eine besondere Herausforderung gestellt: Aufgrund der Ähnlichkeit der repetitiven Einheiten der verschiedenen

Marker (BUTLER, 2010, SCHEIBLE ET AL., 2014) ist es mit den derzeitigen Softwareoptionen nur wenig zufriedenstellend möglich, Sequenzen nach Markern aufzutrennen, richtig zu alignen und anschließend die Allele auch korrekt zuzuweisen (PHILLIPS ET AL., 2014, SCHEIBLE ET AL., 2014). Darüber hinaus sind einige der standardmäßig untersuchten Marker zu lang, um mit den derzeit üblichen *read*-Längen von etwa 400 bp untersucht werden zu können (PHILLIPS ET AL., 2014). Obwohl mittlerweile Kits für die Generierung von Daten zur genetischen Identifikation entwickelt werden konnten (BØRSTING & MORLING, 2015, CARBONI ET AL., 2015, CHURCHILL ET AL., 2016), bedarf vor allem die Auswertung der Daten noch einiger Optimierung, bevor sie routinemäßig angewendet werden kann (BØRSTING & MORLING, 2015). Dies trifft vor allem auch auf die besonderen Ansprüche der aDNA-Analyse zu.

Zwar können mit Hilfe von NGS-Verfahren zusätzliche Informationen gewonnen werden, da bei einigen STR-Markern längenidentische Allele existieren, die sich jedoch in ihrer exakten Sequenz unterscheiden (BUTLER, 2012), allerdings existieren für diese Sequenzvarianten noch keinerlei Daten über Häufigkeiten in Populationen, sodass der Mehrgewinn an Information derzeit für eine Auswertung nicht nutzbar ist. Darüber hinaus erfordert die Nutzbarmachung dieser zusätzlichen Sequenzvarianten zunächst eine Änderung der Nomenklatur der STR-Systeme, da diese bislang nur auf Längenvarianten ohne Berücksichtigung möglicher, seltener Sequenzvarianten beruhen (BØRSTING & MORLING, 2015, SCHEIBLE ET AL., 2014).

Zwar ist es prinzipiell möglich, Verwandtschaften auch mit genomischen SNPs zu bestimmen (LIPATOV ET AL., 2015), allerdings sind hierbei weit über 1.000 SNPs nötig, um auf eine statistisch ähnlich belastbare Aussage zu kommen wie mit üblichen STR-Kits (PHILLIPS ET AL., 2014). Diese Methode eignet sich daher besser, um in populationsgenetischen Studien, in denen ohnehin sehr große Datenmengen produziert werden müssen, die Verwandtschaft zwischen einzelnen Individuen einer Gruppe zu überprüfen.

Daher stellen STR-Systeme (in Kombination mit uniparentalen Markern) derzeit für rein verwandtschaftliche Fragestellungen immer noch die beste Methode dar, sodass es sinnvoll erscheint, diese in der vorliegenden Arbeit zu optimieren anstatt auf die – momentan im Trend liegenden – NGS-Verfahren umzustellen.

### 1.3.5 Molekulargenetische Geschlechtsbestimmung

Die molekularbiologische Bestimmung des Geschlechts eines Individuums erfolgt zumeist über die Amplifikation eines Bereichs des Amelogeningens, das auf den beiden Gonosomen lokalisiert ist und funktionell in die Zahnschmelzgenese involviert ist. Im ersten Intron dieses Gens besteht auf dem X-Chromosom eine Deletion von 6 bp. Bei Einsatz nur eines Primerpaares entstehen dabei in männlichen Individuen zwei Amplifikationsprodukte von 106 und 112 bp Länge und bei weiblichen Individuen nur ein Produkt von 106 bp Länge (ALONSO ET AL., 2004, MANNUCCI ET AL.,

1994, SULLIVAN ET AL., 1993). Auf diese Weise können bei Untersuchungen archäologischer Proben nur männliche Individuen mit einer hohen Sicherheit bestimmt werden. Zeigt ein Individuum zwei Amplifikationsprodukte oder das Y-spezifische Produkt, kann von einem männlichen Individuum ausgegangen werden. Weist ein Individuum nur ein X-spezifisches Amplifikationsprodukt auf, kann es sich um ein weibliches Individuum oder um ein männliches Individuum mit einem Y-allelischen Dropout in der PCR handeln. Um dies auszuschließen, müssen Ergebnisse aus aDNA immer reproduziert werden (WINTERS ET AL., 2011) und auch eine Quantifizierung verspricht hierbei höhere Sicherheit für erhaltene Ergebnisse (ALONSO ET AL., 2004).

### 1.3.6 Molekularer Nachweis von *Yersinia pestis*

Um die Anwesenheit des Erregers *Y. pestis* nachzuweisen, kann ein Fragment eines Plasmids, das spezifisch für die Art *Y. pestis* ist, amplifiziert werden. Für ein Screening auf die Anwesenheit von *Y. pestis* hat sich dabei die Amplifikation eines Abschnitts des *pla*-Gens auf dem pPCP1-Plasmid dieses Bakteriums erwiesen (WIECHMANN & GRUPE, 2005, SCHÜNEMANN ET AL., 2011, SEIFERT ET AL., 2013). Da dieses Gen jedoch auch in anderen, nahe verwandten Bakterienspezies vorkommen kann, muss die Spezifität des amplifizierten Fragments zusätzlich durch seine Sequenzierung bestätigt werden (HÄNSCH ET AL., 2015). Bei dieser Art des Nachweises kann lediglich die Anwesenheit eines Erregers als bewiesen gelten. Eine Nichtnachweisbarkeit ist dabei nicht gleichbedeutend mit einer Abwesenheit des Erregers, da immer die Möglichkeit besteht, dass, wie für humane DNA, in manchen Proben die entsprechenden Moleküle im Zuge der Degradation vollständig abgebaut wurden.

### 1.3.7 Quantitative Real-Time PCR in aDNA-Untersuchungen

Unter Punkt 1.3.2 wurde bereits darauf eingegangen, dass zur Untermauerung der Authentizität möglicher erhaltener Ergebnisse die Quantifizierung der Ausgangsmenge an DNA, die in einer Probe enthalten ist, als wichtiges Kriterium gilt. Ein Mittel der Wahl stellt hier die quantitative Real-Time PCR, auch als qPCR bezeichnet, dar. Dabei wird unter Verwendung eines Fluoreszenz-Signals in Echtzeit die Amplifikation in der Probe gemessen. Aus den entstehenden Amplifikationskurven bzw. dem Zeitpunkt, an dem die Fluoreszenz einen bestimmten Schwellenwert (*threshold cycle*;  $C_T$ ) überschreitet, kann unter der Voraussetzung, dass parallel ein Standard mitgeführt wurde, die Ausgangsmenge an DNA in einer Probe bestimmt werden (ALONSO ET AL., 2004, PRUVOST & GEIGL, 2004). Wenngleich sehr viele unterschiedliche Designvarianten der Real-Time PCR existieren, kommen im Feld der aDNA-Untersuchungen

hauptsächlich zwei zum Einsatz: Ansätze, die SYBR Green enthalten, und sogenannte TaqMan-Ansätze.

SYBR Green ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der etwa 1.000-mal stärker fluoresziert, wenn er an doppelsträngige DNA bindet. Er kann daher, wenn er einer PCR zugegeben wird, die Entstehung doppelsträngiger DNA während der Amplifikation sichtbar machen. Die Zunahme der Fluoreszenz pro PCR-Zyklus korreliert dabei mit der Entstehung neuer Moleküle in der Reaktion (PRUVOST & GEIGL, 2004).

Dagegen kommen in einem TaqMan-Ansatz sequenzspezifische Sonden zum Einsatz, die mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind. Für die Sichtbarmachung des Reaktionserfolgs wird die 3'-5'-Exonuklease-Aktivität der Taq-Polymerase ausgenutzt. Während des Annealings in der PCR binden sowohl die Primer als auch die Sonden, die an einem Ende ein fluoreszierendes Molekül und am anderen Ende ein Molekül, welches die Fluoreszenz des Farbstoffs unterdrückt (Quencher), solange beide Moleküle an die Sonde gebunden sind, tragen. Wenn die Polymerase ausgehend vom gebundenen Primer mit der Amplifikation der Zielsequenz beginnt, degradiert sie die Sonde, die ihr gewissermaßen im Weg sitzt. Auf diese Weise werden der Fluoreszenzfarbstoff und der Quencher voneinander getrennt und es kommt zu einer Fluoreszenzzunahme. Diese Zunahme findet im Gegensatz zu SYBR Green-basierten Ansätzen jedoch nur statt, wenn die spezifische Sequenz amplifiziert wird (ALONSO ET AL., 2003). Im Gegensatz zu einem Ansatz mit SYBR Green kann in einem TaqMan-Ansatz auch eine Multiplex-PCR stattfinden, bei der verschiedenen Produkte gleichzeitig amplifiziert werden können, wenn sie mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert wurden (ALONSO ET AL., 2003).

### 1.3.8 Methodische Fragestellungen

Im Rahmen dieser Arbeit sollten zur besseren Einordnung der erhaltenen Ergebnisse qPCR-Protokolle für die Amplifikation der hypervariablen Region des mitochondrialen Genoms etabliert werden. Ziel war es, ein Protokoll zur Quantifizierung der mtDNA anhand eines 100 bp langen Fragments aus der kodierenden Region der mtDNA zu etablieren.

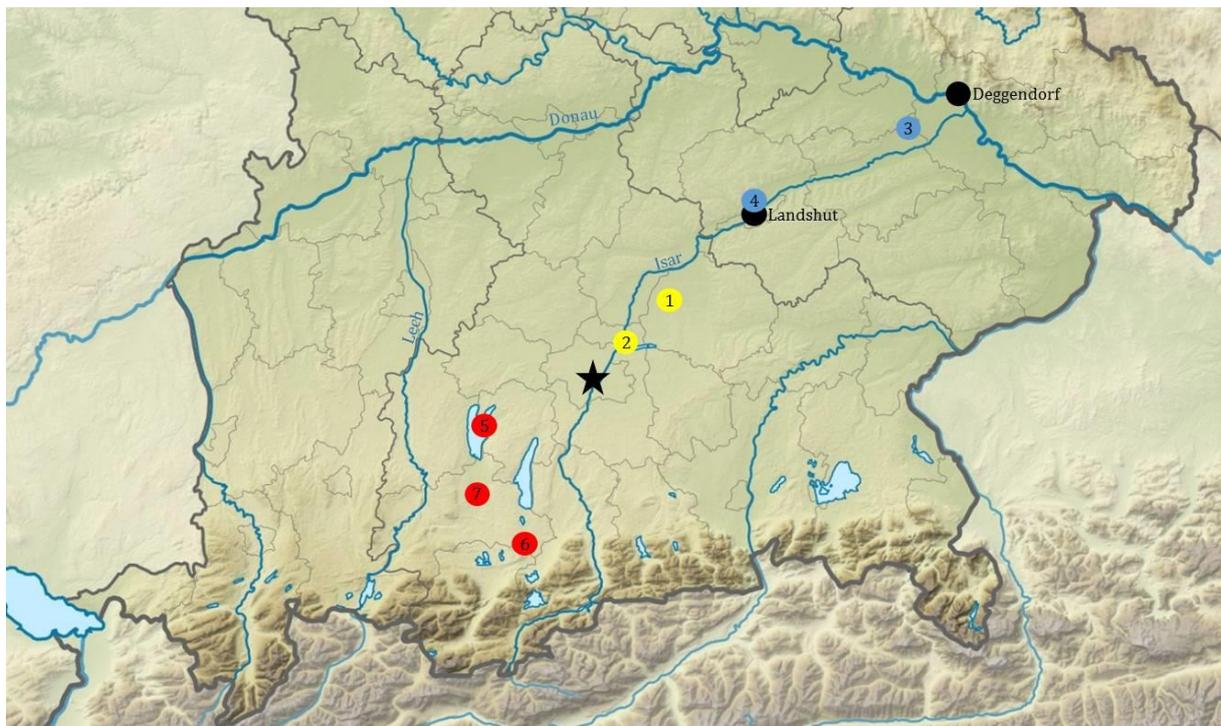
Zusätzlich sollten im Rahmen des Umzugs des aDNA-Labors vom Biozentrum der LMU in die Räume des ArchaeoBioCenter<sup>LMU</sup> PCR-Protokolle für sechs neue Primerpaare zur Amplifikation der HVR I des mitochondrialen Genoms etabliert werden. Auch diese sollten in einem SYBR Green-basierten Ansatz laufen. Die Etablierung der neuen Primerpaare war notwendig, um einen möglichen Eintrag von Amplifikaten und damit möglichen Übertragskontaminationen (*carry-over*) aus dem ehemaligen in das neue Labor zu vermeiden.

Des Weiteren sollten zwei Multiplex-PCRs zur Amplifikation sieben verkürzter STR-Marker und des Amelogenin-Markers zur Geschlechtsbestimmung etabliert werden. Auch soll im Rahmen

dieser Arbeit zum ersten Mal versucht werden die Amplifikation der STRs in einem Ansatz unter Anwendung des UNG-dUTP-Systems zu etablieren, um die Reaktion an die Voraussetzungen für die Arbeit mit aDNA besser anzupassen. Ein solcher Versuch ist bisher noch nicht dokumentiert. Es sollte ferner geprüft werden, ob die Quantifizierung als Screening-Methode verwendet werden kann, um zu entscheiden, ob Proben für eine Analyse der nukleären DNA geeignet sind. Weiterhin wurde ein Protokoll von ALONSO ET AL. (2004) zur Amplifikation und Quantifizierung geschlechtsspezifischer DNA-Fragmente zur Geschlechtsbestimmung von Individuen aus anthropologisch-archäologisch divergierenden Fällen an die Verwendung des UNG-dUTP-Systems angepasst, um in diesen Fällen das genetische Geschlecht der Bestatteten zu bestimmen. Diese Anpassung erfolgte im Rahmen einer Masterarbeit (IMMLER, 2013) unter Betreuung des Autors.

## 2 MATERIAL

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Mehrfachbestattungen von ausgewählten Gräberfeldern untersucht, die alle in das frühe Mittelalter (5. bis 8. Jahrhundert n. Chr.) datieren. Bei allen untersuchten Bestattungsplätzen handelt es sich um bajuwarische Gräberfelder. Dabei wurden Bestattungen aus unterschiedlichen Kontexten gewählt, wie im Folgenden kurz dargelegt werden soll. Soweit möglich wurden als Probenmaterial, den aktuellsten Empfehlungen von BURGER & BOLLONGINO (2010) bei Beginn der Arbeit folgend, Zähne und hier vorrangig Oberkiefermolaren entnommen und erst dann auf Knochenproben zurückgegriffen, wenn entweder keine Zähne zur Beprobung vorhanden waren oder deren Gesamtzustand zu schlecht für eine Probennahme erschien. Im Verlauf der Arbeit haben sich in neueren Untersuchungen Felsenbeine als besseres Material herausgestellt (GAMBA ET AL., 2014). Dies konnte nur für einige Nachbeprobungen in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt werden und wurde bereits in Kapitel 1.3 thematisiert. Auf die entsprechenden Nachbeprobungen wird in den folgenden Kapiteln gesondert eingegangen.



**Abbildung 4 | Karte des südlichen Bayern mit den hier bearbeiteten Fundplätzen.** Dargestellt sind die Fundplätze, von welchen in dieser Arbeit Proben aus Mehrfachbestattungen untersucht wurden. Die regulären Gräberfelder mit Mehrfachbestattungen sind in gelb dargestellt (1 = Altenerding, 2 = Aschheim-Bajuwarenstraße). In blau dargestellt sind Fundplätze, von welchen nur Männermehrfachbestattungen untersucht wurden (3 = Oberschneiding, 4 = Ergolding). Fundplätze mit Tuffsteinplattengräbern sind in rot markiert (5 = Herrsching a. Ammersee, 6 = Sindelsdorf, 7 = Wielenbach). Zur Orientierung auf der Karte ist München mit einem schwarzen Stern markiert.

Quelle der Karte: [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bavaria\\_relief\\_location\\_map.jpg?uselang=de](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bavaria_relief_location_map.jpg?uselang=de); Montage: A. Rott

Abbildung 4 zeigt eine Übersicht der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Fundplätze. Die Bestattungsplätze mit Tuffsteinplattengräbern befinden sich alle zwischen Isar und Lech. Die in dieser Arbeit untersuchten Reihengräberfelder (Nr. 1-4, Abbildung 4), von welchen teilweise nur Männermehrfachbestattungen untersucht wurden liegen entlang der Isar zwischen München und Landshut. Oberschneiding liegt nahe Deggendorf zwischen Isar und Donau.

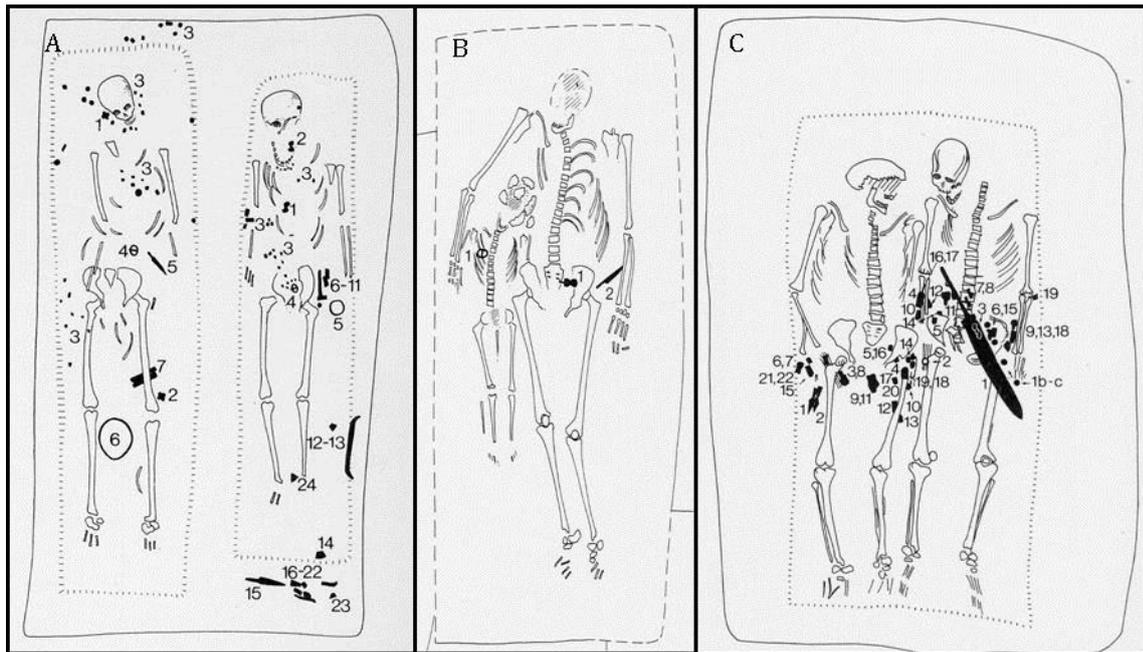
## **2.1 GRÄBERFELD ALTENERDING-KLETTAM**

Das Gräberfeld von Altenerding-Klettham (Abbildung 5) stellt ein typisches bajuwarisches Bestattungsareal dar. Mit über 1400 bestatteten Individuen zählt es zu den größten und am längsten belegten Reihengräberfeldern in Bayern und umfasst einen Zeitrahmen von der Mitte des 5. Jahrhunderts bis zum Ende des 7. Jahrhunderts (HAAS-GEBHARD, 2013, SAGE, 1984). Es gilt als wahrscheinlich, dass ein Gräberfeld dieser Größe nicht nur der Bestattungsplatz einer einzigen Dorfgemeinschaft war. Ein derart großer Friedhof ist vielmehr als ein zentrales Bestattungsareal für eine gesamte Siedlungskammer zu sehen (HAAS-GEBHARD, 2013, HAKENBECK, 2007). Allein durch seine Größe und Belegungsdauer finden sich in Altenerding auch Überschneidungen mit anderen „Themenblöcken“ dieser Arbeit.



**Abbildung 5 | Plan des Gräberfelds von Altenerding-Klettham** (Abbildung verändert nach HAKENBECK, 2007). Das Areal umfasst mehr als 1400 Bestattungen, ein Teil des Areals (freies Areal in der Mitte des Gräberfelds) war bereits vor der Ausgrabung durch den Bau eines Kanals gestört worden und konnte daher nicht mehr erfasst werden (SAGE, 1984).

Auf dem Gräberfeld wurden 1520 nachgewiesene Individuen in 1440 Gräbern bestattet (PLETERSKI, 2003, SAGE, 1984). Von diesen sind mindestens 14 Bestattungen mit mehr als einem Individuum als echte Mehrfachbestattungen im Sinne einer gleichzeitigen Beisetzung und mindestens 2 als Nachbestattungen nach LÜDEMANN (1990) anzusehen. Auffällig im Fundkomplex Altenerding-Klettham ist dabei, dass hier im Gegensatz zu anderen bajuwarischen Reihengräberfeldern (z. B. Aschheim-Bajuwarenring oder Ergolding, siehe auch 2.2 bzw. 2.4.2) maximal zwei Individuen gemeinsam bestattet wurden. Neben gemeinsamen Bestattungen einer Frau und eines Kindes (Abbildung 6A) konnten auch gemeinsame Bestattungen von Männern mit Kindern (Abbildung 6B) sowie zweier erwachsener Männer in voller Waffenrüstung (Abbildung 6C; siehe auch 2.4) nachgewiesen werden (vgl. auch Tabelle 1). Darüber hinaus befinden sich unter den frühmittelalterlichen Altenerdinger Mehrfachbestattungen auch zwei mit gemeinsam beerdigten Kleinkindern.



**Abbildung 6 | Beispiele für die Zusammensetzungen einiger Mehrfachgräber aus Altenerding.** A Gemeinsame Bestattung eines Kindes und einer Frau (AE 127 und AE 128); B Gemeinsame Bestattung eines senilen Mannes und eines Kindes (AE 1154 und AE 1155); C Gemeinsame Bestattung zweier adulter Männer in Waffenrüstung (AE 887 und AE 888). Abbildungen aus SAGE (1984), Montage: A. Rott.

Neun der insgesamt 16 Mehrfachbestattungen datieren in den Zeitraum zwischen dem 6. Jahrhundert und dem frühen 7. Jahrhundert (B. PÄFFGEN, persönliche Mitteilung), für den im frühmittelalterlichen Bayern die Ausbreitung des Erregers *Yersinia pestis* nachgewiesen werden konnte (HARBECK ET AL., 2013, WIECHMANN & GRUPE, 2005). Dies legte den Verdacht nahe, dass einige Mehrfachbestattungen im Zusammenhang mit der sogenannten Justinianischen Pest stehen könnten. Diese Gräber wurden im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit auch auf die Präsenz dieses Erregers hin untersucht, um die möglichen Umstände des Zustandekommens dieser Gräber ebenfalls zu beleuchten.

Eine genaue Auflistung der hier untersuchten zehn Bestattungen und der verwendeten Proben findet sich in Tabelle 1. Die Auswahl der beprobten Individuen erfolgte nach dem makroskopischen Erhaltungszustand der Skelette und ist daher in Bezug auf die zeitliche Datierung der Proben zufällig. Zusätzlich zu den Grab- und Individualnummern gibt die Tabelle Besonderheiten der Bestattungen an. Tabelle 1 zeigt ebenfalls, dass von den zehn ausgewählten Mehrfachbestattungen, sechs sicher in den Zeitraum fallen, der relevant für die Justinianische Pest ist (B. PÄFFGEN, persönliche Mitteilung). Da einige der ausgewählten Skelette jedoch aufgrund fehlender Beigaben nicht sicher datierbar sind, könnten sich unter diesen auch Individuen aus dem fraglichen Pestzeitraum finden.

**Tabelle 1 | Im Rahmen der Arbeit beprobte Skelette aus Mehrfachbestattungen des Fundplatzes Altenerding-Klettham.** Aufgeführt sind die Individualdaten der Bestatteten sowie Datierung, Besonderheiten und die Auswahl der Proben zur DNA-Analyse. Die Angaben zu Sterbealter und Geschlecht sind aus SAGE (1984) entnommen, die Datierungen der Mehrfachbestattungen wurden von B. PÄFFGEN vorgenommen (persönliche Mitteilung). Doppelgräber, deren Zeitstellung in der Tabelle grau hinterlegt ist, fallen in den für die Justinianische Pest relevanten Zeitraum. Die Bezeichnung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale.

Grab	Altersstufe	Geschlecht	Archäologische Datierung	Besonderheiten	Verwendete Proben
96 97	matur juvenil	weiblich männlich	Nicht näher eingrenzbar	Kommunikation; gemeinsamer Sarg	16; 27 26; 27
127 128	Infans II (ca. 8 Jahre) adult	indeterminiert weiblich	um 550		16; 36 26; 46
349 350	adult Infans II (ca. 6 Jahre)	weiblich indeterminiert	ca. 575 – 625	349 mit Kopf im Osten	17; 27 55; 85
468 469	Infans II (6-7 Jahre) adult	indeterminiert männlich	um 600; 500 - 550	468 ist Nachbestattung	55; 65 36; 44
887 888	adult adult	männlich männlich	620 - 650	Kommunikation; gemeinsamer Sarg; „Kriegerbestattung“	33; Felsenbein rechts 11; 36
1004 1005	Infans II (6-7 Jahre) Infans I (ca. 2-5 Jahre)	indeterminiert indeterminiert	560 – 600	Gemeinsamer Sarg	65; 75 64; 74
1154 1155	Senilis Infans I (ca. 5 Jahre)	männlich indeterminiert	620 - 660	Kommunikation	16; 36 75; 84
1175 1176	adult adult	weiblich männlich	um 550	Kommunikation	16; 47 26; 46
1184 1185	Infans I (3-4 Jahre) Infans I (2,5-3 Jahre)	indeterminiert indeterminiert	Nicht näher eingrenzbar	Kommunikation; lagen „Arm in Arm“; 1184 etwas älter als 1185	54; 55 64; 84
1223 1241	adult adult	weiblich weiblich	550 – 600 500 – 550	1223 ist Nachbestattung zu 1241	16; 46 16; 17

Beim Gräberfeld von Altenerding handelt es sich um eine sogenannte Altgrabung. Die Ausgrabung der Bestattungen fand bereits in den Jahren 1966 – 1973 (SAGE 1984) statt. Es ist nicht davon auszugehen, dass bei der Grabung selbst und auch bei den nachfolgenden Bearbeitungsschritten besondere Kontaminationsvermeidungsstrategien angewandt wurden, um Rücksicht auf eventuell nachfolgende molekularbiologische Untersuchungen zu nehmen. Daher wurde hier bei der Probennahme insbesondere darauf geachtet, nur Zähne, die noch fest im Kieferknochen sitzen, zu entnehmen. Lediglich in einem Fall (AE 887) wurde auf einen Teil des Felsenbeins zurückgegriffen, da keine verwendbaren Zahnproben vorhanden waren (siehe Tabelle 1). In zwei weiteren Fällen musste als zweite Probe auf je einen Zahn zurückgegriffen werden, der Spuren von Klebmitteln aufwies (AE 97, AE 1184).

## 2.2 GRÄBERFELD ASCHHEIM-BAJUWARENRING

Das Gräberfeld von Aschheim-Bajuwarenring zählt wie Altenerding-Klettham (siehe 2.1) zu den frühmittelalterlichen Reihengräberfeldern und umfasst insgesamt 430 Bestattungen. Eine Besonderheit dieses Bestattungsplatzes ist das Vorkommen vieler Doppelgräber (insgesamt 27 - 28) sowie einiger großer Mehrfachbestattungen (vier Dreifachgräber, ein Vierfach- und ein Fünffachgrab), die in einen Zeitraum fallen, für den das Auftreten der Justinianischen Pest nördlich der Alpen bereits lange vermutet wurde und mittlerweile auch als gesichert gelten kann (HARBECK ET AL., 2013, STASKIEWICZ, 2007, GUTSMIEDL, 2005, WIECHMANN & GRUPE, 2005). Da immer wieder gemutmaßt wird, dass gerade im Zuge größerer Seuchengeschehen Individuen unabhängig von familiären Bindungen gemeinsam bestattet wurden, um der großen Zahl gleichzeitig Verstorbener Herr zu werden, können diese Gräber darüber Aufschluss geben, ob familiäre Beziehungen unter derartigen Bedingungen zumindest teilweise bei der Bestattung berücksichtigt wurden. Tabelle 2 listet die hier untersuchten Individuen auf. In die Untersuchung wurden eine Fünffach-, eine Vierfach- und eine Dreifachbestattung mit einbezogen. Bei allen findet sich mindestens ein Individuum, das in vorherigen Untersuchungen positiv auf den Erreger *Y. pestis* getestet wurde (HARBECK ET AL., 2013). Daher ist bei allen Bestattungen davon auszugehen, dass deren Entstehung vor dem Hintergrund der Justinianischen Pest steht.

**Tabelle 2 | Skelette vom Fundplatz Aschheim-Bajuwarenring, die im Zuge der vorliegenden Arbeit beprobt wurden.** Es handelt sich dabei um eine Fünffach- (56 – 60), eine Vierfach- (76 – 82) und eine Dreifachbestattung (119 – 126). Aufgelistet sind die Befunddaten der Bestatteten sowie die Datierungen der Gräber, Besonderheiten und die jeweils für die DNA-Analyse ausgewählten Proben. Die morphologischen Befunde wurden von A. STASKIEWICZ erhoben und sind in GUTSMIEDL-SCHÜMANN (2010) veröffentlicht. Die Bezeichnung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale.

Grab	Altersstufe	Geschlecht	Archäologische Datierung <sup>1</sup>	Ergebnisse Screening <sup>2</sup>	Verwendete Proben
56 57	Matur Infans I (3-4 Jahre)	eher weiblich indeterminiert	580-600	Negativ Nicht getestet	17; 48 UK- Milchmolar; OK- Milchmolar
58	Spät matur – früh senil	männlich		Positiv	27; UK- Caninus
59 60	Matur mittel adult- mittel matur	männlich indeterminiert		Negativ Negativ	28; 48 23; 26
76	matur - senil	weiblich	530-570	Positiv	17; 38
77	Mittel matur – früh senil	eher männlich		Positiv	33; 36
78	Infans II (11-12 Jahre)	eher weiblich		Nicht getestet	36; OK- Caninus
82	Infans II (10-12 Jahre)	eher weiblich		Positiv	16; OK- Incisor
119	Früh adult (21-24 Jahre)	weiblich	525-550	Negativ	27; 46
120	Früh adult (20-23 Jahre)	weiblich		Positiv	26
126	Infans I (4-5 Jahre)	indeterminiert		Nicht getestet	UK- Milchmolar; OK- Milchcaninus

<sup>1</sup> nach GUTSMIEDL-SCHÜMANN 2010

<sup>2</sup> nach HARBECK ET AL. (2013)

Bei Individuum 120 vom Gräberfeld Aschheim musste vom üblichen Prozedere der Probenentnahme abgewichen werden. Da dieses Individuum bereits mehrfach für vorangegangene Untersuchungen beprobt wurde (siehe HARBECK ET AL., 2013, SEIFERT ET AL., 2013, WAGNER ET AL., 2014), konnte hier lediglich auf noch vorhandene Reste an Zahnmehl aus ebendiesen Voruntersuchungen zurückgegriffen werden. Dementsprechend wurde in diesem Fall auch nur ein Zahn statt der üblichen zwei als Ausgangsmaterial für die Untersuchungen verwendet.

### 2.3 TUFFSTEINGRÄBER

Bei den ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Tuffplattengräbern handelt es sich um eine Sonderform der Mehrfachbestattung. Während bei den oben genannten Bestattungen

davon auszugehen ist, dass eine gleichzeitige Beisetzung der Verstorbenen stattgefunden hat, ist bei den Tuffplattengräbern von einer sukzessiven Bestattung der Individuen auszugehen (DANNHEIMER, 1987). Die in den jeweiligen Tabellen aufgeführten morphologischen Basisdaten wurden, mit Ausnahme von Grab 9 aus Herrsching am Ammersee (TURNER, 2015), von Dr. Kristin von Heyking und M. Sc. Franziska Immler (AnthroArch GbR) erhoben. Die in den Tabellen angegebenen Datierungen basieren alle auf Radiokarbondatierungen, die im Auftrag des Bayerischen Landesamts für Denkmalpflege erhoben wurden (HABERSTROH, 2014; z. T. unveröffentlicht) und die im Rahmen der Auswertung für diese Arbeit zur Verfügung gestellt wurden. Die jeweiligen Datierungen sind in den entsprechenden Tabellen angegeben. Hierfür wurde die 1-Sigma-Spanne gewählt, da diese Datierung noch mit 68 % Wahrscheinlichkeit zutrifft und damit zumindest in einigen Fällen noch auf Generationen zur Hypothesenbildung rückgeschlossen werden konnte.

Die Bearbeitung der Proben aus den Tuffplattengräbern fand zum Teil im Rahmen einer durch den Autor betreuten Masterarbeit (TURNER, 2015) statt, die sich jedoch ausschließlich der mitochondrialen und zum Teil der Y-chromosomalen DNA widmete. Bei den jeweiligen Ergebnissen bzw. in den ausführlichen Ergebnistabellen im Anhang wird der jeweilige Urheber gesondert gekennzeichnet.

Da es sich bei den meisten in diesem Themenkomplex um Ossuarbefunde handelte, also um durchmischte Knochen mehrerer unterschiedlicher Individuen, wurde in diesem Fall die Beprobungsstrategie geändert. Da neben den Proben für die genetischen Untersuchungen auch solche für eine Radiokarbondatierung entnommen werden mussten, wurden lediglich Unterkiefer beprobt. Nur hier konnte zweifelsfrei sichergestellt werden, dass die beprobten Zähne und das beprobte Knochenstück aus dem Kieferknochen zum selben Individuum gehörten. Lediglich bei Einzelgräbern oder in Fällen, in denen unterschiedliche Knochen dennoch zweifelsfrei einem einzigen Individuum zugeordnet werden konnten, wurde zum Teil auf andere Proben zurückgegriffen.

Übersichtspläne zu den hier behandelten Fundplätzen finden sich erst im Diskussionsteil.

### **2.3.1 Herrsching am Ammersee**

Bei der hier teilweise untersuchten Grabgruppe aus Herrsching am Ammersee handelt es sich um einen Separatfriedhof, der 1982 bei einer Erweiterung des heutigen Friedhofs entdeckt und ergraben wurde (KELLER, 1995). Auf dem frühmittelalterlichen Friedhof, der vermutlich dem Herrengutshof einer politisch einflussreichen Familie zuzuordnen ist, lagen in 14 Gräbern 19 Bestattungen einer Frau, vier Kindern und 14 Männern vor (KELLER, 1995). Die Ausstattung der Gräber lässt den Schluss zu, dass die Gräber – zumindest zum Teil – sozial höhergestellten, wenn nicht sogar „adligen“ Personen zuzuordnen sind. So handelt es sich bei vier der Gräber (1, 2, 5

und 9) um Tuffplattengräber. Außerdem sind einige Bestattete mit Beigaben ausgestattet, die ihren sozialen Rang zu Lebzeiten verdeutlichen. So ist der Bestattete in Grab 9, welches aller Wahrscheinlichkeit nach das Gründergrab dieses Friedhofs darstellt, mit einer Gürtelgarnitur ausgestattet, die wohl nur wohlhabende, „adlige“ Personen sich leisten konnten und die darüber hinaus in einer langobardischen Werkstatt gefertigt wurde und als die älteste ihrer Art nördlich der Alpen gelten darf (KELLER, 1995). Ebenfalls als sozial besser gestellt muss mindestens einer der fünf Männer, die in Grab 10 bestattet wurden, gelten (KELLER, 1995).

Die Belegungsdauer des Friedhofs beginnt 620/ 630 mit der Anlage von Grab 9 und einer auf dieses Grab bezogenen Holzkirche, der später eine Steinkirche folgt, und endet vermutlich kurz nach 700 mit dem Abbruch eben jener Steinkirche (KELLER, 1995).

Tabelle 3 listet die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Individuen aus den Gräbern 9 und 10 auf.

**Tabelle 3 | Untersuchte Individuen des Fundplatzes Herrsching am Ammersee mit ausgewählten Proben.** In die Untersuchungen wurden das Individuum aus Grab 9 sowie drei Individuen mit sicher zuzuordnenden Proben aus Grab 10 einbezogen. Aufgelistet sind die biologischen Basisdaten, die C14-Datierung ( $1\sigma$ ) der Individuen und die jeweils verwendeten Proben. Die Datierung von Grab 9 ist KELLER (1995) entnommen. Die Benennung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale. \* = Archäologische Datierung.

Grab	Individuum	Altersstufe	Geschlecht	C14-Datierung	Besonderheiten	Verwendete Proben
9		40-60	männlich	620/630*	Steinplattengrab	17; 46
10	1	40-50	männlich	723 – 888	Erdgrab	46; 48
	3	20-40	männlich	692 – 866		47; 48
	4	40-70+	männlich	618 – 674		17; 27

### 2.3.2 Wielenbach

Die hier untersuchten Bestattungen aus Wielenbach (Lkr. Weilheim-Schongau) stammen aus einem kleinen Gräberfeld am Ortsrand der heutigen Siedlung, das 1965 bei der Verlegung eines Kabels entdeckt wurde (DANNHEIMER, 1974, DANNHEIMER, 1987). Insgesamt umfasst das Gräberfeld etwa 60 geborgene Gräber, die Belegungszeit ist nicht vor dem 7. Jahrhundert zu datieren (DANNHEIMER, 1974, DANNHEIMER, 1987). Aufgrund der Grabsitte vermutet DANNHEIMER (1987) hier trotz der allgemeinen Beigabenarmut die Grablege einer sozial höhergestellten Familie. Hierfür spricht nach Meinung des Autors neben einer vermuteten Eigenkirche nahe dem Gräberfeld auch die lange Nutzungsdauer der Tuffplattengräber, die gegen eine Nutzung ähnlich einem regulären Reihengräberfeld sprechen.

Untersucht werden sollten die Mehrfachbestattung 34 sowie das daran angegliederte Grab eines subadulten Individuums (Grab 32), das mit golddurchwirktem Gewebe beigesezt wurde. Außerdem wurde die Mehrfachbestattung 20 in die Untersuchungen mit eingeschlossen. Tabelle 4 gibt eine Übersicht über die untersuchten Individuen und die jeweils verwendeten Proben.

Im Fall von Wielenbach mussten aus Grab 34 Individuen nachbeprobte werden. In diesem Fall konnte somit auf die besser geeigneten Felsenbeine (GAMBA ET AL., 2014) zurückgegriffen werden. Zusätzlich konnte durch diese Art der Beprobung die Anzahl von Individuen in der aDNA-Analyse von zwei auf vier erhöht werden.

**Tabelle 4 | Auswahl der untersuchten Individuen aus Wielenbach.** Untersucht wurde die Sechsfachbestattung aus Grab 20 sowie die Mehrfachbestattung Grab 34 mit dem daran angegliederten Einzelgrab 32. Aufgelistet sind die bekannten Individualdaten der Bestatteten, ebenso wie die C14-Datierung ( $1\sigma$ ), Besonderheiten und die ausgewählten Proben für die DNA-Analyse. Aus der Mehrfachbestattung 34 wurden zusätzlich zu den Zähnen auch Felsenbeine entnommen (Kennzeichnung der Proben durch Buchstaben), da hierüber mehr Individuen sicher unterschieden werden konnten. Die Benennung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale.

Grab	Individuum	Altersstufe	Geschlecht	C14-Datierung	Besonderheiten	Verwendete Proben
20	1	20-40	männlich	776 – 886	Steinplattengrab	26; 38
	2	-	männlich	773 – 885		46; 47
	3	-	weiblich	727 – 882		Ramus mandibulae
	4	-	männlich	778 – 888		35; 36
	5	-	eher weiblich	678 – 778		34; 35
	6	-	eher männlich	889 – 980		32; 45
32	1	2,5-3	eher weiblich	668 – 770	Einzelgrab an Grab 34 angebaut; Goldfäden und dreilagiger Knochenkamm als „Beigaben“	64; 74
34	1	20-40	eher männlich	779 – 891	Steinplattengrab	46; 48
	2	20-40	eher männlich	681 – 801		36; 46
	A	-	-	-		jeweils Felsenbein re. +li.
	B	-	-	-		Felsenbein re.
	C	-	-	-		
	D	-	-	-		

### 2.3.3 Sindelsdorf

Von dem frühmittelalterlichen Reihengräberfeld in Sindelsdorf wurden in den Jahren 1978 – 1981 insgesamt 331 Gräber freigelegt. Da einige der Gräber bereits durch Bauarbeiten zerstört waren und andere bisher nicht freigelegt werden konnten, gehen Schätzungen davon aus, dass nur etwa 75 % des gesamten Gräberfeldes erfasst wurden und die Gesamtgröße bei mehr als 450 Bestattungen liegen müsste (MENKE & MENKE, 2013). Die Belegungsdauer wird von der 1. Hälfte des 6. Jahrhunderts bis in das frühe 8. Jahrhundert datiert. Die Anordnung der Gräber in kleineren Gruppen ließ hier von archäologischer Seite die Vermutung von familiären Strukturen in bestimmten Arealen aufkommen. Dabei stach besonders das in dieser Arbeit untersuchte

Grab 200 als einziges Tuffplattengrab aus der Masse der Bestattungen heraus, das mit den umgebenden Erdbestattungen 208, 212 und 217 (Tabelle 5) aufgrund seiner Lage assoziiert zu sein scheint (MENKE & MENKE, 2013).

**Tabelle 5 | Untersuchte Individuen vom Fundplatz Sindelsdorf.** In der Tabelle sind die Basisdaten, die C14-Datierung ( $1\sigma$ ) und die jeweils verwendeten Proben gelistet. Die Benennung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale.

Grab	Altersstufe	Geschlecht	C14-Datierung	Besonderheiten	Verwendete Proben
200	21-24	weiblich	666 – 770	Steinplattengrab mit reichen Beigaben	46; 47
208	50-70	männlich	674 – 776	Erdgräber	46; 47
212	35-50	eher männlich	603 – 660		37; 38
217	40-60	eher männlich	649 – 765		26; 27

## 2.4 KRIEGERBESTATTUNGEN

Zusätzlich zur Kriegerdoppelbestattung aus Altenerding (siehe unter 2.1) wurden weitere derartige Bestattungen aus Oberschneiding und Ergolding für diese Arbeit ausgewählt. Während Mehrfachbestattungen allgemein über die gesamte Merowingerzeit auftreten, können Kriegerbestattungen im bajuwarischen Raum erst im Laufe des 7. Jahrhunderts angesprochen werden und beschränken sich in diesem Gebiet daher auf die jüngere Merowingerzeit (SCHNEIDER, 2008, STEUER, 2008).

### 2.4.1 Oberschneiding

Bei dem Grab aus Oberschneiding handelt es sich vermutlich um die Bestattung dreier Männer in Waffenausrüstung, die bei einer Ausgrabung im Jahre 2011 entdeckt wurden (HUSTY ET AL., 2012). Bei der Freilegung einer keltischen Viereckschanze wurde in Oberschneiding eine 24 Gräber umfassende Grabgruppe entdeckt, die vom späten 7. bis in das frühe 8. Jahrhundert datiert. Darunter die durch einen Kreisgraben markierte Dreifachbestattung (Befund 159), die in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich verwandtschaftlicher Beziehungen untersucht werden soll. Die morphologische Untersuchung der Individuen erfolgte durch Dr. K. von Heyking (AnthroArch GbR), jedoch konnten wegen der schlechten Erhaltung der Individuen nicht alle diagnostisch wichtigen Merkmale beurteilt werden, weshalb die Altersbestimmung hier sehr weit gefasst wurde und in zwei Fällen eine Beurteilung des morphologischen Geschlechts nicht möglich war (Tabelle 6). Aufgrund der bereits erwähnten relativ schlechten Erhaltung der

Skelette konnte bei diesen Individuen nicht immer auf Zähne als Untersuchungsmaterial zurückgegriffen werden. Eine genaue Auflistung der untersuchten Proben zeigt Tabelle 6.

**Tabelle 6 | Individuen aus der Männermehrfachbestattung Befund 159 von Oberschneiding.** Aufgrund der schlechten Erhaltung konnte nicht bei allen Individuen auf Zähne als Probenmaterial zurückgegriffen werden. Die morphologische Untersuchung der Individuen erfolgte durch K. von Heyking. Die Benennung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale.

Individuum	Altersstufe	Geschlecht	Archäologische Datierung	Besonderheiten	Verwendete Proben
1	adult - matur	eher weiblich	um 700	„Kriegerbestattung“	43; 46
2	spätjuvenil - matur	indeterminiert			15; 37
3	adult - matur	indeterminiert			Femur rechts; Schädelkalotte

## 2.4.2 Ergolding

Das Gräberfeld von Ergolding-Hagnerleiten wurde in den Jahren 1997 bis 2002 freigelegt. Insgesamt konnten hier 446 Gräber mit insgesamt 460 Bestatteten geborgen werden, die vom 7. bis ins frühe 8. Jahrhundert datieren (KOCH, 2014, KOCH & STELZLE-HÜGLIN, 2001). Neben fünf „Leergräbern“ konnten hier mehrere Doppelbestattungen, eine Dreifachbestattung (Grab 187, Tabelle 7) und eine Sechsfachbestattung (Grab 244) freigelegt werden. Grab 244 nimmt im Untersuchungsraum eine besondere Stellung ein, da in die Sechsfachbestattung ebenfalls Brandbestattungen von mind. 3 weiteren Individuen eingebracht wurden (KOCH, 2014). Das zweikammerige Grab 244 war daher schon früher Gegenstand einer Verwandtschaftsanalyse (VANEK ET AL., 2009). Sowohl bei Grab 187 und 244 wie auch einigen anderen Doppelbestattungen handelt es sich um sogenannte Männermehrfachbestattungen oder Kriegerbestattungen, die sich durch umfangreiche Waffenbeigaben auszeichnen und bei denen durch die Lage der Toten zueinander persönliche Beziehungen zum Ausdruck gebracht wurden. Die drei Individuen aus Grab 187 sollten in der vorliegenden Arbeit auf eine verwandtschaftliche Verbindung hin untersucht werden. Da bereits Ergebnisse für diese Individuen vorlagen (M. HARBECK, unpublizierte Daten), musste in der vorliegenden Arbeit nur noch eine Reproduktion der vorhandenen Daten stattfinden. Daher wurde hier vom üblichen Beprobungsprotokoll abgewichen und nur eine Probe je Individuum entnommen.

**Tabelle 7 | Individuen aus einer der Männermehrfachbestattungen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden.** Da ein Teil der Ergebnisse bereits vorlag, wurde pro Individuum nur noch eine Probe zur Reproduktion der Ergebnisse entnommen. In Klammern sind die Proben der vorherigen Untersuchung mitaufgeführt. Die Benennung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale.

Grab	Individuum	Altersstufe	Geschlecht	Datierung	Besonderheiten	Verwendete Proben
187	a	mind. adult	männlich	-	„Kriegerbestattung“	(37); 36
	b	mind. adult	männlich			(Fragment Femur li.); Fragment Femur re.
	c	mind. adult	männlich			(47); 45

## 2.5 BESTATTUNGEN MIT WIDERSPRÜCHLICHER GESCHLECHTSZUWEISUNG

Die untersuchten Bestattungen mit einer widersprüchlichen Geschlechtszuordnung seitens der Archäologie und der Anthropologie stammen von unterschiedlichen Fundplätzen, da derartige Befunde erwartungsgemäß sehr selten auftreten. Die genetische Bearbeitung der Proben und die morphologische Befunderhebung fanden im Rahmen einer an diese Arbeit angegliederte Masterarbeit statt (IMMLER, 2013), die vom Autor betreut wurde. Die Auswahl der zu beprobenden Individuen erfolgte durch Frau Dr. Brigitte Haas-Gebhard und Herrn Dr. Tobias Gärtner. Tabelle 8 gibt einen Überblick über die untersuchten Individuen sowie die Ergebnisse der Masterarbeit. Einige der Individuen stammen vom Gräberfeld Straubing-Bajuwarenstraße, das eines der weiteren großen Gräberfelder im frühmittelalterlichen Bayern darstellt (GEISLER, 1998, HAAS-GEBHARD, 2013). Ebenfalls von einem großen Gräberfeld stammt das Individuum aus München-Aubing. Weitere untersuchte Fundplätze sind Aschheim-Wasserturm, Pliening, Weiding, Künzing-Bruck, Sindelsdorf, Peigen und Steinhöring. Unter dem Punkt „Frauen in Waffen“ befinden sich anthropologisch als weiblich bestimmte Individuen, die mit einer typisch männlichen Grabausstattung - Waffen oder Gürtelgarnituren - beigesetzt wurden. Der Punkt „Männer mit Frauenausstattung“ umfasst morphologisch männliche Individuen, die mit Beigaben bestattet wurden, die typischerweise mit der weiblichen Sphäre in Verbindung gebracht werden, wie Perlen und Schmuck, Kämmen und Fibeln. Bei den Individuen mit Mischinventaren handelt es sich um zwei Subadulte, deren Beigaben sowohl zum Teil männlich als auch weiblich assoziiert sind. Hierbei handelt es sich um Schmuck- und Waffenbeigaben sowie in einem Fall der Beigabe einer Waage (GÄRTNER ET AL., 2014). Zuletzt wurden „Frauengräber mit Pfeilspitzen“ in die Untersuchung miteinbezogen. Hierbei handelt es sich um Grabbeigaben, die zum Teil aufgrund der Lage im Grab als Amulettbeigaben interpretiert werden können, zum Teil könnte es sich dabei aber auch um Reste einer beraubten Waffenausstattung handeln. Eine ausführliche Beschreibung der Grabfunde und deren Einordnungen in männlich und weiblich assoziierte Beigaben findet sich in (GÄRTNER ET AL., 2014).

**Tabelle 8 | Grabbefunde mit widersprüchlichen Geschlechtsansprachen.** Bei den aufgeführten Individuen widersprechen sich die anthropologische und die archäologische Geschlechtsansprache. Es sind jeweils die Ergebnisse anthropologischer Vor- oder Kurzbefundungen sowie die Datierung und Beigabenausstattung aufgelistet. Die Benennung der Zahnproben erfolgt nach dem Schema der Fédération Dentaire Internationale. Die Tabelle ist in leicht veränderter Form IMMLER (2013) bzw. GÄRTNER ET AL. (2014) entnommen. w = weiblich; m = männlich; indet. = indeterminiert.

Fundplatz	Grab	Altersstufe	Geschl.	Geschl. (Immler, 2013)	Archäolog. Datierung	Beigaben	Verwendete Proben
<b>Frauen mit Waffen</b>							
Straubing	388	frühmatur	w	m	550 – 600	Schnalle am Becken, Franziska, Tasche	Fragment der rechten und linken Tibia
Straubing	490	frühadult	w	m	um 600	2 Altfibeln im Bauchbereich, Spatha, Sax, Lanze	17; 26
Aschheim	9	frühmitteladult	w	m	um 600	Lanze, Pfeilspitzen, Tasche	Fragment der rechten und linken Tibia
Pliening	62	adult	w	m	625 – 650	Vielteilige Gürtelarnitur, Sax	46; 47
Weiding	121	adult	w	m	500 – 650	Sax, Messer	17; 28
Weiding	160	adult	w	m	Um 700	Sax, Beinkleidung, Tasche	37; 38
<b>Männer mit Frauenausstattung</b>							
Straubing	26	matur	m	m	500 – 550	Perlen, Kamm, Schnalle am Becken	17; 28
Aubing	490	adult	m	w	650 – 700	Perlen, Fibel, Bronzearmring, Eisenschnalle in Kniegegend	16; 46
Künzing	249	frühadult	m	w	580 – 630	Perlen, Bronzenadel, Gehänge	26; 28
Straubing	717	frühadult	m	w	530 – 560	Bügelfibeln, S-Fibeln, Ring, Bronzenadel, kleines Messer, Schuhschnallen, Perlen, Kamm, Tongefäß	36; 46
Sindelsdorf	232	-	-	m	650 – 700	Perlen, Nadel	17; 26; 36; Fragment der rechten und linken Tibia; Pars petrosa
<b>Mischinventare</b>							
Straubing	295	infans I	indet.	indet.	550 – 600	Perlen, Kamm, dreiteilige Gürtelgarnitur, Sax, Pfeilspitzen	55; 64; 65
Straubing	459	juvenil	indet.	w	um 600	Perlen, Spinnwirtel,	16; 25

Fundplatz	Grab	Altersstufe	Geschl.	Geschl. (Immler, 2013)	Archäolog. Datierung	Beigaben	Verwendete Proben
						Waage, Schnalle am Becken	
<b>Frauengräber mit Pfeilspitzen</b>							
Peigen	232	frühadult	w	m	500 - 700	2 Pfeilspitzen am Oberkörper	16; 18
Steinhöring	138	adult	w	w	625 - 675	Perlen, Pfeilspitze am Becken	36; 46
Steinhöring	172	-	w	w	Um 650	Pfeilspitze zwischen Oberschenkeln	37; 48

### **3 METHODEN**

Für den Nachweis der Authentizität genetischer Daten aus bodengelagertem Material ist eine Quantifizierung der in den Proben enthaltenen, spezifischen DNA-Moleküle essentiell (COOPER & POINAR, 2000). Als Zeitpunkt für die Etablierung von PCR-Protokollen, mit denen dies erzielt werden kann, wurde der Umzug des aDNA-Labors der AG Anthropologie und Umweltgeschichte aus den Räumen im Biozentrum Martinsried in neue Räumlichkeiten des ArchaeoBioCenters der LMU gewählt, in den die vorliegende Arbeit fällt. Gleichzeitig wurde der Umzug als Anlass für die Etablierung neuer Protokolle zur Amplifikation der mitochondrialen HVR I genommen, um Amplifikatübertragungen aus den alten Laborräumen zu verhindern. Daher wurden im Zuge dieser Arbeit zunächst neue Protokolle zur Quantifizierung und Amplifikation der alten DNA von bereits vorhandenen Proben aus Burgweinting (5. Jahrhundert) etabliert und gegebenenfalls angepasst. Im folgenden Abschnitt werden daher kurz die prinzipiellen Methoden und getesteten Protokolle dargestellt. Eventuelle Probleme bei der Anwendung der Protokolle, daran vorgenommene Veränderungen und Endprotokolle werden später im Ergebnis- und Diskussionsteil dargelegt. Eine Auflistung aller verwendeten Geräte und Chemikalien findet sich im Anhang in Tabelle A 6 bis Tabelle A 9.

#### **3.1 PROBENENTNAHME**

Das bevorzugte Material für die Extraktion von genetischem Material aus archäologischen Knochenfunden zu Beginn der vorliegenden Arbeit stellten intakte, mehrwurzelige Zähne dar, die noch im Kieferknochen sitzen. Geschützt durch den Kieferknochen und die stark mineralisierte Zahnkrone sind die Erhaltungsaussichten für DNA in der Pulpahöhle des Zahnes vergleichsweise hoch. Darüber hinaus weisen Zähne durch eben diese Bedingungen eine relativ zu Knochen höhere Resistenz gegen Kontaminationen mit exogener DNA auf (PILLI ET AL., 2013). Neuere Studien zeigen jedoch, dass neben Zähnen auch das Felsenbein ein geeignetes Material zur Gewinnung genetischer Daten darstellt. Dieser dichteste Knochenabschnitt im Säugerskelett zeichnet sich hierbei vor allem durch einen sehr hohen Anteil endogener DNA sowie einer verglichen mit Zähnen sehr hohen Anzahl vorhandener Moleküle aus (GAMBA ET AL., 2014). Dementsprechend wurden auch in der vorliegenden Arbeit zunächst bevorzugt Zähne, vor allem Oberkiefermolaren, als Probenmaterial ausgewählt. Die Auswahl der Proben und deren Kombination erfolgten dabei nach den Vorschlägen zur Probenentnahme von BURGER & BOLLONGINO (2010). Bei späteren Entnahmen wurden ebenfalls Felsenbeine als Proben für die Analysen gewählt. Die Entnahme der Proben selbst fand ebenfalls nach den Kriterien dieser Autoren statt. Die Proben wurden in Räumen entnommen, in denen keine

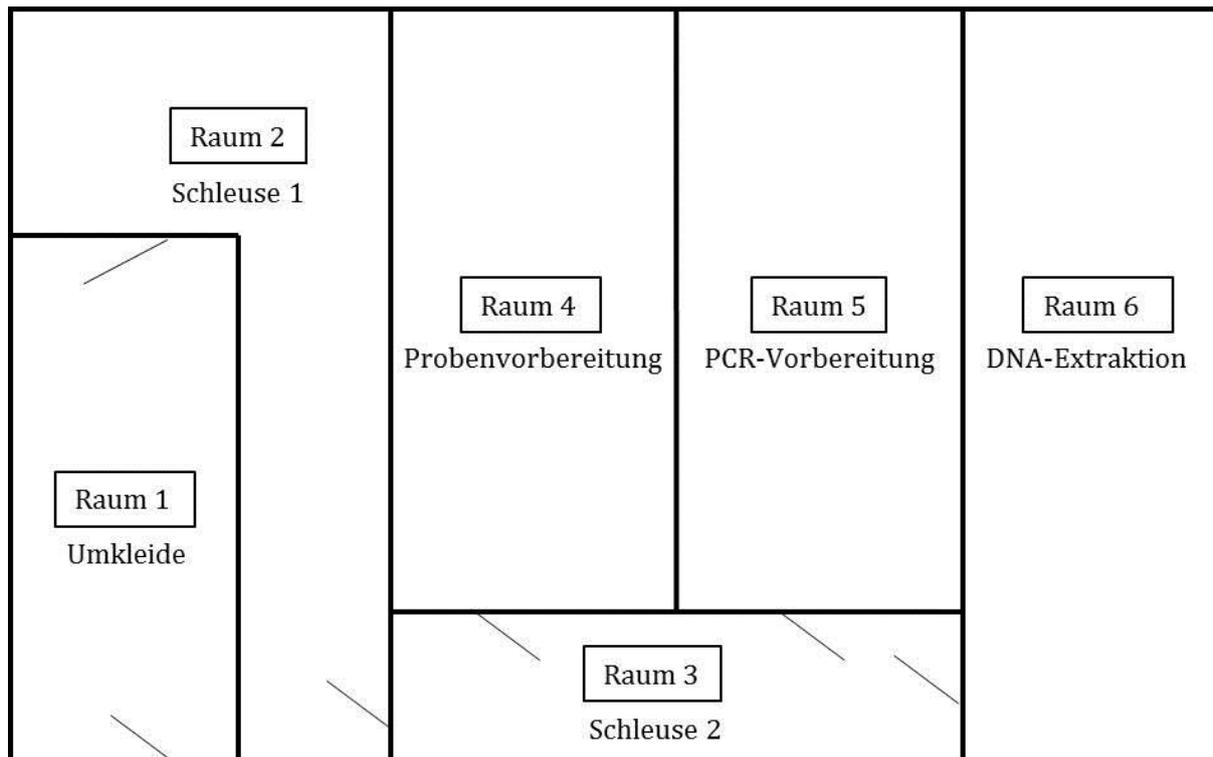
molekularbiologischen Arbeiten stattfinden und sowohl die Arbeitsfläche als auch die zur Entnahme verwendeten Geräte wurden zwischen den verschiedenen Proben großzügig mit einer Natriumhypochloritlösung gereinigt, um eine Kreuzkontamination der Proben bereits bei der Entnahme unbedingt zu verhindern. Anschließend wurden die Proben zur weiteren Bearbeitung umgehend in das aDNA-Labor des ArchaeoBioCenters gebracht.

### 3.2 AUFBAU DES ADNA-LABORS

Alle Arbeitsschritte nach der Beprobung der zu untersuchenden Individuen und vor der PCR fanden in einem speziell für die Arbeit mit alten Proben konzipierten aDNA-Labor (aDNA-Labor des ArchaeoBioCenter<sup>LMU</sup>, siehe [WIECHMANN ET AL., 2012](#)) statt. Das Labor befindet sich in einem Gebäude, in dem ansonsten keine molekularbiologischen Arbeiten stattfinden, um den Eintrag von Kontaminationen möglichst gering zu halten. Zutritt zum Labor haben lediglich wenige Mitarbeiter, die sich zuvor nicht in Laborräumen aufgehalten haben dürfen, in denen molekularbiologische, insbesondere molekulargenetische Arbeiten stattfinden. Der Aufbau des Labors (Abbildung 7) beinhaltet ein Schleusensystem, wobei alle Laborräume einen Überdruck zum vorherigen Raum aufweisen, um den Eintrag externen Materials in die Räume zu minimieren. Alle einzubringenden Materialien werden schrittweise dekontaminiert und auch die Labormitarbeiter haben entsprechende Schutzkleidung anzuziehen:

Im Vorraum (Raum 1 in Abbildung 7) legen die Mitarbeiter zunächst die Straßenkleidung ab und tauschen sie gegen Bekleidung, die im Labor verbleibt und in regelmäßigen Abständen gereinigt wird. Außerdem wird ein Haarnetz und ein erstes Paar Überschuhe angezogen.

Chemikalien und anderes in das Labor einzubringendes Material werden aus der Umverpackung entnommen.



**Abbildung 7 | Übersichtsplan über das aDNA-Labor des ArchaeoBioCenters<sup>LMU</sup>.** Den eigentlichen Arbeitsräumen (Raum 4-6) sind ein Vorraum (Raum 1) und zwei Schleusen (Raum 2 und 3) vorgeschaltet, die der Lagerung und schrittweisen Dekontamination aller einzubringenden Proben und Materialien dienen.

Die erste Schleuse (Raum 2 in Abbildung 7) dient der Dekontamination aller Materialien. Zunächst findet eine oberflächliche Reinigung mit einer Natriumhypochloritlösung (NaOCl; Danklorix, unverdünnt) aller einzubringenden Gegenstände statt. Im Anschluss an diesen Reinigungsschritt wird nach Möglichkeit alles in einem UV-Schrank bestrahlt. Gegenstände, die keine Reinigung mit NaOCl vertragen, werden lediglich UV-bestrahlt, Gegenstände, die keine UV-Strahlung vertragen, werden nur mit NaOCl gereinigt.

Alle Labormitarbeiter legen in der ersten Schleuse einen Mundschutz mit Gesichtsvision an. Außerdem ist ein Schutzoverall ebenso wie ein weiteres Paar Überschuhe und Schutzhandschuhe anzuziehen. Die Schutzkleidung lagert dabei in einem UV-Schrank und wird nach jeder Benutzung bestrahlt.

Die zweite Schleuse (Raum 3 in Abbildung 7) dient als Vorraum zu den eigentlichen Arbeitsräumen. Hier werden alle Gegenstände und Chemikalien vor der Verteilung auf die Arbeitsräume gelagert. Ebenfalls in diesem Raum befindlich sind drei UV-Schränke, in denen Schutzkleidung und zu dekontaminierende Geräte für die jeweiligen Arbeitsräume lagern und bestrahlt werden. Mitarbeiter legen hier vor dem Betreten eines der Arbeitsräume einen weiteren Schutzoverall, Überziehtiefel sowie ein weiteres Paar Schutzhandschuhe an. Diese letzte Schicht Schutzkleidung ist bei jedem Wechsel des Arbeitsraumes wiederum gegen die für jeden Arbeitsraum spezifische Schutzkleidung und ein neues Paar zweiter Schutzhandschuhe zu

tauschen. Diese Maßnahme dient der Reduzierung von möglichen Kreuzkontaminationen innerhalb des Labors.

Von der zweiten Schleuse gehen die drei Arbeitsräume ab, in denen die Bearbeitung der Proben stattfindet. Die Arbeitsschritte bzw. -räume unterteilen sich dabei in:

Probenvorbereitung (Raum 4 in Abbildung 7)

DNA-Extraktion (Raum 6 in Abbildung 7)

Vorbereitung der PCR (Raum 5 in Abbildung 7)

Die Proben genauso wie alle Gegenstände und im Idealfall auch die Mitarbeiter durchlaufen das Labor im Laufe eines Arbeitstages dabei in einem Einbahnstraßenprinzip. Der Weg geht dabei immer nur von der Probenvorbereitung zur DNA-Extraktion und von dort weiter zur Vorbereitung der PCR. Proben und andere Materialien, die einmal in einem Arbeitsraum angekommen sind, können nicht wieder in einen Arbeitsraum eines früheren Arbeitsschrittes eingebracht werden.

### **3.3 PROBENVORBEREITUNG UND EXTRAKTION DER DNA**

Die Vorbereitung des Probenmaterials beginnt mit einer äußerlichen Dekontamination der Proben. Intakte Zähne werden in einer 1 % NaOCl-Lösung geschwenkt, um außen anhaftende organische Kontaminationen durch Oxidation zu zerstören. Anschließend werden die Proben dreimal in Ampuwa gewaschen und in einem offenen Probenröhrchen zum Trocknen aufgestellt. Knochenproben werden zunächst mit einem Drehschleifgerät oder Schleifpapier abgeschliffen und anschließend oberflächlich mit einer 0,4 % NaOCl-Lösung gereinigt. Es schließt sich eine dreimalige Reinigung mit Ampuwa an, bevor sie in einem offenen Probenröhrchen zum Trocknen aufgestellt werden. Zwischen der Vorbehandlung unterschiedlicher Proben werden alle verwendeten Geräte und Oberflächen mit einer 1 % NaOCl-Lösung gereinigt.

Getrocknete Proben werden zunächst von allen Seiten für 15 Minuten UV-bestrahlt. Das UV-bestrahlte Material wird in Aluminiumfolie eingewickelt und in einem Mörser grob zerstoßen. Die groben Splitter werden aus der Aluminiumfolie entnommen und in einen Mahlbecher aus Zirkoniumoxid mit Zirkoniumoxid-Mahlkugel überführt. Die Proben werden in einer Kugelschwingmühle so lange gemahlen bis ein feines Zahn- bzw. Knochenmehl entstanden ist und in ein frisches Probenröhrchen überführt. Um eine zu große Hitzeentstehung zu vermeiden, werden die Proben dabei maximal 20 s am Stück gemahlen.

Die benutzten Geräte werden anschließend mit 1 % NaOCl gereinigt und 15 Minuten lang aus kurzer Entfernung UV-bestrahlt, bevor sie für die Bearbeitung einer neuen Probe verwendet werden. Da bei der Bearbeitung von Proben in der Schwingmühle Staub entsteht, der Proben

kreuzkontaminieren könnte, wurde darauf geachtet, dass alle für die Bearbeitung vorbereiteten Proben dicht verschlossen sind, während eine andere Probe gemahlen wird.

Das so vorbereitete Knochenmehl wird anschließend in den Extraktionsraum überführt und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C gelagert.

Die Extraktion der DNA aus dem Knochenmehl erfolgt nach dem Protokoll C von YANG ET AL. (1998) modifiziert nach WIECHMANN & GRUPE (2005), da diese Methode nach einer Validierung, die von SEIFERT (2013) durchgeführt wurde, als am besten geeignet für die Extraktion von DNA aus dem Material der hier bearbeiteten Zeitstellung und Region scheint.

Für die Extraktion werden immer 7 Proben zusammen mit einer Leereextraktion bearbeitet. Für die Herstellung der Extraktionslösung werden 12 ml einer 0,5 M EDTA-Lösung (pH 8) mit 250 µl einer 2 % SDS-Lösung gemischt und 100 µl Proteinase K-Lösung zugegeben. Jeweils 1,5 ml dieser Lösung werden zu je 300 – 400 mg Knochenmehl in 2 ml-Reaktionsgefäßen gegeben, bzw. im Falle der Leereextraktion in ein leeres Reaktionsgefäß. Die Mischungen werden sorgfältig gemischt und für 14 Stunden bei 56 °C in einem Thermoschüttler inkubiert. Es erfolgt eine weitere sorgfältige Mischung der Extraktionsansätze und eine 24-stündige Inkubation bei 37 °C im Thermoschüttler. Die Extraktionsmischungen werden in einer Tischzentrifuge für 5 min bei 5.000 g und weitere 5 min bei 10.000 g zentrifugiert, um ein festes Pellet zu erhalten. Der Überstand wird in Ultrazentrifugationsröhrchen überführt und bei 5.000 g solange zentrifugiert bis der Überstand auf 50 – 100 µl Volumen aufkonzentriert ist. Die Lösung wird in ein neues 1,5 ml-Reaktionsgefäß überführt. Es folgt eine Aufreinigung der DNA mit dem QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) nach dem Herstellerprotokoll.

Die erhaltenen Extrakte werden bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C gelagert.

### 3.4 QUANTIFIZIERUNG DER MENGE MITOCHONDRIALER DNA

Für die Untermauerung der Authentizität von Ergebnissen, die mit alter DNA gewonnen wurden, ist es wichtig, sporadische Kontaminationen als Quelle der erhaltenen Ergebnisse auszuschließen. Nach POINAR & COOPER (2000) sollte die Menge mitochondrialer DNA bei über 1000 Molekülen pro Reaktion liegen, um sporadische Kontaminationen als Quelle für erhaltene Ergebnisse weitestgehend ausschließen zu können. Zu diesem Zweck wurde in der vorliegenden Arbeit ein Abschnitt des mitochondrialen Genoms gewählt, der 100 bp lang ist und zudem einen informativen SNP enthält, der bereits die Einteilung der vorliegenden Haplogruppe in H- und non-H-Haplogruppen erlaubt (MELCHIOR ET AL., 2008B). Der untersuchte Abschnitt befindet sich zwischen den Positionen 6987 und 7047 des mitochondrialen Genoms. Der erwähnte SNP liegt an Position 7028. Alle H-Haplogruppen tragen an dieser Position ein C, während non-H-

Haplogruppen an dieser Stelle in der Regel ein T aufweisen. So kann der zur Quantifizierung verwendete Abschnitt bei einer anschließenden Sequenzierung eine komplementäre Information zur Sequenzierung der hypervariablen Region I (HVR I) des mitochondrialen Genoms liefern.

### 3.4.1 Erstellung einer Standardkurve

Für die Quantifizierung der in den Proben enthaltenen DNA-Mengen muss zunächst eine Standardkurve etabliert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde zu diesem Zweck ein synthetisches Oligonukleotid (MWGeurofins; (1)), das prinzipiell der Referenzsequenz (GenBank, NC\_012920) entspricht, jedoch eine Erkennungssequenz (unterstrichene, fett gedruckte Nukleotide in (1)) enthält, verwendet.

```
GCA TTGTATTAGC AAACATCA CTAGACATCG TACTACACGA CACGTACTAA GGAAGGACCC ACTTCCACTA TGTCTATCA  
ATAGGAGCTG TATTTGC (1)
```

Aus der Molarität der Oligonukleotidlösung konnte mit Hilfe der Avogadrozahl die Kopienanzahl pro Mikroliter Lösung berechnet werden. Die Gebrauchslösungen wurden anschließend so verdünnt, dass Lösungen mit einer Kopienanzahl pro Mikroliter von 1.000.000, 500.000, 50.000, 5.000, 500, 50 und 5 vorlagen. Da es sich bei dem Standard um einzelsträngige DNA handelt, muss die doppelte Menge an Ausgangsmolekülen eingesetzt werden, um das Äquivalent zu doppelsträngiger DNA zu erhalten (BUNCE ET AL., 2012). Dementsprechend wurden 2 µl jeder Lösung pro PCR eingesetzt, um die entsprechende Anzahl doppelsträngiger Moleküle zu simulieren. Für die Erstellung der Standardkurve und der daraus folgenden Berechnung der PCR-Effizienz und der DNA-Menge in den Extrakten wurden die Standardreaktionen jeweils immer in Duplikaten angesetzt.

### 3.4.2 Real-Time PCR zur Quantifizierung der mitochondrialen DNA

Die Quantifizierung der DNA-Ausgangsmenge erfolgte mittels Real-Time PCR in einem SYBR Green I-basierten Ansatz. Dazu wurde der Fast SYBR® Green Mastermix (Applied Biosystems) verwendet. Das Protokoll für die Quantifizierung der DNA-Ausgangsmenge musste zunächst mit den Primern aus MELCHIOR ET AL. (2008B; siehe Tabelle 9) etabliert werden.

**Tabelle 9 | Sequenzen der Primer, die für die Quantifizierungsreaktion genutzt wurden.** Weiterhin angegeben ist die Schmelztemperatur. Die Sequenzen der Primer stammen aus MELCHIOR ET AL. (2008B).

Fragment	Primer	Sequenz (5'-3')	T <sub>M</sub> (°C)
A	L6987	GCATTGTATTAGCAAACATCAT	52
	H7047	GCAAATACAGCTCCTATTGA	53,2

Ebenfalls in der Tabelle gezeigt ist die Nomenklatur (Fragment A), die im Folgenden für die Bezeichnung der unterschiedlichen Fragmente des mitochondrialen Genoms angewandt werden wird. Tabelle 10 gibt Aufschluss über die Komponenten des Reaktionsmixes und die jeweils getesteten Konzentrationen davon, die getesteten Temperaturprofile der PCR sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Die Primer wurden dabei in 50 nM-Schritten, in einigen Konzentrationsbereichen jedoch auch in 10 nM-Schritten getestet. Der Übersichtlichkeit halber sind jedoch für alle Komponenten nur die niedrigste und die höchste getestete Konzentration angegeben. Eine ausführliche Auflistung aller getesteter Reaktionsparameter und Konzentrationen findet sich im Anhang in Tabelle A 1. Alle Reaktionen fanden statt in einem CFX 96-Real-Time-Cycler mit einem C1000-Reaktionsmodul (Bio-Rad). Das gesamte Reaktionsvolumen betrug 20 µl. Der Einsatz an DNA-Extrakt belief sich auf 2 µl.

**Tabelle 10 | Komponenten des Reaktionsmixes für die Real-Time PCR zur Quantifizierung der Zahl an Ausgangsmolekülen.** Angegeben sind jeweils nur niedrigste und die höchste getestete Konzentration. Bei einem Gesamtvolumen von 20 µl pro Reaktion betrug der Einsatz an DNA-Extrakt 2 µl.

Reagenz	Getestete Konzentrationen
Fast SYBR Green Mastermix	1x
Primer mtL6987 (nM)	100 - 500
Primer mtH7047 (nM)	100 - 500
BSA (µg/µl)	0 - 1
UNG (U/µl)	0,01

Wie für die Reaktionskomponenten wurden auch die Annealing- und Elongationstemperatur des PCR-Protokolls in unterschiedlichen Kombinationen getestet. Auch hier sind nur die Minimal- und Maximaltemperatur angegeben, um die Übersichtlichkeit zu wahren.

**Tabelle 11 | PCR-Protokoll für die Quantifizierung der mitochondrialen DNA-Menge.** Angegeben sind jeweils nur die niedrigste und die höchste getestete Temperatur für die einzelnen Schritte.

Schritt	Temperatur	Dauer	Wiederholungen
UNG-Inkubation	37 °C	10 min	
Taq-Aktivierung	95 °C	20 sec	
Denaturierung	95 °C	5 sec	
Annealing	50 - 60 °C	20 sec	
Elongation	60 - 72 °C	10 sec	x50
Schmelzkurven-Analyse			
65°C, Erhöhung auf 95°C mit 0,5°C/ 5 sec			

Ebenso wie die Standards (siehe unter 3.4.1) wurden auch die zu quantifizierenden Proben in Duplikaten angesetzt, um eine bessere Berechnungsbasis für eine Quantifizierung zu erzielen.

Im Anschluss an die PCR wurde eine Schmelzkurve erstellt, um die Spezifität des entstandenen Produktes und damit auch der Quantifizierung zu bestätigen. Die Spezifität des durch die Schmelzkurve bestimmten Fragments wurde nach den ersten Testläufen auf einem 2 %-Agarosegel auf die richtige Bandenlänge hin überprüft und im Anschluss durch eine Sequenzierung bestätigt.

### **3.4.3 Bearbeitung der Real-Time PCR und Quantifizierung der DNA-Ausgangsmenge**

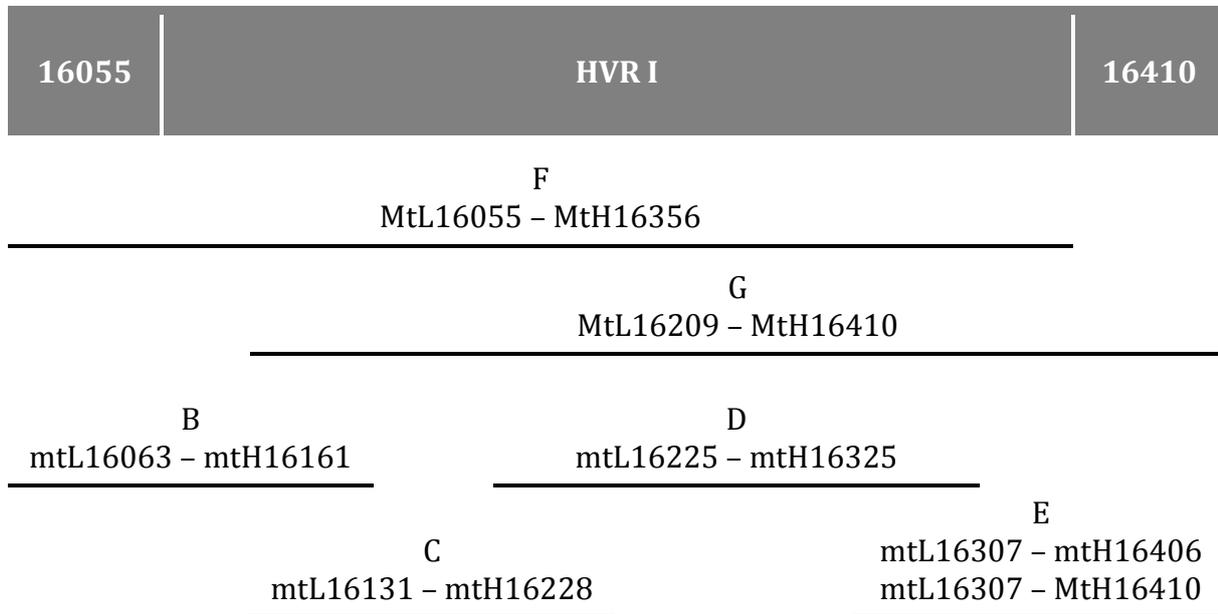
Die Bearbeitung der Real-Time PCR-Kurven und die anschließende Quantifizierung der DNA-Ausgangsmenge erfolgte mit Hilfe des CFX-Managers (Version 3.0, Bio-Rad). Zunächst wurde die Spezifität der einzelnen Kurven anhand der Schmelzkurve überprüft. Kurven, die keine Reaktion oder eine vermehrte Bildung von Primerdimeren zeigten, wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Um die korrekte Bestimmung des  $C_T$ -Wertes zu gewährleisten, wurde manuell überprüft, ob die Basislinien der einzelnen Kurven vom Programm richtig erkannt wurden, und gegebenenfalls korrekt eingestellt. Die Threshold-Linie wurde anschließend so gelegt, dass sie sich für alle Amplifikationskurven im unteren Drittel des linearen Bereichs befindet. Die Standards wurden für die Erstellung der Standardkurve markiert und alle Duplikatreaktionen wurden als solche gekennzeichnet. Die Berechnung der Ausgangsmenge an DNA für jede Einzelreaktion, die Ermittlung des Mittelwertes und der zugehörigen Standardabweichung für die Duplikate erfolgten anschließend durch das Programm.

### **3.5 FESTSTELLUNG VON HAPLOTYPEN DURCH SEQUENZIERUNG DER HYPERVARIABLEN REGION I**

Zur Bestimmung von maternalen Verwandtschaftslinien können mitochondriale Haplotypen herangezogen werden. Unabhängig von der Bestimmung einer bestimmten Haplogruppe können identische Punktmutationen in der HVR I (Haplotypen) auf eine Verwandtschaft zweier Individuen mütterlicherseits hinweisen bzw. Abweichungen diese ausschließen. Da die Ergebnisse der mitochondrialen DNA-Analyse nur für die Hypothesenerstellung bei den Verwandtschaftstests verwendet wurden (siehe 3.7.3) und nicht selbst für die Bestimmung der Verwandtschaft herangezogen wurden, wurde die Analyse auf die HVR I beschränkt, da diese für die genannten Zwecke ausreichend ist. Zur Analyse wurden in der vorliegenden Arbeit Primersysteme in SYBR Green-basierten Ansätzen etabliert, um die gesamte HVR I in vier bzw. zwei überlappenden Fragmenten zu amplifizieren. Die Etablierung der neuen Primersysteme fand im Rahmen des Umzugs des aDNA-Labors vom Biozentrum der LMU in die Räume des

ArchaeoBioCenter<sup>LMU</sup> statt, sodass gewährleistet war, dass kein Amplifikatübertrag zwischen alten und neu zu bearbeitenden Proben stattfinden kann.

### 3.5.1 Amplifikation der HVR I



**Abbildung 8 | Schema zur Amplifikation der HVR I des mitochondrialen Genoms.** Dargestellt sind die jeweiligen Primerpaare der entsprechenden Fragmente mit ihren Start- und Endpositionen. Die Abbildung ist nicht maßstabsgetreu.

In dieser Arbeit wurden daher mit von GILBERT ET AL. (2007) publizierten Primern (Tabelle 12) Primerpaare zusammengestellt, welche die HVR I des mitochondrialen Genoms in vier etwa 100 bp langen, überlappenden Abschnitten bzw. zwei weiteren größeren, überlappenden Abschnitten (Abbildung 8) amplifizieren. Die unterschiedlich langen Fragmente wurden dabei nicht nur zur Reproduktion erhaltener Ergebnisse verwendet, sondern dienten auch als Hinweis auf die Authentizität der erhaltenen Ergebnisse. Danach sollten kürzere Fragmente bei authentischer konservierter DNA grundsätzlich besser amplifizierbar sein als längere Fragmente (COOPER & POINAR, 2000). Tabelle 12 zeigt weiterhin die im Folgenden für die amplifizierten Fragmente verwendeten Bezeichnungen (Fragment B – G).

**Tabelle 12 | Verwendete Primer für die Amplifikation der mitochondrialen Genomabschnitte.** Aufgelistet sind die Namen der Primer, die Bezeichnung der Fragmente, die durch die Primerpaare amplifiziert werden, sowie die Sequenz und Schmelztemperatur. Die Primersequenzen sind GILBERT ET AL. (2007) entnommen.

Fragment	Primer	Sequenz (5'-3')	T <sub>M</sub> (°C)
B	L16063	TTGGGTACCACCCAAGTAT	54,5
	H16161	GATGTGGATTGGGTTTTTA	50,2
C	L16131	CACCATGAATATTGTACGGT	53,2
	H16228	TTGCAGTTGATGTGTGATAG	53,2
D	L16225	AAGTACAGCAATCAACCCTC	55,3
	H16325	CTGTAATGTGCTATGTACGGTA	56,5
E	L16307	TACCCACCCTTAACAGTACA	55,3
	H16406	TATTGATTTACGGAGGA	49,1
F	L16055	GAAGCAGATTTGGGTACCAC	57,3
	H16356	GTCATCCATGGGGACGAGAA	59,4
G	L16209	CCATGCTTACAAGCAAG	50,4
	H16410	GCGGGATATTGATTTACGG	57,3

Auch diese Primersysteme wurden in einem Real-Time PCR-Ansatz angewandt, um die Spezifität des amplifizierten Produktes mit Hilfe einer Schmelzkurve (siehe 3.4.2) überprüfen zu können. Die Komponenten der Reaktionsmische mit den jeweils getesteten Konzentrationen für die Amplifikation der einzelnen Abschnitte der HVR I sind in Tabelle 13 aufgeführt, die getesteten Temperaturprofile für die PCR sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind in den Tabellen 13 und 14 nur die jeweils höchsten und niedrigsten getesteten Werte angegeben für jedes Primerpaar (B – G). Die Anpassung der Primerkonzentration erfolgte dabei in Schritten von 50 nM. Bei den Temperaturschritten handelt es sich um Schritte von 1°C. Das Gesamtvolumen der Reaktionen betrug 20 µl und es wurden 2 µl DNA-Extrakt eingesetzt. Eine ausführliche Auflistung der getesteten Ansätze findet sich wiederum im Anhang in Tabelle A 1.

**Tabelle 13 | Reaktionsmische für die Amplifikation der hypervariablen Region I des mitochondrialen Genoms.** Angegeben sind die Reaktionskomponenten mit den jeweils getesteten Endkonzentrationen. Aufgelistet sind nur die jeweils höchste und niedrigste getestete Konzentration. In das gesamte Reaktionsvolumen von 20 µl wurden 2 µl DNA-Extrakt eingesetzt.

Reagenz	Getestete Konzentrationen					
	B	C	D	E	F	G
Fast SYBR Green Mastermix	1x					
Primer mtL (nM)	200 - 800	300 - 800	300	200 - 300	250 - 300	300
Primer mtH (nM)	200 - 800	300 - 800	300	200 - 300	250 - 300	300
BSA (µg/µl)	0 – 1					
UNG (U/µl)	0,01					

**Tabelle 14 | Temperaturprofile, die für die unterschiedlichen Primerpaare (B-G) getestet wurden.** Angegeben sind jeweils nur die Minimal- und Maximaltemperatur.

Schritt	Temperatur (°C)						Dauer	Wiederholungen
	B	C	D	E	F	G		
UNG-Inkubation	37						10 min	
Taq-Aktivierung	95						20 sec	
Denaturierung	95						5 sec	
Annealing	50 - 57	50 - 56	56	50 - 60	56 - 60	56 - 60	20 sec	x50
Elongation	60 - 72	60 - 72	60	60 - 72	60 - 72	60 - 72	10 sec	
Schmelzkurven-Analyse								
65°C, Erhöhung auf 95°C mit 0,5°C/ 5 sec								

Im Laufe der Arbeit zeigte sich, dass v. a. der Primer H16406 scheinbar schlecht bindet und es daher bei niedrig konzentrierter Ausgangs-DNA in der Folge zu Ausfällen ganzer Ansätze kam. Der Primer wurde daher bei der Bearbeitung der Proben aus Altenerding verwendet, wo dies aufgrund der besseren Erhaltung möglich war (siehe 4.2), bei den restlichen Fundplätzen, die teilweise eine deutlich schlechtere DNA-Konservierung zeigten, wurde der Primer durch Mth16410 ersetzt, da hierdurch besser reproduzierbare Resultate erzielt werden konnten.

### 3.5.2 Aufreinigung, Sequenzierung und Sequenzauswertung

Nachdem die Spezifität der amplifizierten Produkte mit Hilfe der Schmelzkurvenanalyse bestätigt wurde, wurden die Amplifikate mit dem NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up Kit (Macherey-Nagel) wie im Herstellerprotokoll beschrieben aufgereinigt.

Für die anschließende Sequenzierreaktion wurde das System BigDye® v1.1 (Applied Biosystems) verwendet. Der Mastermix für die Sequenzierreaktion ist in Tabelle 15 aufgeführt. Das Reaktionsvolumen für die Sequenzierreaktion betrug 10 µl. Eingesetzt wurde je 1 µl der aufgereinigten Amplifikate.

**Tabelle 15 | Reaktionsmix für die Sequenzierung der amplifizierten Abschnitte des mitochondrialen Genoms.** Angegeben sind die jeweiligen Endkonzentrationen der Reagenzien. Das gesamte Reaktionsvolumen betrug 10 µl. Es wurde 1 µl der aufgereinigten Amplifikate eingesetzt.

Reagenz	Endkonzentration
BigDye® Terminator Sequencing Mix v1.1	0,25x
Sequencing Buffer	0,75x
Primer (nM)	500

Für die Reaktion selbst wurden unterschiedliche Parameter für das Quantifizierungsfragment (Fragment A) und die Fragmente der HVR I (Fragmente B bis G) verwendet. Die für Fragment A getesteten Bedingungen sowie die Standardbedingungen für die übrigen Fragmente sind in Tabelle 16 gezeigt.

**Tabelle 16 | Temperaturprofil der Sequenzierreaktion für die amplifizierten Abschnitte des mitochondrialen Genoms.**

Schritt	Temperatur (°C)		Dauer	Wiederholungen
	A	B - G		
Taq-Aktivierung	96		1 min	x35
Denaturierung	96		10 sec	
Annealing	58	55	15 sec	
Elongation	60		4 min	
	4		∞	

Anschließend wurden die Reaktionen für die elektrophoretische Auftrennung und Erstellung des Elektropherogramms an den Sequencing Service des Departments Biologie I gegeben. Die Auftrennung der Sequenzierprodukte erfolgte hier mit einem ABI 3730 Kapillarsequenzierer.

Für die Auswertung der Elektropherogramme wurde das Programm CodonCode Aligner (Version 3.7.1, CodonCode Corporation) verwendet. Auf die automatische Benennung der Basen durch das Programm folgte eine manuelle Überprüfung und gegebenenfalls Korrektur falsch benannter oder nicht erkannter Basen. Die so aufbereiteten Sequenzen wurden anschließend an die Referenzsequenz für das mitochondriale Genom (revised Cambridge Reference Sequence, rCRS; ANDREWS ET AL., 1999; GenBank: NC\_012920) aligniert und mit Hilfe der bestimmten Mutationen zur Referenzsequenz Haplotypen bestimmt.

### 3.5.3 Bestimmung der mitochondrialen Haplogruppe

Nach der Bestimmung der Abweichungen zur Referenzsequenz wurde die mitochondriale Haplogruppe der Individuen mit Hilfe des Online-Tools mtDNAMANAGER (LEE ET AL., 2008) bestimmt. Dazu wurden die abweichenden Positionen in die Maske eingegeben und nach Übereinstimmungen mit den europäischen Datenbanken gesucht.

### 3.6 BESTIMMUNG Y-CHROMOSOMALER HAPLOTYPEN

Für die Analyse männlicher Abstammungslinien wurden in Fällen, in denen eine Verwandtschaft zweier oder mehrerer männlicher Personen fraglich war, Y-chromosomale *short tandem repeats* (Y-STRs) analysiert. Für die Analyse wurde das AmpF $\phi$ STR® Yfiler™ Kit (Applied Biosystems) verwendet. Die Zusammensetzung der Reaktionen und Reaktionsbedingungen folgten weitgehend dem Herstellerprotokoll, lediglich die Anzahl der PCR-Zyklen wurde von 30 auf 40 erhöht. Im Anschluss an die PCR wurden die Proben in einer Formamid-Lösung, der ein Längenstandard beigemischt war, 1:10 verdünnt (Tabelle 17) und beim Sequenzierservice des Biozentrums der LMU in einem ABI 3730 Kapillarsequenzierer elektrophoretisch aufgetrennt. Die Auswertung der Elektropherogramme erfolgte mit Hilfe der GeneMapper-Software (v5.0; Applied Biosystems).

**Tabelle 17 | Mastermix für die Fragmentlängenanalyse der STR-Reaktionen.** Die Amplifikate wurden direkt 1:10 in der angegebenen Mischung aus Formamid und Längenstandard verdünnt und anschließend erfolgte eine Auftrennung der Fragmente entsprechend ihrer Länge.

Reagenz	Menge (µl)
Hi-Di™ Formamid	8,7
GeneScan™-500 LIZ® Size Standard	0,3
Amplifikat	1

### 3.7 ERSTELLUNG GENETISCHER FINGERABDRÜCKE MIT AUTOSOMALEN MARKERN

Da mitochondriale wie auch Y-chromosomale DNA keine exakten Rückschlüsse auf die Art einer verwandtschaftlichen Beziehung zulassen, sollten von den untersuchten Individuen ebenfalls genetische Fingerabdrücke durch die Bestimmung einiger autosomaler, tandem-repetitiver STR-Marker angefertigt werden. Die meisten kommerziell erhältlichen STR-Kits sind jedoch für die Arbeit mit degradiertem Material nicht geeignet, da entweder die angestrebten Amplicons zu lang sind oder andere enzymatische Mechanismen, wie beispielsweise der Einsatz von Uracil-DNA-Glykosylase (UNG), nicht zur Anwendung kommen können. Daher wurden in dieser Arbeit zwei Multiplex-Reaktionen zur Amplifikation von insgesamt sieben autosomalen STR-Markern und dem geschlechtsspezifischen Marker Amelogenin etabliert. Die Multiplexe wurden in eine Reaktion mit tendenziell eher langen Markern (FGA, vWA, D18S51 und D21S11) sowie eine Reaktion mit kurzen Markern (Amelogenin, TH01, D3S1358 und D8S1179) aufgeteilt.

#### 3.7.1 Amplifikation der autosomalen Marker

Die Primersequenzen für die verkürzten STR-Amplicons sind in Tabelle 18 aufgelistet und wurden alle der Veröffentlichung von BUTLER ET AL. (2003) entnommen. Die Primersequenzen für den geschlechtsspezifischen Marker Amelogenin sind der Veröffentlichung von MANNUCCI ET AL. (1994) entnommen.

**Tabelle 18 | Sequenzen und fluoreszente Markierungen der Primer zur Amplifikation der autosomalen STRs.** Angegeben sind die 5'-Markierung der forward-Primer und die Sequenz in 5'-3'-Richtung.

Marker		5'-Markierung	Sequenz (5'-3')	T <sub>M</sub> (°C)
FGA	f	6-FAM™	AAATAAAATTAGGCATATTTACAAGC	55,9
	r		GCTGAGTGATTTGTCTGTAATTG	56,6
TH01	f	6-FAM™	CCTGTTCCCTCCCTTATTTCCC	61,0
	r		GGGAACACAGACTCCATGGTG	62,8
D3S1358	f	VIC®	CAGAGCAAGACCCTGTCTCAT	59,5
	r		TCAACAGAGGCTTGCATGTAT	58,4
D18S51	f	PET®	TGAGTGACAAATTGAGACCTT	54,8
	r		GTCTTACAATAACAGTTGCTACTATT	52,7
D21S11	f	VIC®	ATTCCCCAAGTGAATTGC	55,8
	r		GGTAGATAGACTGGATAGATAGACGA	56,5
vWA	f	NED™	AATAATCAGTATGTGACTTGGATTGA	58,1
	r		ATAGGATGGATGGATAGATGGA	57,3
D8S1179	f	PET®	TTTGTATTTTCATGTGTACATTCGTATC	58,5
	r		ACCTATCCTGTAGATTATTTTCACTGTG	59,4
Amelogenin	f	NED™	CCCTGGGCTCTGTAAAGAATAGTG	
	r		ATCAGAGCTTAAACTGGGAAGCTG	

Ausgehend von dem in BUTLER ET AL. (2003) veröffentlichten Protokoll bzw. einem weiteren online zur Verfügung gestellten Protokoll ([http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol\\_AllelicLadderReamp.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol_AllelicLadderReamp.pdf)) wurden im Zuge der Etablierung der beiden Multiplexreaktionen unterschiedliche Primer-, MgCl<sub>2</sub>- und Polymerase-Konzentrationen getestet. Eine Auflistung der getesteten Endkonzentrationen ist in Tabelle 19 gezeigt. Wie in den vorangegangenen Tabellen sind nur die jeweils höchste und niedrigste getestete Konzentration gezeigt. Im Bereich von 0,5 – 2 µM wurden die Konzentrationen in 0,5 µM-Schritten getestet, höhere oder niedrigere Konzentrationen wurden nur in Einzelfällen für manche Primerpaare getestet. Das Gesamtreaktionsvolumen betrug 25 µl, der Extrakteinsatz 2 µl. Eine ausführliche Auflistung aller durchgeführten Testreaktionen befindet sich im Anhang in Tabelle A 2.

**Tabelle 19 | Komponenten des Reaktionsmix zur Amplifikation der autosomalen STRs.** Angegeben sind die jeweils getesteten Endkonzentrationen mit Minimal- und Maximalwerten. Bei den Konzentrationen der Nukleotide (dNTPs) ist die Konzentration von dUTP in Klammern angegeben, da diese höher liegt als bei den übrigen Nukleotiden.

Reagenz	Endkonzentration
GeneAmp® PCR Gold Puffer	1x
AmpliTag Gold® (U/µl)	0,08 – 0,12
Primer f (µM)	0,1 – 4
Primer r (µM)	0,1 – 4
dNTPs (dUTP; mM)	0,2 (0,4)
MgCl <sub>2</sub> (mM)	1,5 – 2
BSA (µg/µl)	0 – 1
UNG (U/µl)	0,008 – 0,01

Zusätzlich mussten die Reaktionsbedingungen für die Amplifikation der autosomalen STRs angepasst werden, wobei hier das von BUTLER ET AL. (2003) publizierte Protokoll weitgehend

übernommen werden konnte. Lediglich die Annealingtemperatur der Primer bedurfte einer Anpassung. Eine Übersicht ist in Tabelle 20 gezeigt. Die Temperatur wurde dabei in Schritten von 1°C angepasst.

**Tabelle 20 | PCR-Protokoll für die Amplifikation der autosomalen STRs.** Im Zuge der Anpassung der Reaktion musste die Annealingtemperatur in der Reaktion geändert werden. Angegeben sind nur der Minimal- und Maximalwert.

Schritt	Temperatur (°C)	Dauer (min)	Wiederholungen
UNG-Inkubation	37	10	
Taq-Aktivierung	95	10	
Denaturierung	94	1	X30
Annealing	55 – 58	1	
Elongation	72	1	
Finale Extension	60	240	
	4°C	∞	

### 3.7.2 Herstellung der Allelleitern zur Größenbestimmung amplifizierter Allele

Dem Protokoll von BUTLER ET AL. (2003) bzw. dem Online-Protokoll ([http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol\\_AllelicLadderReamp.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol_AllelicLadderReamp.pdf)) folgend, wurde versucht, Allele der verwendeten Marker aus kommerziell erhältlichen Allelleitern zu amplifizieren. Zur Amplifikation wurden hierzu dieselben Protokolle wie für die Proben verwendet (siehe unter 3.7.1).

Im Anschluss daran erfolgte eine Aufreinigung der PCR-Produkte. Zu diesem Zweck wurde zum einen eine Aufreinigung mit dem NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up Kit (Macherey-Nagel) nach der Anleitung im Herstellerprotokoll getestet. Als Alternative wurde eine Aufreinigung mit NucleoSEQ® Spin columns (Macherey-Nagel) nach der Anleitung im Herstellerprotokoll versucht. Im Anschluss wurden die aufgereinigten Amplifikate als Allelleitern für die Fragmentlängenbestimmung verwendet oder einer Re-Amplifikation mit den oben angeführten PCR-Protokollen ohne Zugabe von UNG zugeführt.

### 3.7.3 Berechnung von Wahrscheinlichkeiten für Verwandtschaftsverhältnisse

Die Wahrscheinlichkeiten für Verwandtschaftsverhältnisse wurden mit Hilfe des Programms Familias 3 (EGELAND ET AL., 2000, KLING ET AL., 2014B) durchgeführt, welches von DRÁBEK (2009) validiert wurde. Die Individuen, bei denen die Vermutung einer Verwandtschaft bestand, wurden paarweise getestet. Zusätzlich zu den möglichen Verwandtschaftsverhältnissen wurde ein Stammbaum, der keine verwandtschaftliche Beziehung zwischen den beiden Individuen enthielt ( $H_0$ ), getestet und die berechneten *likelihood ratios* gegen die Wahrscheinlichkeit für diese Nullhypothese skaliert.

Für die Berechnung wurden die Standardeinstellungen von Familias 3 verwendet (KLING ET AL., 2014A), sodass alle konstruierten Stammbäume zunächst die gleiche *a priori* Wahrscheinlichkeit besitzen. Bei der Berechnung der Wahrscheinlichkeiten wurde ebenfalls von der Funktion, *Drop-outs* zu berücksichtigen, Gebrauch gemacht. Dabei kalkuliert das Programm bei homozygoten Individuen immer mit ein, dass ein möglicher Allel-*Drop-out* vorliegen könnte. Anhand der vorhandenen Allele und deren Frequenzen berechnet Familias 3 die posteriore Wahrscheinlichkeit für die Verwandtschaft und daraus wiederum die *likelihood ratio*.

In die Berechnung verwandtschaftlicher Verhältnisse wurden nur sicher bestimmte Allele der Marker der jeweiligen Individuen miteinbezogen, die mindestens in zwei unabhängigen Reaktionen amplifiziert werden konnten. Die Individuen aus den Mehrfachbestattungen wurden jeweils paarweise gegeneinander getestet. Die Analysen der HVR I-Sequenz und der Y-STRs wurden dabei verwendet, um mögliche Stammbäume *a priori* von den Tests auszuschließen. So wurden beispielsweise keine mütterlichen Verwandtschaftsverhältnisse bei Individuen getestet, deren HVR I-Sequenz dieser Hypothese widerspricht. Standardmäßig wurden für die Berechnungen Stammbäume bis zu einem Verwandtschaftsgrad von 0,125 berücksichtigt.

### 3.8 MOLEKULARGENETISCHER NACHWEIS DES PESTERREGERS

Der molekulargenetische Nachweis von *Y. pestis* erfolgte nach einem Protokoll von SEIFERT ET AL. (2013). Für das Screening wurde versucht ein für *Y. pestis*-spezifisches Fragment des *pla*-Gens auf dem pPCP1-Plasmid zu amplifizieren. Zur Amplifikation des 133 bp langen Fragments wurden die Primer in Tabelle 21 verwendet.

**Tabelle 21 | Primer für das Screening auf das Vorhandensein von *Y. pestis*.** Die Primer in der verwendeten Zusammensetzung wurden SEIFERT ET AL. (2013) entnommen. Angegeben sind die Namen der Primer, deren Sequenz, Schmelztemperatur und die ursprünglichen Quellen der Primersequenzen.

Primer	Sequenz (5'-3')	T <sub>M</sub> (°C)	Quelle
Y.-pest_F	gactgggttcgggcacatg	55,9	SEIFERT ET AL., 2013
Y.-pest_R2	AgACTTTTggCATTAggTgTg	56,6	TOMASO ET AL., 2003

Die Amplifikation erfolgte anschließend in einem auf dem Multiplex PCR Mastermix (Qiagen) basierenden Protokoll mit Hilfe einer Touch-Down-PCR, deren Mastermix und Temperaturprofil in Tabelle 22 aufgelistet sind.

**Tabelle 22 | Mastermix und Temperaturprofil der Touch-Down-PCR zum Nachweis von *Y. pestis*.** Aufgelistet sind die Komponenten des PCR-Mixes mit den jeweiligen Endkonzentrationen und das Temperaturprofil der PCR (SEIFERT ET AL., 2013).

Reagenz	Endkonzentration	Schritt	Temp. (°C)	Dauer	Wdh.
Multiplex PCR Mastermix	1x	UNG-Inkubation	25	10 min	
Primer Y.-pest_F (nM)	200	Taq-Aktivierung	95	15 min	
Primer Y.-pest_R2 (nM)	200	Denaturierung	94	30 sec	x2
BSA (µg/µl)	0,4	Annealing	64	30 sec	
UNG (U/µl)	0,01	Elongation	72	60 sec	x2
		Denaturierung	94	30 sec	
		Annealing	62	30 sec	
		Elongation	72	60 sec	x46
		Denaturierung	94	30 sec	
		Annealing	60	30 sec	
		Elongation	72	60 sec	
		Finale Elongation	72	10 min	
		Hold	8	∞	

Der Erfolg der PCR wurde auf einem 2 %-Agarosegel visualisiert. Eventuell vorhandene, längenspezifische Banden wurden aus dem Gel ausgeschnitten, mit dem NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up Kit (Macherey-Nagel) nach dem Herstellerprotokoll aufgereinigt und anschließend wie unter 3.5.2 für die Fragmente B bis G beschrieben sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen wurden zur Überprüfung ihrer Spezifität gegen eine Sequenz des *Y. pestis*-spezifischen *pla*-Gens aligniert (YEPTPA, SODEINDE & GOGUEN, 1989; GenBank: M27820.1).

### 3.9 GENETISCHE GESCHLECHTSBESTIMMUNG MITTELS REAL-TIME PCR

In Fällen, in denen die morphologische Analyse aufgrund fehlender diagnostischer Merkmale zu keinen oder nicht eindeutigen Ergebnissen bei der Geschlechtsbestimmung kommt, kann häufig eine genetische Detektion geschlechtsspezifischer Marker eine Zuweisung erlauben. Auch bei der genetischen Geschlechtsbestimmung kann die Quantifizierung der Ausgangsmenge für die Ergebnisinterpretation hilfreich sein, da somit das Verhältnis von X- und Y-spezifischen Markern bestimmt werden kann und so mögliche Kontaminationen erkannt werden können. Darüber hinaus kann die Quantifizierung auch Auskunft darüber geben wie sicher, in Bezug auf die anfängliche Kopienzahl in einem Extrakt, eine Geschlechtszuweisung ist. Daher wurden in einer an diese Arbeit angegliederten und vom Autor betreuten Masterarbeit (IMMLER, 2013) Protokolle zur Amplifikation und Quantifizierung geschlechtsspezifischer Marker angepasst.

Zu diesem Zweck wurde ein Protokoll, das an ein von ALONSO ET AL. (2004) und ALONSO & MARTÍN (2005) publiziertes Verfahren angelehnt ist, für eine TaqMan-basierte Real-Time PCR etabliert, mit Hilfe dessen die X- und Y-spezifischen Varianten des Amelogeningens mit spezifischen Sonden nachgewiesen werden können. Als Primer wurden die von MANNUCCI ET AL. (1994) publizierten verwendet, deren Sequenzen in Tabelle 18 zu finden sind. Im TaqMan-Ansatz wurden jedoch keine Primer mit Fluoreszenzmarkierung, sondern gänzlich unmarkierte Primer

verwendet. Die Sequenzen der hier verwendeten fluoreszenzmarkierten Sonden sind in Tabelle 23 gelistet.

**Tabelle 23 | Sonden für die Detektion der X- und Y-spezifischen Varianten des Amelogenin-Genorts.**

Angegeben sind die Fluoreszenzmarkierungen am 5'-Ende der Sonden, sowie die am 3'-Ende der Moleküle angebrachten Quencher-Moleküle. Die Sequenzen der Sonden sind ALONSO & MARTÍN (2005) entnommen.

Sonde	5'-Markierung	Sequenz (5'-3')	3'-Quencher
Amelogenin X	6-FAM™	TATCCCAGATGTTTCTC	MGB
Amelogenin Y	VIC®	CATCCCAAATAAAGTG	

Als Quencher am 3'-Ende tragen die Sonden das Molekül MGB. Dabei handelt es sich um einen sogenannten *minor groove binder*. Dieses Molekül unterdrückt nicht nur die Fluoreszenz der Farbstoffe, solange die Sonden intakt sind, sondern verbessert auch die Bindung der Sonden an die Zielsequenz.

Die einzelnen Komponenten des Mastermixes und deren jeweils getestete Konzentrationen sind in Tabelle 24 zusammengefasst. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur die höchste und niedrigste getestete Konzentration angegeben. Eine exakte Auflistung der Testreaktionen befindet sich im Anhang in Tabelle A 4.

**Tabelle 24 | Komponenten des Reaktionsmixes für die Quantifizierung der geschlechtsspezifischen Varianten des Amelogeningens.** Angegeben sind jeweils die Maximal- und Minimalwerte der getesteten Endkonzentrationen für die einzelnen Reaktionskomponenten.

Reagenz	Endkonzentration
BSA (µg/µl)	0,05
10X TaqMan Puffer A	1x
MgCl <sub>2</sub> (mM)	1,5 – 3
dNTP (mit dUTP; mM)	0,2 (0,4)
AmpliTaQGold (U/µl)	0,05
AMG F (nM)	100 – 300
AMG R (nM)	100 – 300
AMG X-FAM (nM)	200 – 300
AMG Y-VIC (nM)	200 – 300

Im Zuge der Anpassung der Reaktion wurde zunächst das Gesamtvolumen von 50 µl auf 25 µl herabgesetzt. Auch der Extrakt-Einsatz wurde verringert, da das Ursprungsprotokoll einen Einsatz von 10 µl vorsah. Um möglichst sparsam mit dem Extrakt umzugehen und die mögliche Wirkung von eventuell im Extrakt vorhandenen Inhibitoren so gering wie möglich zu halten, wurde der Extrakteinsatz auf 2 – 3 µl pro Reaktion herabgesetzt (siehe auch IMMLER, 2013).

Die PCR-Bedingungen aus dem Protokoll von ALONSO & MARTÍN (2005) wurden im Zuge der Anpassungsreaktionen ebenfalls nach einem Protokoll von ALONSO ET AL. (2004) verändert (Tabelle 25).

**Tabelle 25 | Getestete PCR-Bedingungen für die Amplifikation der X- und Y-spezifischen Abschnitte des Amelogeningens in einem TaqMan-Ansatz.** Angegeben sind nur getestete Maximal- und Minimaltemperaturen.

Schritt	Temperatur (°C)	Dauer	Wiederholungen
UNG-Inkubation	37	10 min	
Taq-Aktivierung	95	10 min	
Denaturierung	95	15 sec	
Annealing	58 – 60	40 sec	
Elongation	60	20 sec	X30

Zur Quantifizierung der Menge der Ausgangs-DNA wurden zwei Standardkurven verwendet, wobei je eine mit einer Verdünnungsreihe von weiblicher DNA (9947 A) und männlicher DNA (2800 M) erstellt wurde. Tabelle 26 zeigt, wie die Verdünnungsreihen dem Protokoll von ALONSO & MARTÍN (2005) folgend angesetzt wurden. Die absolute Menge an DNA in der Verdünnungsreihe kann näherungsweise in die Anzahl an Ausgangskopien umgerechnet werden, wenn angenommen wird, dass ein humaner Zellkern etwa 3 pg doppelsträngiger DNA enthält. Somit entsprechen 3 pg genomischer DNA ungefähr zwei Kopien des X-Allels oder je einer Kopie des X- und des Y-Allels.

**Tabelle 26 | Verdünnungsreihen der beiden Standard-DNA-Sätze für weibliche (9947 A) und männliche (2800 M) DNA.** Zusätzlich zur absoluten Menge an DNA, die in die Reaktion eingesetzt wurde, sind die ungefähren Entsprechungen in Kopienzahl pro Reaktion angegeben. Die Kopienzahlen wurden dabei näherungsweise berechnet, indem von einer Menge von 3 pg doppelsträngiger DNA pro Zellkern ausgegangen wird (nach IMMLER, 2013).

Standard	9947 A (ng/2 µl)	9947 A (Kopien X)	2800 M (ng/2 µl)	2800 M (Kopien Y/X)
1	10	6666,67	2,5	833,33
2	1	666,67	0,25	83,33
3	0,25	166,67		
4	0,0625	41,67		
5	0,0156	10,4		

Anhand der Standardkurven, die jeweils aus Duplikaten der Standardreaktionen erstellt wurden, wurden die Effizienzen für die Amplifikation der X- und Y-spezifischen Kopien des Amelogeningens bestimmt und die Ausgangsmengen an DNA in den Reaktionen berechnet. Die Auswertung erfolgte analog zur Quantifizierung der mitochondrialen DNA-Menge (siehe 3.4.3) mit Hilfe der Software CFX-Manager (Version 3.0; Bio-Rad).

## **4 ERGEBNISSE**

### **4.1 ETABLIERUNG DER PCR-REAKTIONEN**

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Etablierungsreaktionen zusammenfassend dargestellt. Da hier nicht auf alle einzelnen Ergebnisse eingegangen werden kann, sollen nur die finalen Protokolle, welche später auch für die Bearbeitung der Proben Verwendung fanden, dargestellt werden. Eine Tabelle, in der alle durchgeführten Tests aufgelistet sind, findet sich im Anhang (Tabelle A 1). Auf einige Besonderheiten, die zur Entscheidung für die finalen Protokolle geführt haben, wird in der Diskussion noch eingegangen werden (siehe Diskussionspunkte 5.1.1 – 5.1.3.1).

#### **4.1.1 Quantifizierungsfragment (Fragment A)**

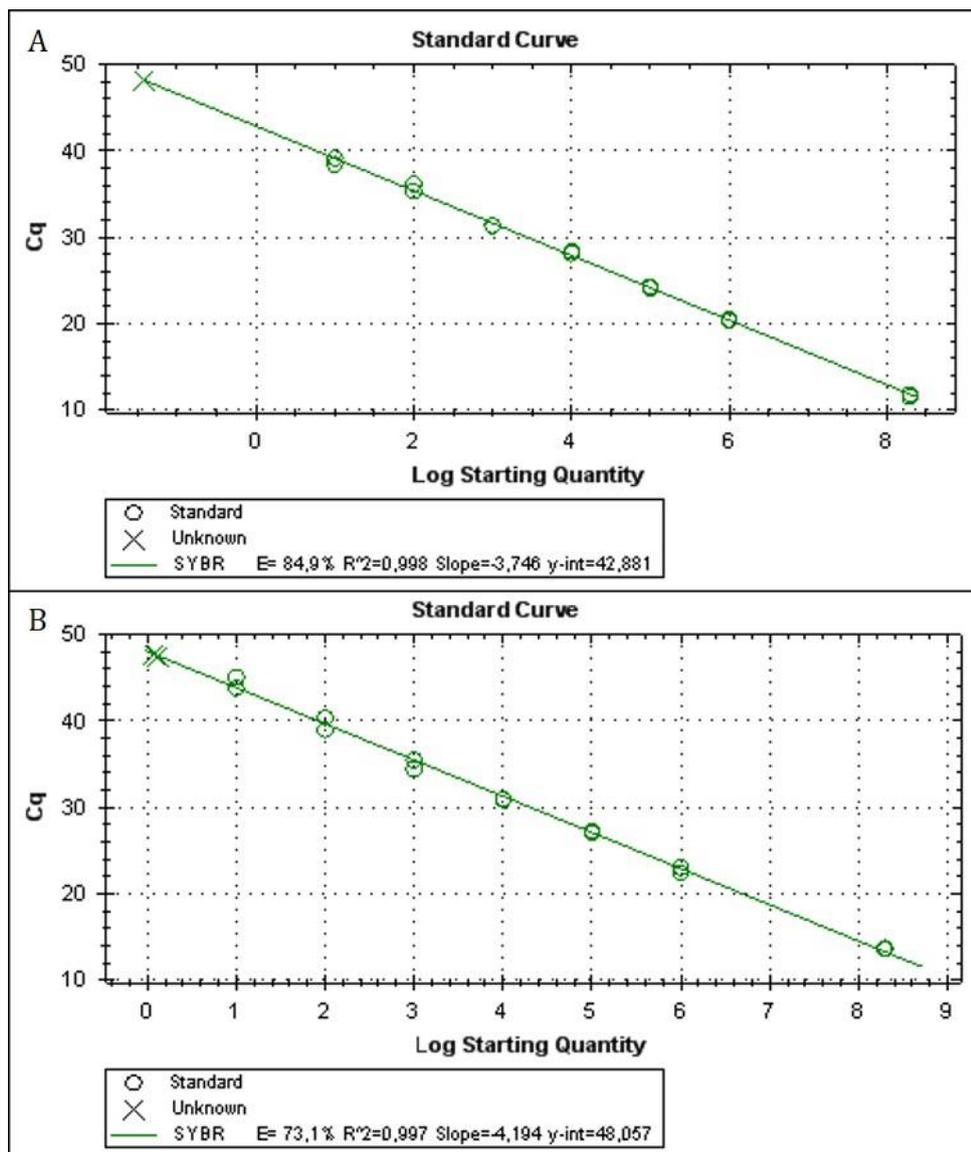
Insgesamt konnte die Reaktion für die Quantifizierung bis zu einer Effizienz von durchschnittlich etwa 75 % bzw. 85 % (siehe unten) in Abhängigkeit von der Zugabe von BSA angepasst werden. Die Reaktionen zur Anpassung wurden mit einem synthetischen, einzelsträngigen Oligonukleotid durchgeführt, das später auch als Standard für die Quantifizierung verwendet wurde.

Als beste Primerkonzentration für die Reaktion stellte sich 300 nM, wie sie vom Hersteller als höchste Konzentration empfohlen wird (APPLIED BIOSYSTEMS, 2008), heraus. Bei einer Annealingtemperatur von 57°C zeigten sich die besten Reaktionsergebnisse. Das endgültige PCR-Protokoll ist in Tabelle 27 dargestellt. In die Reaktionen wurden jeweils 2 µl des Oligonukleotids bzw. Extrakt eingesetzt.

**Tabelle 27 | Finales Protokoll für die Quantifizierung der Ausgangsmenge der Menge mitochondrialer DNA in einem Extrakt.** Die Primerkonzentration entspricht dem Vorschlag des Herstellers des verwendeten Mastermix. Bei den Reaktionsbedingungen musste vom empfohlenen 2-step PCR-Protokoll abgesehen und ein dreischnittiges Protokoll verwendet werden.

Reagenz	Endkonzentration	Schritt	Temp. (°C)	Dauer	Wdh.
Fast SYBR® Green Mastermix	1x	UNG-Inkubation	37	10 min	
Primer mtL6987 (nM)	300	Taq-Aktivierung	95	20 sec	
Primer mtH7047 (nM)	300	Denaturierung	95	5 sec	x50
BSA (µg/µl)	1	Annealing	57	20 sec	
UNG (U/µl)	0,01	Elongation	60	10 sec	
		Schmelzkurve 65°C-95°C (0,5°C/5 sec)			

Abschließend wurde ein Test der Reaktion mit und ohne Zugabe von BSA durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass durch die Zugabe von BSA die Effizienz der Reaktion mit dem Standard um etwa 10 % abnahm (Abbildung 9).

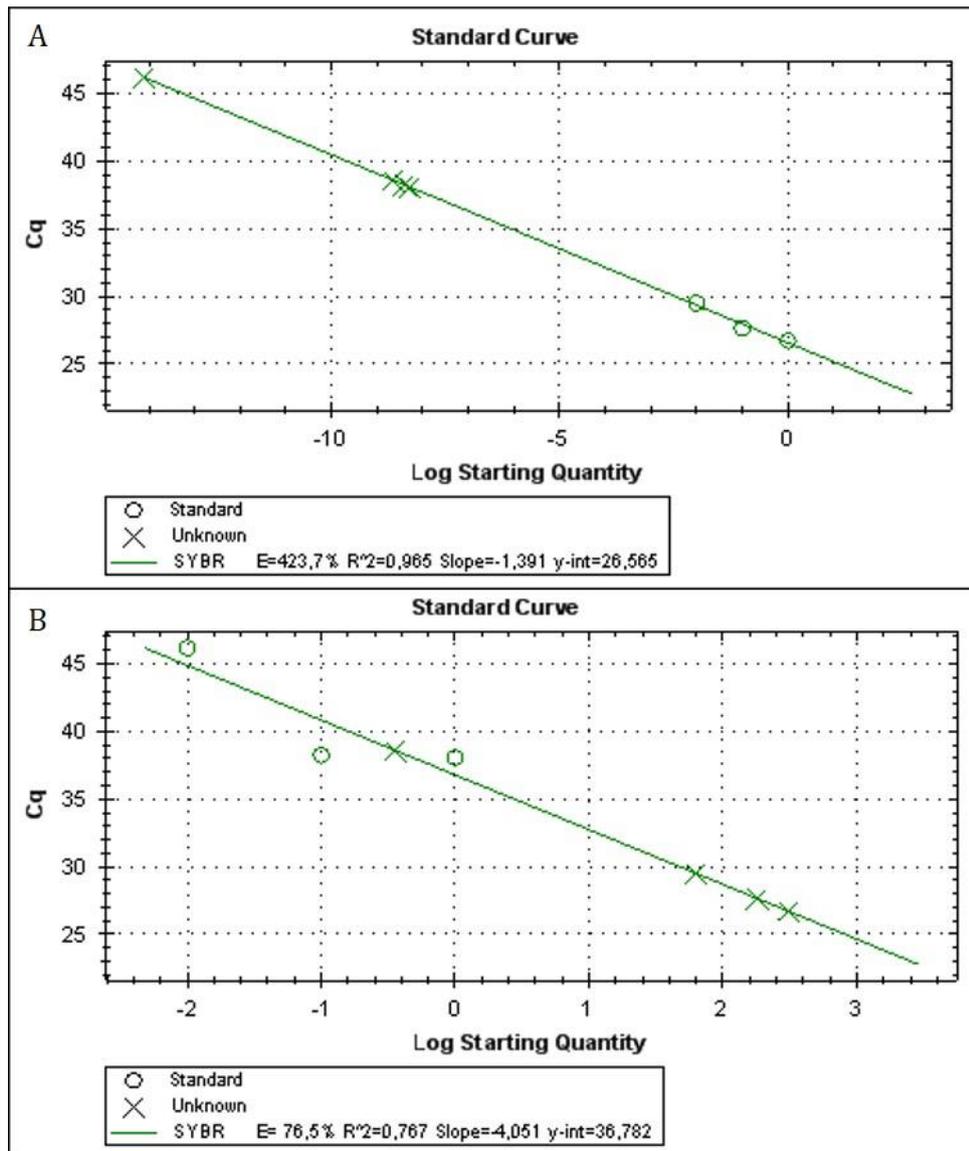


**Abbildung 9 | Test der Quantifizierungsreaktion mit und ohne BSA.** Bei der Reaktion ohne BSA (A) liegt die Effizienz um etwa 10 % höher als bei der Reaktion mit BSA-Zugabe (B). Darüber hinaus liegt der  $C_T$ -Wert ( $C_q$ ) aller Standardkonzentrationen ohne BSA einige Zyklen niedriger als mit BSA. E = Effizienz;  $R^2$  = Korrelationskoeffizient; Slope = Steigung der Geraden; y-int = Schnittpunkt der Geraden mit dem Nullpunkt der X-Achse.

#### 4.1.2 Primer für HVR I (Fragmente B bis G)

Die Anpassung der Reaktionen für die Amplifikation der hypervariablen Region I des mitochondrialen Genoms erfolgte mit Verdünnungen moderner Extrakte in einem extra hierfür verwendeten Laborraum im Biozentrum der LMU München, der ebenfalls vom Post-PCR-Bereich getrennt war. Da sich hierbei zeigte, dass die Effizienz der Reaktionen in Abhängigkeit der Extrakte Schwankungen aufwies (Abbildung 10), wurde hier das Augenmerk für die Beurteilung der Reaktionen verstärkt darauf gelegt, dass alle Verdünnungen amplifizierbar waren und einen möglichst niedrigen  $C_T$ -Wert aufwiesen. Alle Anpassungsreaktionen für die einzelnen Fragmente wurden im Folgenden auch immer mit demselben Extrakt pro Fragment durchgeführt,

wenngleich für unterschiedliche Fragmente aufgrund der Begrenztheit der Extrakte verschiedene Verdünnungsreihen verwendet werden mussten.



**Abbildung 10 | Unterschiedliche Extrakte in einer Testreaktion zur Etablierung von Fragment B.** Getestet wurde eine Primerkonzentration von 300 nM in einer PCR mit Denaturierung/ Annealing/ Elongation von 95°C, 5"/ 56°C, 20"/ 60°C, 10". Deutlich zu sehen ist, dass beide Extrakte eine völlig unterschiedliche Reaktionskinetik zeigen. E = Effizienz; R<sup>2</sup> = Korrelationskoeffizient; Slope = Steigung der Geraden; y-int = Schnittpunkt der Geraden mit dem Nullpunkt der X-Achse.

Die Etablierungsreaktionen wurden jeweils ausgehend vom Protokoll für die Quantifizierung durchgeführt. Zunächst wurde die Annealingtemperatur für die Reaktion angepasst, anschließend wurden die Primer in unterschiedlichen Konzentrationen getestet. Zum Abschluss fand nochmals ein Gegentest für die PCR-Bedingungen statt.

Für die Fragmente B, C, D und G stellte sich 300 nM als beste Primerkonzentration heraus. Für die Fragmente E und F musste die Primerkonzentration auf 250 nM reduziert werden, da bei höheren Konzentrationen eine vermehrte Bildung von Primerdimeren zu beobachten war.

Die Annealingtemperatur musste für die Primer der Fragmente B bis D auf 56°C gesenkt werden, während die Reaktionen der Fragmente E und G unter den gleichen Bedingungen wie Fragment A am besten liefen. Für Fragment F musste die Annealingtemperatur auf 60°C angehoben werden, sodass bei diesem Fragment eine 2-step PCR möglich war.

Die Etablierungen wurden alle unter Zusatz von BSA durchgeführt.

Tabelle 28 zeigt die endgültigen Protokolle für die Amplifikationen der HVR I des mitochondrialen Genoms. Der Extrakteinsatz betrug jeweils 2 µl.

**Tabelle 28 | Finale Protokolle für die Amplifikation der hypervariablen Region I des mitochondrialen Genoms.** Aufgeführt sind die Endkonzentrationen der Reaktionen sowie die PCR-Bedingungen für die jeweiligen Fragmente. Die Nomenklatur der Fragmente folgt derjenigen aus Kapitel 3.

Reagenz	Endkonzentration		Schritt	Temp. (°C)			Dauer	Wdh.
	B/C/D/G	E/F		B/C/D	E/G	F		
Fast SYBR Green Mastermix	1x		UNG-Inkubation	37			10 min	
Primer mtL6987 (nM)	300	250	Taq-Aktivierung	95			20 sec	
Primer mtH7047 (nM)	300	250	Denaturierung	95			5 sec	x50
BSA (µg/µl)	1		Annealing	56	57	60	20 sec	
UNG (U/µl)	0,01		Elongation	60			10 sec	
Schmelzkurve 65°C-95°C (0,5°C/5 sec)								

#### 4.1.3 Amplifikation autosomaler STRs

Die Etablierung der Reaktionen zur Amplifikation der autosomalen STR-Marker und Amelogenin wurde mit unterschiedlichen Verdünnungen kommerziell erhältlicher Allelleitern (Mentype® Nonaplex I, Biotype; AmpF<sup>l</sup>STR™ MiniFiler®, Life Technologies) durchgeführt, wie in BUTLER ET AL. (2003) und einem daran angelehnten online zur Verfügung gestellten Protokoll ([http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol\\_AllelicLadderReamp.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol_AllelicLadderReamp.pdf)) beschrieben.

Da die Amplifikation der einzelnen Marker in separaten Reaktionen zweimal nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte, eine Amplifikation mit Mischungen mehrerer Primer jedoch Erfolg brachte, wurden für die Anpassungsreaktionen direkt Primermischungen in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen verwendet (Tabelle A 3).

Die Anpassungsreaktionen wurden jeweils entweder mit Verdünnungen der jeweiligen Allelleitern, einem modernen Extrakt oder beidem durchgeführt. Zunächst wurden unterschiedliche Primermischungen getestet. Im Anschluss daran wurden die übrigen Reaktionskomponenten, wie MgCl<sub>2</sub> und Enzyme, angepasst. Durch die Anpassung der Reaktion an den Einsatz von UNG musste noch einmal die Annealingtemperatur verändert werden (siehe hierzu Tabelle A 2). Das finale Protokoll ist in Tabelle 29 dargestellt, die Primerkonzentrationen, die sich für die jeweiligen Ansätze am geeignetsten erwiesen, sind in Tabelle 30 gezeigt. Für die Marker aus Set 2 konnten bereits mit 2 µl Extrakt reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden, für die Marker aus Set 1 musste der Extrakteinsatz zu diesem Zweck auf 3 µl erhöht werden.

**Tabelle 29 | Finales Protokoll für die Amplifikation der autosomalen STRs und des geschlechtsspezifischen Markers Amelogenin.** Aufgeführt sind die Endkonzentrationen der Reaktionskomponenten und die Reaktionsbedingungen. Beide Markersets laufen unter den gleichen Reaktionsbedingungen und unterscheiden sich lediglich in den jeweiligen Primerkonzentrationen (siehe Tabelle 30)

Reagenz	Endkonzentration	Schritt	Temp. (°C)	Dauer	Wdh.
GeneAmp® PCR Gold Puffer	1x	UNG-Inkubation	37	10 min	
AmpliAq Gold® (U/µl)	0,12	Taq-Aktivierung	95	10 min	
MgCl <sub>2</sub> (mM)	2	Denaturierung	94	1 min	x45
dNTPs (dUTP; mM)	0,2 (0,4)	Annealing	56	1 min	
BSA (µg/µl)	0,16	Elongation	72	1 min	
UNG (U/µl)	0,01	Finale Elongation	60	240 min	
Primer	Siehe Tabelle 30		4	∞	

**Tabelle 30 | Finale Mischungsverhältnisse der jeweiligen Primer zur Amplifikation der unterschiedlichen autosomalen Marker und Amelogenin.** Gezeigt sind die Endkonzentrationen der Primer in den jeweiligen Reaktionen. Die Marker sind gegliedert nach den Sets, die für die Amplifikationen zusammengestellt wurden.

STR-Set	Marker	Endkonzentration (µM)
1	FGA	2
	D18S51	2
	D21S11	0,5
	vWA	0,5
2	TH01	2
	D3S1358	2
	D8S1179	1
	Amelogenin	0,2

Die Marker FGA und D18S51 waren in den Testreaktionen unter Einsatz des Nukleotidgemisches mit dUTP (siehe Tabelle 29) nur aus modernen Extrakten und Referenz-DNA amplifizierbar, während die Reaktion mit alter DNA nur in Einzelfällen und selten reproduzierbar erfolgreich verlief und die Leiterallele bei keinem der Marker amplifiziert werden konnten. Daher wurden weitere Versuche mit einem Nukleotidgemisch, in dem dTTP nur teilweise durch dUTP substituiert wurde (jeweils 0,2 mM dATP, dCTP und dGTP, 0,175 mM dTTP und 0,075 mM dUTP Endkonzentration), und einem Gemisch ohne Substitution von dTTP (jeweils 0,2 mM dATP, dCTP, dGTP und dTTP Endkonzentration) durchgeführt. Mit der Mischung ohne Substitution verlief die Amplifikation aller Marker sowohl aus modernen (Kontroll-)Proben als auch aus vielen alten Proben erfolgreich. Die Leiterallele für FGA konnten jedoch mit keinem der unterschiedlichen Nukleotidmische erfolgreich amplifiziert werden (siehe hierzu Diskussionspunkt 5.1.3.1).

#### 4.1.4 Amplifikation, Aufreinigung und Reamplifikation der Allelleitern

Die Amplifikation der Allele aus den jeweiligen Leitern konnte für alle Marker bis auf FGA erfolgreich durchgeführt werden. Die Amplifikation von D18S51 verlief hierbei jedoch erst nach der Umstellung des Nukleotidmixes (siehe 4.1.3) für Set 1 erfolgreich. Zum Teil zeigten sich, vor allem bei Markern mit vielen Allelen wie D21S11, Peaks, die mit zunehmender Länge der

Amplifikate kleiner wurden. Jedoch waren auch die längsten Marker immer noch deutlich als Peaks erkennbar und konnten so für eine Bestimmung der Allele in Proben verwendet werden.

Die Aufreinigung der Allelleitern konnte mit beiden getesteten Aufreinigungskits erfolgreich durchgeführt werden, wobei die Leitern nach der Aufreinigung über NucleoSEQ-Säulchen leicht besser in der kapillarelektrophoretischen Auftrennung aussehen als nach der Aufreinigung mit dem Gel and PCR Clean-up Kit (beide Macherey-Nagel).

Die Reamplifikation konnte prinzipiell erfolgreich durchgeführt werden. Allerdings zeigten sich nach der Reamplifikation viele kürzere Fragmente, die bei der Kapillarelektrophorese zu Peaks vor den eigentlichen Leitern führten, was sich auf die Bestimmung des kleinsten Allels und damit des Beginns der Allelleiter erschwerend auswirkt.

#### 4.1.5 Amplifikation des geschlechtsspezifischen Abschnitts des Amelogenings

Die Amplifikation des geschlechtsspezifischen Amelogenin-Genortes in einem TaqMan-Ansatz wurde ausgehend von einem Protokoll von ALONSO & MARTÍN (2005) im Rahmen der Arbeit von IMMLER (2013) angepasst. In diesem Zuge konnte eine Verringerung des Reaktionsvolumens von 50 µl auf 25 µl erfolgreich durchgeführt werden. Im Anschluss daran wurden unterschiedliche Annealingtemperaturen ebenso wie verschiedene Primer- und Sondenkonzentrationen in unterschiedlichen Zusammensetzungen (siehe Tabelle A 4 im Anhang) getestet. Weiterhin musste die Konzentration von MgCl<sub>2</sub> an die veränderten Bedingungen angepasst werden. Das finale Protokoll für den TaqMan-Ansatz zur Amplifikation von Amelogenin ist in Tabelle 31 dargestellt.

**Tabelle 31 | Finales Protokoll zur Amplifikation des geschlechtsspezifischen Abschnitts des Amelogenings in einem TaqMan-Ansatz.** Gezeigt sind die Endkonzentrationen der jeweiligen Reaktionskomponenten sowie die zugehörigen PCR-Bedingungen (nach IMMLER, 2013 und GÄRTNER ET AL., 2014).

Reagenz	Endkonzentration	Schritt	Temp. (°C)	Dauer	Wdh.
TaqMan Puffer	1x	UNG-Inkubation	37	10 min	
AmpliTaq Gold® (U/µl)	0,12	Taq-Aktivierung	95	10 min	
MgCl <sub>2</sub> (mM)	3	Denaturierung	95	15 sec	x50
dNTPs (dUTP; mM)	0,2 (0,4)	Annealing	58	40 sec	
BSA (µg/µl)	0,05	Elongation	60	20 sec	
UNG (U/µl)	0,01				
Primer f/ r (µM)	0,3				
Sonden X/ Y (µM)	0,3				

Während der ersten Amplifikationen mit alten Proben zeigte sich, dass die im ursprünglichen Protokoll von ALONSO & MARTÍN (2005) vorgesehenen 2 µl Extrakteinsatz zu wenig für eine erfolgreiche Amplifikation dieser Proben waren. In einem weiteren Testlauf wurde daher versucht, die Menge des eingesetzten Extraktes zu erhöhen. Dabei zeigte sich, dass 3 µl einen guten Kompromiss zwischen einem bestmöglichen Ergebnis und einem möglichst sparsamen

Umgang mit dem wertvollen Extrakt darstellten. Dementsprechend betrug der Extrakteinsatz für alle Reaktionen 3 µl (IMMLER, 2013, GÄRTNER ET AL., 2014).

## **4.2 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN DER SKELETTPROBEN AUS MEHRFACHBESTATTUNGEN**

Im Folgenden sind die Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen der Individuen aus den Mehrfachbestattungen, aufgeteilt nach den jeweiligen Fundplätzen, aufgeführt.

Die Quantifizierungsreaktionen der mitochondrialen DNA ergaben, dass in den Proben aus Altenerding, Sindelsdorf und Herrsching die höchsten Molekülnzahlen enthalten waren, während in den Proben aus Oberschneiding kaum amplifizierbare DNA enthalten war. Dementsprechend gab es bei allen PCR-Reaktionen, die an den Individuen der zuerst genannten Fundplätze durchgeführt wurden, die wenigsten Ausfälle, wogegen die Amplifikation bestimmter Marker bei den Oberschneidinger Proben zum Teil unmöglich war.

Zusätzlich wurden alle Bearbeiter von Proben für alle untersuchten Marker typisiert. Die Ergebnisse finden sich im Anhang in Abschnitt 8.6.3.

### **4.2.1 Extraktions- und PCR-Kontrollen**

Nachfolgend sind die Ergebnisse der mitgeführten Kontrollen aus den Extraktionen und PCRs aufgeführt.

#### **4.2.1.1 Mitochondriale DNA**

Für die Amplifikation der mitochondrialen DNA wurden 24 Extraktionskontrollen angefertigt. Von diesen besteht bei nur einer Kontrolle der Verdacht auf eine Kontamination, da diese in beiden Duplikaten eines Quantifizierungslaufs (max. Kopienzahl: 36) und bei einer Wiederholung des Laufs in einem der beiden Duplikate (Kopienzahl: 21) eine Reaktion zeigte. Dieselbe Kontrolle zeigte auch jeweils eine leichte Amplifikation bei den Fragmenten B – E. Insgesamt zeigten jedoch alle Proben aus der Extraktion, bei welcher diese Kontrolle mitgeführt wurde, eine deutlich höhere Kopienzahl als die Kontrolle. Eine Ausnahme hiervon stellen die Proben aus Oberschneiding dar (hierauf wird in 4.2.4.2 noch einzugehen sein). Eine versuchte Sequenzierung der Kontrolle lieferte kein Ergebnis.

Alle anderen Extraktionskontrollen zeigten in der Quantifizierung nur sporadische Amplifikationen. So konnte, wenn überhaupt, nur in einem der Duplikate eine Amplifikation nachgewiesen werden. Die jeweiligen Kopienzahlen sind in Tabelle 32 dargestellt.

**Tabelle 32 | Ergebnisse der Quantifikationsreaktionen der mitgeführten Extraktionskontrollen.** Dargestellt sind die anhand der jeweiligen Standardkurve bestimmten Startkopienzahlen. Bei allen „positiven“ Extraktionskontrollen zeigte stets nur ein Duplikat eine Reaktion, während das jeweils zweite keine Anzeichen einer möglichen Reaktion zeigte. Einzig E9 lieferte reproduzierbare Reaktionen in niedriger Kopienzahl.

Extraktionskontrolle	Kopien	Bemerkung
ExK1	0	
ExK2	0	
ExK3	0	
ExK4	6,5	Zweites Duplikat negativ
ExK5	2,05	Zweites Duplikat negativ
ExK6	5,8	Zweites Duplikat negativ
ExK7	0	
ExK8	0	
E1	0	
E2	2,3	Zweites Duplikat negativ
E3	0	
E4	1,3	Zweites Duplikat negativ
E5	0,9	Zweites Duplikat negativ
E6	1,7	Zweites Duplikat negativ
E7	0	
E8	13	Zweites Duplikat negativ
E9	36	reproduzierbar
E10	0	
EK II.1	0	
EK II.2	0	
EK II.3	1	Zweites Duplikat negativ
EK II.4	1	Zweites Duplikat negativ
EK II.5	0	
EK II.6	20	Zweites Duplikat negativ

Weiterhin waren die Schmelzpeaks einiger der möglicherweise positiven Extraktionskontrollen um 0,5 °C bis 1 °C zu einer meist niedrigeren Temperatur verschoben, sodass hier auch eine unspezifische Reaktion nicht ausgeschlossen ist. Es handelt sich bei diesen Quantifizierungen daher um sehr konservative Schätzungen, da jeder Peak, der in der Schmelztemperatur zwischen Dimerpeaks und dem spezifischen Produktpeak angesiedelt war, sicherheitshalber in der Quantifizierung berücksichtigt wurde.

In den Reaktionen zur Amplifikation der Fragmente B – G waren alle übrigen Extraktionskontrollen stets negativ.

Alle 52 mitgeführten Negativkontrollen in allen PCR-Läufen waren negativ.

#### 4.2.1.2 Nukleäre DNA

Keine der Extraktionskontrollen zeigte eine Reaktion in den STR-Amplifikationen. Ebenso waren hier die Extraktionskontrollen E1 bis E10 und EK II.1 bis EK II.6 sowie die während der unterschiedlichen PCR-Läufe mitgeführten 16 Negativkontrollen frei von Amplifikationsprodukten.

#### 4.2.1.3 *Y. pestis*-spezifische DNA

Alle während der Amplifikationen von *Y. pestis*-spezifischer DNA mitgeführten Extraktionskontrollen und 6 mitgeführte PCR-Negativkontrollen waren frei von spezifischen Amplifikationsprodukten.

#### 4.2.2 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen der Proben aus Altenerding

Aus allen vom Fundplatz Altenerding ausgewählten Proben konnte amplifizierbare DNA gewonnen werden. Die Ergebnisse der Quantifizierung (s. u.) gaben dabei keinen Anlass dazu, einzelne Proben oder Ergebnisse von den nachfolgenden Analysen auszuschließen.

##### 4.2.2.1 Quantifizierung der DNA-Menge

Die Ausgangsmenge an Molekülen pro Reaktion lag bei allen Proben deutlich über den von COOPER & POINAR (2000) geforderten 1.000 Molekülen. Auffällig war, dass einige Proben (AE 468, AE 888, AE 1005 und AE 1175) sehr starke Schwankungen bei den Quantifizierungsreaktionen zeigten, wodurch bei diesen eine sehr hohe Standardabweichung zustande kommt. Trotz der teilweise hohen Standardabweichung bei der Quantifizierung musste keine Probe von den weiteren Analysen ausgeschlossen werden. Tabelle 33 zeigt alle Ergebnisse der Quantifizierungsreaktionen von Altenerding.

**Tabelle 33 | Ergebnisse der Quantifizierung der Anzahl amplifizierbarer Moleküle des mitochondrialen Genoms für Altenerding.** Aufgelistet sind die untersuchten Proben je Individuum und die durchschnittliche Molekülzahl pro Reaktion für die einzelnen Proben sowie die zugehörige Standardabweichung. Die Ermittlung der durchschnittlichen Anzahl an Molekülen erfolgte anhand von Duplikaten in der Reaktion.

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle / 2 µl
AE 96	1	Zahn 16	80.820 ± 15.670
	2	Zahn 27	55.020 ± 45.051
AE 97	1	Zahn 26	101.952 ± 7.953
	2	Zahn 27	153.708 ± 4.633
AE 127	1	Zahn 36	111.643 ± 6.586
	2	Zahn 16	103.743 ± 8.860
AE 128.I	1	Zahn 28	67.446 ± 3.420
	2	Zahn 18	219.307 ± 6.109
AE 128.II	1	Zahn 26	138.240 ± 72.449
	2	Zahn 46	140.110 ± 3.680
AE 349	1	Zahn 17	101.143 ± 5.445
	2	Zahn 27	52.467 ± 6.823
AE 350	1	Zahn 85	264.492 ± 453
	2	Zahn 55	194.261 ± 46.615
AE 468	1	Zahn 65	208.874 ± 57.061
	2	Zahn 55	191.021 ± 60.237
AE 469	1	Zahn 36	95.790 ± 7.639

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle / 2 µl
	2	Zahn 44	28.315 ± 15.610
AE 887	1	Zahn 33	22.309 ± 6.276
	2	Pars petrosa re.	2.800 ± 308
AE 888	1	Zahn 36	15.550 ± 16.293
	2	Zahn 11	14.241 ± 7.512
AE 1004	1	Zahn 65	130.496 ± 32.960
	2	Zahn 75	111.495 ± 124.430
AE 1005	1	Zahn 74	149.147 ± 66.048
	2	Zahn 64	378.748 ± 175.227
AE 1154	1	Zahn 36	2.085 ± 571
	2	Zahn 16	5.835 ± 8.118
AE 1155	1	Zahn 75	76.711 ± 4.207
	2	Zahn 84	14.435 ± 14.322
AE 1175	1	Zahn 16	53.589 ± 72.450
	2	Zahn 47	40.811 ± 54.635
AE 1176	1	Zahn 46	23.909 ± 7.212
	2	Zahn 26	3.080 ± 4.315
AE 1184	1	Zahn 55	87.904 ± 114.371
	2	Zahn 54	45.581 ± 120
AE 1185	1	Zahn 64	100.342 ± 31.219
	2	Zahn 84	127.458 ± 168.233
AE 1223	1	Zahn 46	30.480 ± 42.842
	2	Zahn 16	29.456 ± 13.021
AE 1241	1	Zahn 17	6.060
	2	Zahn 16	23.495 ± 414

#### 4.2.2.2 Amplifikation der HVR I aller Individuen aus Altenerding

In Tabelle 34 sind die Ergebnisse der Amplifikation und nachfolgenden Sequenzierung der hypervariablen Region I des mitochondrialen Genoms aufgeführt. Bei den vier Proben, die eine Mutation an Position 16189 tragen (AE 128I, AE 468, AE 1175 und AE 1223), ergaben sich durch die vorliegende Mutation einige Schwierigkeiten bei der Sequenzierung. Wegen des durch die Mutation entstandenen Poly-C-Stretches konnten die f- und r-Sequenzen jeweils nur bis zur Mutation ausgewertet werden. Insgesamt konnte jedoch durch mehrfache Sequenzierung des entsprechenden Abschnitts erreicht werden, dass alle Bereiche und vor allem Mutationen der HVR I durch überlappende Fragmente mindestens dreifach abgedeckt wurden. Bei allen Individuen konnten sowohl die kleineren als auch die größeren Fragmente aus den jeweiligen Extrakten amplifiziert werden.

Insgesamt konnten in den zehn Doppelbestattungen zwölf unterschiedliche mitochondriale Haplogruppen identifiziert werden. Eine zusätzliche Haplogruppe resultiert aus einem in die Untersuchung miteinbezogenen Schädel (AE 128I) mit fragwürdiger Zuordnung zu einem der Gräber. Die identifizierten Haplotypen sind mit mt1 - 13 fortlaufend durchnummeriert.

**Tabelle 34 | Ergebnisse der Sequenzierungen der hypervariablen Region I und des kodierenden Abschnittes des mitochondrialen Genoms der Individuen aus Altenerding.**

Angegeben sind die jeweiligen Positionen und die aufgetretenen Mutationen. Die zweite Zeile zeigt, welches Nukleotid an der entsprechenden Stelle in der rCRS (zweite Zeile, ANDREWS ET AL., 1999) zu finden ist. „.“ markiert Positionen, an denen kein Unterschied zur rCRS gefunden werden konnte. In der Spalte „Haplotyp“ ist die fortlaufende Nummerierung unterschiedlicher, identifizierter Sequenzmotive gezeigt. Die Spalte „Hg“ zeigt die erwarteten Haplogruppen, wie sie mit dem mtDNAMANAGER bestimmt wurden. Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	7028	16093	16129	16175	16183	16188	16189	16192	16218	16223	16224	16256	16270	16278	16291	16304	16311	16319	16355	16356	16362	16391	16399	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenz in Europa
rCRS	C	T	G	A	A	C	T	C	C	C	T	C	C	C	C	T	T	G	C	T	T	G	A	rCRS	H2a2	0,12245
AE 96	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
AE 97	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
AE 127	T	C	.	.	.	.	.	T	.	.	.	T	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	mt2	U5a	0,00053
AE128I	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	C	.	.	mt13	H1b	0,00053
AE128II	T	C	.	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	mt2	U5a	0,00053
AE 349	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt3	H	0,00124
AE 350	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt3	H	0,00124
AE 468	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	mt4	H	0,00035
AE 469	T	.	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	mt5	I?	0,00177
AE 887	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt6	H	0,00124
AE 888	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	mt7	H	nicht in Datenbank
AE 1004	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
AE 1005	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
AE 1154	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
AE 1155	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	mt8	U5a	0,00922
AE 1175	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt9	H1f	0,00035
AE 1176	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	mt10	K	0,02782
AE 1184	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	mt11	H5	0,01772
AE 1185	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	mt11	H5	0,01772
AE 1223	T	.	.	G	C	.	C	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt12	X	nicht in Datenbank
AE 1241	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245

In Bestattungen, in denen zwei Kinder (AE 1004/1005, AE 1184/1185) oder eine erwachsene Frau mit einem Jugendlichen oder Kind (AE 96/97, AE 127/128II, AE 349/350) beigesetzt wurden, zeigen beide Bestattete jeweils das gleiche Sequenzmotiv. In Bestattungen, in denen ein männlicher Erwachsener mit einem Kind beerdigt wurde (AE 468/469, AE 1154/1155) oder zwei Männer (AE 887/888), zwei Frauen (AE 1223/ 1241) oder eine Frau und ein Mann (AE 1175/ 1176) gemeinsam bestattet wurden, zeigen die beiden Verstorbenen jeweils unterschiedliche Sequenzmotive in der HVR I.

Darüber hinaus zeigen die Individuen AE 96, 97, 1004, 1005, 1154 und 1241 das gleiche Sequenzmotiv in der HVR I, wobei es sich jeweils um Sequenzen handelt, die im gesamten untersuchten Bereich keinen Unterschied zur rCRS (ANDREWS ET AL., 1999) aufweisen.

#### 4.2.2.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung

Die Analyse der autosomalen STRs erbrachte bei den meisten Individuen aus Altenerding gut reproduzierbare Ergebnisse (Tabelle 35).

**Tabelle 35 | Ergebnisse der Analyse autosomaler STRs der Individuen aus Altenerding.** Dargestellt sind die untersuchten Marker mit den für jedes Individuum bestimmten Allelen. Allele in Klammern konnten jeweils nur einmal aus drei Versuchen amplifiziert werden.

Individuum	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelo
AE 96	19, 20	29, 30	17, 18	12, 16	7, 9.3	15, 18	13, 16	X
AE 97	19, 22	29, 30	17, 18	16, 17	6, 7	14, 18	13	X
AE 127	22, (25)	(29), 32.2	17	(8), 13	6, 9.3	17, 18	14	X
AE 128I	(21)	(33.2)	(16), 17	(12, 13)	6, 9.3	17	14, 15	XY
AE 128II	21, 23	32.2, (38.2)	14, 17	13, 17	9.3	16, 18	13, 14	X
AE 349	20, 22	28, 31.2	16, 19	15, 18	8, 9.3	14, 15	13, 15	X
AE 350	(22)	28, 30	16, 17	14, (10), (15)	6, 9.3	15, (17)	13	X
AE 468	(20)	30	14, 16	14, 16	(4?), 8, (9.3)	11, 17	11, 16	(X)
AE 469	23	28, 30	17, 18	12, 15	6, 9.3	16, 17	14, 15	XY
AE 887	20, 22	29, 30	18, 19	15, 18	6, 9	16, 17	10, 13	XY
AE 888	20, 24	29	16, 18	14, 18	8, 9	16, 18	10	(X)Y
AE 1004	21, (24)	(28), 29	18, 19	(14), 17	(6), 9.3	16, (17), 18	14	X
AE 1005	-	(34.2, 38.2)	(16), 19, 20	(10, 12)	(6, 10)	(15, 17)	-	(X)(Y)
AE 1154	19, 20	(29), 30	18, 19	13, 14	6, 8	15, 16	13	XY
AE 1155	(24)	(32)	15, 17, (18)	(14), 16	8, 9	14, (15)	10, (13)	(X)
AE 1175	21, 25	28, 32.2	14, 17	15, 16	8, 9.3	16, 17	11, 13	X
AE 1176	15?	-	17	16, 17	(7), 9, 9.3	(16), 19	13	X(Y)
AE 1184	-	(28, 29)	(14, 18)	(14, 18)	7, 8	(15)	12, (15)	(X)Y
AE 1185	-	-	(11), 14	-	(8, 9.3)	(15), 18	(12), (13)	X
AE 1223	20, 24	29, 31	17, 18	12, 14	6, 9.3	16, 17	10, 15	X
AE 1241	19	30, 31.2	17, 18	12, 18	6, 9	15, 16, (17)	13, 17	X

In zehn Fällen konnten vollständige STR-Profile gewonnen werden. Lediglich bei den beiden Kindermehrfachbestattungen konnten nur überlappende, reproduzierbare Ergebnisse für einen Marker (AE 1004 & AE 1005) bzw. keinen Marker (AE1184 & AE 1185) gewonnen werden. Weiterhin konnte durch die STR-Analyse festgestellt werden, dass es sich bei dem Schädel AE 128I, der genetisch männlich ist, nicht um den Schädel der Frau aus Grab AE 127/ 128 handeln kann, weswegen dieser für nachfolgenden Verwandtschaftsanalysen nicht mehr berücksichtigt wurde. Bei Schädel AE 128II, der genetisch auch als weiblich anzusehen ist, handelt es sich demnach um den Schädel der Frau aus Grab AE 128.

#### 4.2.2.4 Analyse von Y-STRs bei morphologisch und genetisch als männlich bestimmten Individuen aus Altenerding

Die Ergebnisse der Analyse der Y-STRs für die männlichen Individuen aus Altenerding sind in Tabelle 36 dargestellt. Für AE 1154 konnte ein vollständiges Y-STR-Profil gewonnen werden, während bei AE 1005 nur 5 der 16 Marker sicher bestimmt werden konnten. Ebenfalls gezeigt sind die mit Hilfe eines Online-Tools (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) bestimmten Y-Haplogruppen der untersuchten Individuen.

**Tabelle 36 | Y-STR-Profile der untersuchten Individuen aus Altenerding.** Dargestellt sind die bestimmten Allele jedes Markers. Allele in Klammern konnten nur einmal aus drei Versuchen amplifiziert werden, „-“ markiert Marker, die nicht erfolgreich amplifiziert werden konnten. Ebenfalls dargestellt sind die bestimmten Haplogruppen und zugehörigen Wahrscheinlichkeiten (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>). Haplogruppen und Wahrscheinlichkeiten sind jeweils ohne unsichere Allele bestimmt worden. Haplogruppen und Wahrscheinlichkeiten in Klammern sind unter Einbeziehung der unsicheren Allele entstanden. Heutige Frequenzen wurden mit Hilfe der Datenbank von <http://www.yhrd.org> bestimmt.

Individuum	AE 887	AE 888	AE 1005	AE 1154
Geschlecht (morph.)	m	m	indeterminiert	m
Marker				
DYS 19	-	-	-	14
DYS 385	14	11,14	-	13,14
DYS 389I	14	14	13	12
DYS 389II	-	-	-	28
DYS 390	-	25	23	23
DYS 391	10	10	-	10
DYS 392	-	(29)	-	11
DYS 393	13	13	-	13
DYS 437	14	14	14	16
DYS 438	11	11	-	10
DYS 439	10	-	-	11
DYS 448	-	(20)	-	20
DYS 456	16	16	15	14
DYS 458	16	16	17	15
DYS 635	23	23	-	22
Y GATA H4	11	12	(8)	11
<b>Haplotyp</b>	<b>Y1</b>	<b>Y1</b>	<b>Y2</b>	<b>Y3</b>
<b>Haplogruppe</b>	<b>R1a</b>	<b>R1a</b>	<b>R1b (J2a1b)</b>	<b>I1</b>
Wahrscheinlichkeit (%)	98,7	100	62,9 (27,4)	100
Heutige Frequenz Europa	nicht in Datenbank	0,00019	0,02041	0,00077

Alle vier erhaltenen Profile sind ausreichend, um eine Abschätzung der Y-Haplogruppe vornehmen zu können, wenngleich sich in Abhängigkeit des für AE 1005 unsicher bestimmten Allels 8 für Y GATA H4 die Zugehörigkeit zu einer Haplogruppe ändert.

Die vier untersuchten männlichen Individuen aus Altenerding weisen drei unterschiedliche Y-chromosomale Linien (Haplotypen) auf, die jeweils fortlaufend mit Y1 bis Y3 benannt wurden. Die Profile von AE 887 und AE 888 unterscheiden sich nur in einer von zehn sicher bestimmten Positionen. Bei diesen beiden Individuen ist somit eine gemeinsame väterliche Linie nicht zu widerlegen (KAYSER & SAJANTILA, 2001).

#### 4.2.2.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsanalysen mit Familias

Tabelle 37 zeigt eine Aufstellung der wahrscheinlichsten Verwandtschaftsverhältnisse nach der Analyse mit Familias 3 (EGELAND ET AL., 2000, KLING ET AL., 2014B). Eine ausführliche Auflistung der getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den einzelnen Bestatteten findet sich im Anhang in Tabelle A 18 bis Tabelle A 27. Unter den Mehrfachbestattungen befinden sich sowohl solche, die eine enge verwandtschaftliche Beziehung der Bestatteten vermuten lassen als auch einige, bei denen ein Ausschluss einer (engen) verwandtschaftlichen Bindung wahrscheinlich ist.

**Tabelle 37 | Wahrscheinlichste verwandtschaftliche Verhältnisse innerhalb der Mehrfachbestattungen aus Altenerding.** Angegeben ist jeweils die nach der Berechnung mit Familias wahrscheinlichste verwandtschaftliche Beziehung zwischen den Individuen innerhalb einer Mehrfachbestattung. Es treten sowohl enge verwandtschaftliche Verhältnisse als auch Verwandtschaftsausschlüsse auf. Grau hinterlegte Mehrfachbestattungen fallen in den für die fragliche Pestepidemie relevanten Zeitrahmen.

Bestattung	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
AE 96 – AE 97	Mutter - Tochter	0,5	120,11	0,562
AE 127 – AE 128	Geschwister	0,5	46,21	0,296
AE 349 – AE 350	Cousins	0,125	1,15	0,205
AE 468 – AE 469	H <sub>0</sub>	0	1	0,335
AE 887 – AE 888	Vater - Sohn	0,5	162,42	0,830
AE 1004 – AE 1005	Halbgeschwister	0,25	1,96	0,319
AE 1154 – AE 1155	H <sub>0</sub>	0	1	0,584
AE 1175 – AE 1176	Cousins	0,125	1,17	0,355
AE 1184 – AE 1185	Kein Verhältnis wahrscheinlicher oder unwahrscheinlicher als H <sub>0</sub> – nicht ausreichend Marker zur Verfügung			
AE 1223 – AE 1241	H <sub>0</sub>	0	1	0,438

Die einzigen Individuen, bei denen eine Verwandtschaft sicher ausgeschlossen werden kann, sind in den Mehrfachbestattungen AE 468 und AE 469 sowie AE 1223 und AE 1241, die in die

Untersuchung mit einbezogenen Nachbestattungen, und AE 1154 und AE 1155 zu finden. In den Bestattungen AE 96/ AE 97, AE 127/ AE 128 und AE 887/ AE 888 kann eine enge Verwandtschaft sicher angenommen werden. Bei den beiden Bestattungen AE 349/ AE 350 und AE 1175/ AE 1176 scheint eine entfernte Verwandtschaft zu bestehen (siehe Tabelle 37 für die genauen Verhältnisse in den einzelnen Bestattungen).

Im Fall der Bestattungen der beiden Kinder AE 1004 und AE 1005 gibt es nur bei einem Marker eine Überschneidung zwischen beiden Individuen, das getestete Verwandtschaftsverhältnis bleibt somit vage. Bei den beiden Kindern AE 1184 und AE 1185 konnten keine Marker sicher bei beiden Individuen festgestellt werden, daher kann hier keine Aussage zur Verwandtschaft getroffen werden. Lediglich durch die Übereinstimmung des mitochondrialen Haplotypen der beiden bleibt eine Verwandtschaft wahrscheinlich.

Nur zwei Bestattungen, die in den Zeitraum fallen, in dem die Pest bereits für Aschheim nachgewiesen wurde (HARBECK ET AL., 2013; grau hinterlegte Bestattungen in Tabelle 37), zeigen einen Verwandtschaftsausschluss.

#### **4.2.2.6 Nachweis von *Yersinia pestis* in Altenerding**

Im Zuge des Screenings auf das Vorhandensein von *Y. pestis*-spezifischer DNA in den Proben vom Fundplatz Altenerding konnten zwei Proben aus der Mehrfachbestattung AE 1175/ AE 1176 positiv getestet werden. Tabelle 38 gibt einen Überblick über die getesteten Proben aus den Mehrfachbestattungen und das entsprechende Resultat.

**Tabelle 38 | Ergebnisse des *pla*-Screenings auf die Anwesenheit von *Yersinia pestis* im Probenmaterial.** Von allen Individuen aus Altenerding wurde jeweils eine Probe mit ins Screening einbezogen, bei Individuen aus dem fraglichen Zeitrahmen wurden beide Proben gescreent. Im Doppelgrab AE 1175/1176 erbrachte von jedem Individuum jeweils eine Probe einen positiven Nachweis (grau hinterlegt).

Grab	Probe	Ergebnis <i>pla</i> -Screening
96	16	negativ
97	26	negativ
127	16	negativ
	36	negativ
128.I	28	negativ
	18	negativ
128.II	26	negativ
	46	negativ
349	17	negativ
	27	negativ
350	55	negativ
	85	negativ
468	65	negativ
469	36	negativ
887	33	negativ
888	36	negativ
1004	65	negativ
	75	negativ
1005	64	negativ
	74	negativ
1154	16	negativ
	36	negativ
1155	75	negativ
	84	negativ
1175	16	negativ
	47	positiv
1176	26	negativ
	46	positiv
1184	55	negativ
1185	64	negativ
1223	46	negativ
1241	16	negativ
	17	negativ

### 4.2.3 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen der Proben aus Aschheim

Nachfolgend sind die Ergebnisse für die analysierten Proben vom Fundplatz Aschheim aufgeführt.

#### 4.2.3.1 Quantifizierung der DNA-Menge

Die Quantifizierungsergebnisse für die Proben aus Aschheim sind in Tabelle 39 aufgeführt. Insgesamt lagen die Werte amplifizierbarer Moleküle unter jenen von Altenerding. Dennoch liegen die Mittelwerte der Quantifizierungsreaktionen bis auf eine Ausnahme (A 77) über 1.000 Molekülen. Da auch A 77 sehr nahe an diesen Wert heranreicht und sich bei der Amplifikation

der HVR I keine Unstimmigkeiten zwischen beiden Extrakten ergaben, wurde auch vom Fundplatz Aschheim keine der untersuchten Proben von den weiteren Analysen ausgeschlossen.

**Tabelle 39 | Ergebnisse der Quantifizierung amplifizierbarer Moleküle des mitochondrialen Genoms für Aschheim.** Aufgeführt sind die von jedem Individuum verwendeten Proben sowie die daraus bestimmten durchschnittlichen Molekülzahlen pro Reaktion und die jeweilige Standardabweichung. Die Ermittlung der durchschnittlichen Molekülzahl erfolgte mittels Duplikaten in der Quantifizierungsreaktion.

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle/ 2 $\mu$ l
A 56	1	Zahn 17	2.546 $\pm$ 1
	2	Zahn 48	1.242 $\pm$ 147
A 57	1	UK-Molar	26.088 $\pm$ 1.779
	2	OK-Milchmolar	172.303 $\pm$ 7.113
A 58	1	Zahn 27	6.848 $\pm$ 2.044
	2	UK-Caninus	2.050 $\pm$ 806
A 59	1	Zahn 28	3.312 $\pm$ 975
	2	Zahn 48	1.991 $\pm$ 195
A 60	1	Zahn 26	755 $\pm$ 224
	2	Zahn 23	7.310 $\pm$ 4.295
A 76	1	Zahn 17	1.299 $\pm$ 613
	2	Zahn 38	9.903 $\pm$ 10.583
A 77	1	Zahn 36	836 $\pm$ 238
	2	Zahn 33	940 $\pm$ 1.040
A 78	1	Zahn 36	5.095 $\pm$ 71
	2	OK-Caninus	12.347 $\pm$ 6.515
A 82	1	Zahn 16	11.045 $\pm$ 1.547
	2	OK-Incisivus	12.254 $\pm$ 445
A 119	1	Zahn 27	1.941 $\pm$ 1.033
	2	Zahn 46	15.176 $\pm$ 1.784
A 120	1	Zahn 26	12.042 $\pm$ 5.719
	-	-	-
A 126	1	UK-Molar	75.549 $\pm$ 37.974
	2	OK-Caninus	132.440 $\pm$ 5.594

#### 4.2.3.2 Amplifikation der HVR I aller Individuen aus Aschheim

Tabelle 40 zeigt die Ergebnisse der Sequenzierung der HVR I der in dieser Arbeit untersuchten Individuen vom Fundplatz Aschheim. Wie auch bei Altenerding (siehe 4.2.1.2) trug ein Individuum (A 58) eine Mutation an Position 16189, die in den Sequenzierungsreaktionen zu einer nicht auswertbaren Sequenz ab dieser Position führte. Dennoch konnte durch die übrigen Fragmente mit Überlappungen soweit sequenziert werden, dass eine vollständige Sequenz vorliegt. Bei den meisten Individuen konnten sowohl die kürzeren als auch die längeren Fragmente amplifiziert werden. Lediglich bei den Individuen A 60, A 77 und A 119 konnten die längeren Fragmente nicht amplifiziert werden. Bei A 76 konnte lediglich Fragment G nicht

amplifiziert werden. Hier wurden die Sequenzen mit zusätzlichen Amplifikationen der kürzeren Fragmente generiert.

Für Aschheim konnten in den drei untersuchten Mehrfachbestattungen sechs unterschiedliche Haplogruppen identifiziert werden. Die Nummerierung der Haplotypen erfolgt dabei fortlaufend von mt14 – 17. Einige untersuchte Individuen zeigen in der HVR I dasselbe Motiv wie Individuen aus Altenerding. Deren Nummerierung wurde auch für Aschheim beibehalten.

**Tabelle 40 | Ergebnisse der Sequenzierung der hypervariablen Region I und eines Abschnitts der kodierenden Region des mitochondrialen Genoms aller untersuchten Individuen aus Aschheim.** Angegeben sind Unterschiede zur rCRS (zweite Zeile; ANDREWS ET AL., 1999). Ein „·“ zeigt an, dass an dieser Stelle kein Unterschied zur Referenz identifiziert werden konnte. In der Spalte „Haplotyp“ findet sich die Bezeichnung der unterschiedlichen identifizierten Haplotypen, die fortlaufend nummeriert sind und lediglich der Unterscheidung unterschiedlicher Sequenzmotive dienen. In der Spalte „Hg“ ist die Schätzung der Haplogruppe, wie sie mit Hilfe des mtDNManagers durchgeführt wurde, angegeben. Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	7028	16069	16093	16126	16129	16189	16192	16270	16288	16294	16304	16362	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenz in Europa
rCRS	C	C	T	T	G	T	C	C	T	C	T	T	rCRS	H2a2	0,12245
A 56	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	C	·	mt11	H5	0,01772
A 57	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	mt1	H2a2	0,12245
A 58	T	·	C	·	A	C	·	T	·	·	·	·	mt14	U5	nicht in Datenbank
A 59	·	·	·	·	·	·	T	·	·	·	C	·	mt15	H5	0,00035
A 60	T	T	·	C	·	·	·	·	·	·	·	·	mt16	J1	0,02268
A 76	T	T	·	C	·	·	·	·	·	·	·	·	mt16	J1	0,02268
A 77	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	C	·	mt11	H5	0,01772
A 78	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	mt1	H2a2	0,12245
A 82	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	mt1	H2a2	0,12245
A 119	·	·	·	·	·	·	·	·	C	T	·	C	mt17	H8	nicht in Datenbank
A 120	·	·	·	·	·	·	·	·	C	T	·	C	mt17	H8	nicht in Datenbank
A 126	·	·	·	·	·	·	·	·	C	T	·	C	mt17	H8	nicht in Datenbank

In der Dreifachbestattung mit zwei erwachsenen Frauen und einem Kind (A 119/A 120/A 126) zeigen alle Bestatteten das gleiche Sequenzmotiv in der HVR I. Dagegen zeigen die Individuen aus der Fünffachbestattung (A 56/A 57/A 58/A 59/A 60) und der Vierfachbestattung (A 76/A 77/A 78/A 82) jeweils immer unterschiedliche Sequenzmotive. Hier lassen sich jedoch identische HVR I-Sequenzen bei den Individuenpaaren A 56/A 77 und A 60/A 76 feststellen.

Die Individuen A 56 und A 77 zeigen weiterhin in der HVR I die gleiche Sequenz wie die beiden Altenerdinger Individuen AE 1184 und AE 1185. Die Individuen A 57, A 78 und A 82 zeigen das gleiche HVR I-Motiv wie die Individuen AE 96, AE 97, AE 1004, AE 1005, AE 1154 und AE 1241. Wie bereits unter 4.2.1.2 beschrieben, handelt es sich dabei um Sequenzen, die im untersuchten Abschnitt keinen Unterschied zur rCRS (ANDREWS ET AL., 1999) aufweisen.

#### 4.2.3.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung

Tabelle 41 zeigt die Ergebnisse der Analysen der autosomalen STRs der untersuchten Individuen aus Aschheim.

**Tabelle 41 | Ergebnisse der Analysen der autosomalen STRs der Individuen aus Aschheim.** Dargestellt sind die Marker mit den für die jeweiligen Individuen bestimmten Allelen. Allele in Klammern konnten nur einmal in drei unabhängigen Versuchen amplifiziert werden. Allele mit einem „?“ stellen wahrscheinlich Artefakte dar.

Individuum	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelo
A 56	-	-	(17, 18)	-	8, 9	14, (16)	(12, 13)	X
A 57	-	-	(16, 18)	-	(6, 8)	(17)	(13), (15)	(X)
A 58	-	-	(16)	-	7, 8	(15, 17)	(11, 14)	(XY)
A 59	-	-	(16, 17), (20?)	-	6, 8	15	10, (13)	XY
A 60	-	(32.2, 33)	(17, 18)	-	(8, 9.3)	(16, 19)	(13, 14)	(XY)
A 76	-	-	17	(12.2)?	8, 9.3	(14), 15	13, 14	X
A 77	-	-	(17, 18)	-	9, 9.3	14	12, (13)	X
A 78	-	-	(14)	-	(7)	12, (14)	(10),13	(X)
A 82	(20)	-	(16)	(14, 18)	6, (8)	(14), (16)	(13, 15)	(X)
A 119	-	-	(12), (14)	-	6	(14), (15), 17	12, 13	(X)
A 120	-	-	(14), (17)	-	6, (9.3)	(14), (15), (17)	(13)	X
A 126	-	-	(14, 16), (17)	-	6, 8	14, 15	(7, 13), (12)	X

Insgesamt waren sehr wenige Marker bei nur wenigen Individuen amplifizierbar und vor allem replizierbar. Die besten Ergebnisse konnten dabei für den Marker TH01 erzielt werden, bei dem zehn von zwölf Individuen reproduzierbare Ergebnisse lieferten. Bei den übrigen Markern war häufig nur ein Allel von zweien replizierbar und kann somit als sicher gelten. Für die Marker FGA, D18S51 und D21S11 konnten jeweils nur bei einem Individuum einmalig Allele amplifiziert werden.

#### 4.2.3.4 Analyse von Y-STRs bei morphologisch und genetisch als männlich bestimmten

##### Individuen aus Aschheim

Tabelle 42 zeigt die Profile der vier Individuen aus Aschheim, die hinsichtlich ihrer Y-STRs untersucht wurden. Das beste Profil (A 59) lieferte dabei neun von 16 sicher bestimmbar Marker. Das schlechteste Profil besteht aus nur 3 sicher bestimmten Markern (A 77). Auch für die Individuen aus Aschheim wurde versucht, die Y-Haplogruppen mit Hilfe des Online-Tools (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) zu bestimmen. Aufgrund der relativ unvollständigen Profile sind die Wahrscheinlichkeiten der Zugehörigkeit zu den jeweiligen Haplogruppen zum Teil sehr niedrig.

**Tabelle 42 | Y-STR-Profile der untersuchten Individuen aus Aschheim.** Dargestellt sind die Allele, die für die jeweiligen Marker definiert werden konnten. Allele in Klammern sind dabei nur einmal in drei Replikationsversuchen aufgetreten, „-“ zeigt an, dass ein Marker nicht repliziert werden konnte. Ebenfalls angegeben sind die bestimmten Y-Haplogruppen (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) für die jeweiligen Individuen und die zugehörigen Wahrscheinlichkeiten für die bestimmten Haplogruppen. Heutige Frequenzen wurden mit Hilfe der Datenbank von <http://www.yhrd.org> bestimmt.

Individuum	A 58	A 59	A 60	A 77
Geschlecht (morph.)	m	m	indeterminiert	em
Marker				
DYS 19	-	-	-	-
DYS 385	-	11,12,14,16	11	-
DYS 389I	-	13	13	(14)
DYS 389II	-	-	-	-
DYS 390	-	23	-	-
DYS 391	10	11	11	-
DYS 392	-	-	-	-
DYS 393	13	13	13	13
DYS 437	14	15	14	14
DYS 438	13	12	10	-
DYS 439	-	-	-	-
DYS 448	-	-	-	-
DYS 456	-	15	-	-
DYS 458	18	17	-	15
DYS 635	21	-	23	-
Y GATA H4	-	-	-	-
Haplotyp	Y4	Y5	Y6	(Y7)
Haplogruppe	T	R1b	R1a	R1a
Wahrscheinlichkeit (%)	37,8	100	68,5	58 (63,7)
Heutige Frequenz Europa	nicht in Datenbank	0,00610	nicht in Datenbank	0,055556

Die Ergebnisse der aus Aschheim untersuchten Individuen deuten auf drei bzw. vier unterschiedliche Y-chromosomale Linien (Haplotypen) hin. Aufgrund der Unvollständigkeit der beiden Profile von A 60 und A 77 kann hier eine Übereinstimmung weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. Die Linien sind fortlaufend mit Y4 bis Y7 benannt und schließen das Vorhandensein von väterlichen Verwandtschaftslinien für die untersuchten Individuen zunächst aus.

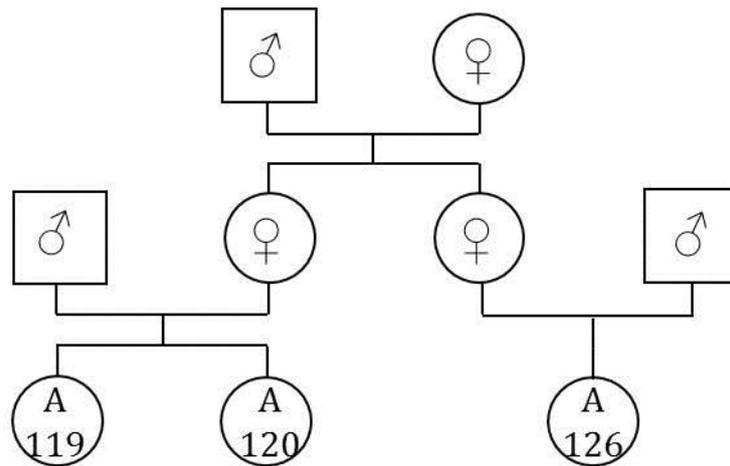
#### 4.2.3.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsberechnungen mit Familias

Die wahrscheinlichsten verwandtschaftlichen Verhältnisse der Individuen aus Aschheim sind in Tabelle 43 dargestellt. Wie auch bei den Ergebnissen vom Fundplatz Altenerding, finden sich ausführliche Tabellen mit allen getesteten Verwandtschaftsbeziehungen der jeweiligen Paarungen im Anhang (Tabelle A 28 – Tabelle A 43).

**Tabelle 43 | Wahrscheinlichste Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den jeweiligen Individuen nach Berechnung mit Familias.** Angegeben ist jeweils nur die wahrscheinlichste Verwandtschaftsbeziehung der jeweiligen Paarung.

Bestattung	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschafts-koeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
A 56 – A 58	Halbgeschwister	0,25	1,61	0,41
A 56 – A 59	H <sub>0</sub>	0	1	0,36
A 56 – A 76	H <sub>0</sub>	0	1	0,36
A 56 – A 77	Geschwister	0,5	23,30	0,69
A 56 – A 78	H <sub>0</sub>	0	1	0,44
A 56 – A 82	H <sub>0</sub>	0	1	0,44
A 58 – A 59	Halbgeschwister	0,25	1,61	0,41
A 76 – A 77	H <sub>0</sub>	0	1	0,57
A 76 – A 78	H <sub>0</sub>	0	1	0,32
A 76 – A 82	H <sub>0</sub>	0	1	0,36
A 77 – A 78	H <sub>0</sub>	0	1	0,43
A 77 – A 82	H <sub>0</sub>	0	1	0,31
A 78 – A 82	H <sub>0</sub>	kein Verhältnis wahrscheinlicher oder unwahrscheinlicher als H <sub>0</sub>		

Die erhaltenen Ergebnisse der Individuen A 57 und A 60 waren zu unsicher, um diese in die Analyse möglicher verwandtschaftlicher Beziehungen mit einbeziehen zu können bzw. diese mit der gebotenen Sicherheit verwenden zu können. Die Ergebnisse für die Individuen A 56/ A 58 und A 58/ A 59 basieren auf der Überschneidung nur eines Markers und müssen daher fraglich bleiben, zumal sich in diesen Fällen keine Hinweise auf eine mögliche Verwandtschaft aus der mitochondrialen oder Y-chromosomalen DNA ergeben haben. Einzig die Beziehung zwischen den Individuen A 56 und A 77 gründet zumindest in der Überschneidung zweier Marker und einer Übereinstimmung des mitochondrialen Haplotypen und kann daher als relativ sicher angesehen werden. Bei den Individuen A 78 und A 82 konnten wiederum keine sich überschneidenden Marker amplifiziert werden, sodass hier keine Aussagen über eine mögliche Verwandtschaft getroffen werden können. Für die Mehrfachbestattung A 119/ A 120/ A 126 wurden unterschiedliche Stammbäume getestet. Der wahrscheinlichste unter allen Getesteten ist in Abbildung 11 dargestellt.



**Abbildung 11 | Wahrscheinlichster Stammbaum für die Individuen aus der Mehrfachbestattung A 119/ A 120/ A 126 nach Berechnung mit Familias.** Der dargestellte Stammbaum ist unter den getesteten acht Varianten die wahrscheinlichste (LR: 7,68; PP: 0,25).

Eine Übersicht über alle getesteten Stammbaum-Varianten für diese Individuen findet sich im Anhang (Abbildung A 1; Tabelle A 92). Generell legen alle getesteten Varianten nahe, dass die Individuen durch ein verwandtschaftliches Verhältnis verbunden sind.

#### 4.2.4 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen aus Oberschneiding

Aus den untersuchten Proben von Oberschneiding konnte nur sehr wenig amplifizierbare DNA gewonnen werden (s. u.). Während es möglich war, die hypervariable Region I für alle untersuchten Individuen weitestgehend zu amplifizieren und zu sequenzieren, gab es bei der Untersuchung der nukleären Marker kaum positive Ergebnisse.

##### 4.2.4.1 Quantifizierung der DNA-Menge

Die Quantifizierungsreaktionen der mitochondrialen DNA der Individuen von Oberschneiding lieferten deutlich niedrigere Kopienzahlen als die Ergebnisse von Altenerding und Aschheim. Lediglich für eine Probe konnte eine Molekülzahl von über 1.000 pro Reaktion bestimmt werden (Tabelle 44). Die übrigen Proben zeigten Molekülzahlen, die deutlich darunter lagen. Wenngleich dies nicht zwangsläufig zum Ausschluss von Proben für die weiteren Analysen führen muss (siehe Diskussion), musste Probe 2 von OS 3 aufgrund der extrem geringen Molekülzahl von durchschnittlich 13 Molekülen pro Reaktion von nachfolgenden Analysen bzw. der Auswertung ausgeschlossen werden.

**Tabelle 44 | Ergebnisse der Quantifizierung amplifizierbarer Moleküle des mitochondrialen Genoms für Oberschneiding.** Die Tabelle zeigt die je Individuum verwendeten Proben und die daraus ermittelten durchschnittlichen Molekülzahlen je Reaktion mit Standardabweichung. Die mittleren Molekülzahlen wurden anhand von Duplikaten in der Reaktion berechnet.

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle/ 2 µl
OS 1	1	Zahn 46	1482 ± 379
	2	Zahn 43	163 ± 32
OS 2	1	Zahn 37	793 ± 184
	2	Zahn 15	296 ± 61
OS 3	1	Femur re.	590 ± 60
	2	Kalotte	13 ± 9

#### 4.2.4.2 Amplifikation der HVR I der Individuen aus Oberschneiding

Von allen Individuen konnte die HVR I sequenziert und ausgewertet werden. Tabelle 45 zeigt die Ergebnisse der Sequenzierungen. Ebenfalls gezeigt ist, dass sich für Individuum OS 1 an den Positionen 16256 und 16320 des mitochondrialen Genoms Diskrepanzen zwischen den beiden unterschiedlichen Extrakten aus verschiedenen Proben ergaben. Bei diesem Individuum konnte aus dem zweiten Extrakt Fragment E ebenfalls nicht amplifiziert werden, sodass die Mutation, die sich in diesem Bereich befindet nur aus dem ersten Extrakt repliziert werden konnte. Aufgrund der möglichen Kontamination während der Extraktion (siehe 4.2.1.1), werden bei diesem Individuum nur die Sequenzen aus dem ersten Extrakt für die weitere Auswertung berücksichtigt. Bei keinem der Individuen war die Amplifikation der größeren Fragmente erfolgreich.

In der Dreifachbestattung konnten drei unterschiedliche mitochondriale Haplotypen identifiziert werden.

**Tabelle 45 | Ergebnisse der Sequenzierung der mitochondrialen HVR I und eines Abschnitts der kodierenden Region für die Individuen aus Oberschneiding.** Dargestellt sind die Mutationen an den jeweiligen Positionen im mitochondrialen Genom. In der zweiten Zeile sind zur Orientierung die entsprechenden Nukleotide der rCRS (ANDREWS ET AL., 1999) aufgeführt. <sup>1</sup> aus Probe 1, zweimal überlappend amplifiziert; <sup>2</sup> aus Probe 2 nur einmal amplifiziert; \* nur aus erster Probe, da aus zweiter Probe nicht amplifizierbar. Ein „-“ markiert, dass der jeweiligen Position kein Unterschied zur rCRS festgestellt werden konnte. Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	7028	16069	16093	16126	16180	16192	16256	16270	16320	16399	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenz in Europa
rCRS	C	C	T	T	A	C	C	C	C	A	rCRS	H2a2	0,12245
OS 1	T	·	·	·	G	T	T <sup>1</sup> /C <sup>2</sup>	T	T <sup>1</sup> /C <sup>2</sup>	G*	mt18	(U5a)	nicht in Datenbank
OS 2	T	T	·	C	·	·	·	·	·	·	mt16	J1	0,02268
OS 3	·	·	C	·	·	·	·	·	·	·	mt19	H	0,00567

Das Individuum OS 2 zeigt in der HVR I eine identische Sequenz wie die beiden Aschheimer Individuen A 60 und 76. Im Gegensatz zu den Überschneidungen zwischen Altenerding und Aschheim handelt es sich hier jedoch um eine Sequenz, die sich von der rCRS unterscheidet.

#### 4.2.4.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung

Die Ergebnisse der Untersuchung autosomaler STRs für die Individuen aus der Oberschneidinger Dreifachbestattung sind in Tabelle 46 gezeigt.

**Tabelle 46 | Ergebnisse der Analysen der autosomalen STRs für die Individuen aus Oberschneidung.** Dargestellt sind die Marker mit den jeweils bestimmten Allelen. Allele in Klammern konnten nur einmal in drei unabhängigen Ansätzen amplifiziert werden.

Individuum	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
OS 1	-	-	-	-	6, 7	(16)	(11)	(X)
OS 2	-	-	(11)	-	6, 7	14, 17	11, 14	X(Y)
OS 3	-	-	(16, 20.2)	-	6, (9)	-	-	-

Lediglich für Individuum 2 konnten zumindest alle kurzen Marker amplifiziert und repliziert werden. Bei den beiden übrigen Individuen konnte lediglich für den kurzen Marker TH01 je ein Allel sicher identifiziert werden. Die Profile sind daher insgesamt sehr lückenhaft.

#### 4.2.4.4 Analyse von Y-STRs aller Individuen aus Oberschneidung

Die Ergebnisse der Y-chromosomalen Untersuchungen für die Individuen aus Oberschneidung sind in Tabelle 47 aufgelistet. Nur bei zwei von drei Individuen konnten überhaupt Marker amplifiziert werden und die beiden erhaltenen Profile bestehen dabei aus je zwei sicher bestimmten Markern.

**Tabelle 47 | Y-STR-Profile für die untersuchten Individuen aus Oberschneiding.** Nur bei zwei von drei Individuen waren überhaupt Marker amplifizierbar und hier jeweils nur zwei. Allele in Klammern bedeuten, dass ein Allel nur in einem von drei Versuchen amplifizierbar war, „-“ zeigt nicht amplifizierbare Marker an. Zusätzlich gezeigt sind Haplogruppenbestimmungen (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>). Aufgrund der wenigen vorhandenen Marker sind diese jedoch nur unter Vorbehalt zu betrachten und daher in Klammern gesetzt. Heutige Frequenzen wurden mit Hilfe der Datenbank von <http://www.yhrd.org> bestimmt. indet = indeterminiert.

<b>Individuum</b>	<b>OS 1</b>	<b>OS 2</b>	<b>OS 3</b>
Geschlecht (morph.)	eher w	indet.	indet.
<b>Marker</b>			
DYS 19	-	-	-
DYS 385	-	-	-
DYS 389I	-	-	-
DYS 389II	-	-	-
DYS 390	-	-	-
DYS 391	-	-	-
DYS 392	-	-	-
DYS 393	-	15	12
DYS 437	-	-	-
DYS 438	-	-	-
DYS 439	-	-	-
DYS 448	-	-	-
DYS 456	-	-	-
DYS 458	-	15	15
DYS 635	-	-	-
Y GATA H4	-	-	(11)
<b>Haplotyp</b>	-	-	-
<b>Haplogruppe</b>	-	<b>(I2b1)</b>	<b>(R1b)</b>
Wahrscheinlichkeit (%)	-	(79,4)	(30,1)
Heutige Frequenz Europe	-	0,00658	0,01961

Die beiden Individuen, bei welchen Marker amplifiziert werden konnten, gehören möglicherweise unterschiedlichen Haplotypen an. Aufgrund der wenigen verfügbaren Marker, kann eine genauere Zuordnung hier nicht erfolgen. Dementsprechend werden für die Oberschneidinger Individuen auch keine Nummern für Haplotypen vergeben.

#### 4.2.4.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsberechnungen mit Familias

Aufgrund der schlechten DNA-Erhaltung der Proben und der damit einhergehenden schlechten autosomalen STR-Profile (siehe 4.2.4.3) war eine Berechnung der Wahrscheinlichkeiten möglicher Verwandtschaften für die Individuen aus Oberschneiding nicht möglich.

#### 4.2.5 Ergebnisse der verwandtschaftlichen Analysen aus Ergolding

Bei den Individuen wurden im Rahmen dieser Arbeit lediglich bereits vorliegende Sequenzen der mitochondrialen HVR I repliziert (ROTT & HARBECK, 2014). Die Ergebnisse sind in Tabelle 48 dargestellt. Die bereits zuvor gewonnenen Ergebnisse konnten in dieser Arbeit bestätigt werden. Für das Individuum E 187b konnte in den Voruntersuchungen keine mitochondriale DNA amplifiziert werden, daher wurde dieses bei den Replikationsversuchen nicht berücksichtigt.

**Tabelle 48 | Ergebnisse der Sequenzierung der HVR I für die Individuen aus Ergolding.** Lediglich von den Individuen E 187a und E 187c war mitochondriale DNA amplifizierbar. In der zweiten Zeile sind die Nukleotide in der rCRS (ANDREWS ET AL., 1999) für die jeweilige Position aufgeführt. „-“ zeigt nicht amplifizierbare Abschnitte. „.“ zeigt an, dass an der jeweiligen Position gegenüber der rCRS eine Mutation festgestellt werden konnte (verändert nach ROTT & HARBECK, 2014). Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	16311	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenz in Europa
rCRS	T	rCRS	H2a2	0,12245
E 187a	C	mt20	H	0,01790
E 187b	-	-	-	-
E 187c	.	mt1	H2a2	0,12245

#### 4.2.6 Ergebnisse Tuffplattengräber nach Fundplätzen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Mehrfachbestattungen aus Tuffsteinplattengräbern von den Fundplätzen Herrsching am Ammersee, Wielenbach und Sindelsdorf untersucht. Für eine bessere Übersichtlichkeit sind die erhaltenen Ergebnisse im Folgenden jeweils aufgeteilt nach den entsprechenden Fundplätzen. Der Übersichtlichkeit halber finden sich Stammbäume, die mit den hier erhaltenen Ergebnissen generiert wurden, erst an den entsprechenden Stellen im Diskussionsteil.

Quantifizierungsergebnisse liegen nur für einige der aus den Tuffplattengräbern stammenden Proben vor. Die Proben dieses Themenkomplexes wurden im Rahmen einer Masterarbeit zunächst vorläufig und unvollständig bearbeitet (TURNER, 2015). Es zeigte sich jedoch, dass ein Teil der dabei produzierten Ergebnisse als nicht sicher einzustufen ist, sodass die Reaktionen wiederholt werden mussten. Dadurch, dass die Menge an Probenmaterial, das v.a. in den Ossuarbefunden nur einem einzigen Individuum sicher zugeordnet werden konnte, limitiert war, konnten einige Quantifizierungsreaktionen nicht noch einmal wiederholt werden, da der Erlangung möglichst vollständiger HVR I-Sequenzen und STR-Profile, die für die nachfolgende Verwandtschaftsbestimmung wertvoller sind, Vorzug gegeben wurde. Die fehlenden Quantifizierungsergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen durch „n.v.“ gekennzeichnet.

In der erwähnten Arbeit (TURNER, 2015) wurden zudem nicht-reproduzierte und damit unvollständige mitochondriale HVR I-Sequenzen und Y-STR-Profile generiert. Diese mussten zum Teil vom Autor dieser Arbeit wiederholt werden. Da die Wiederholungen in der Regel eine Bestätigung der bereits einmalig vorgelegenen HVR I-Sequenzen und Y-STR-Profile lieferten, wird hier auf eine Gegenüberstellung der Ergebnisse verzichtet und lediglich im Text darauf

verwiesen, wenn sich Unterschiede zu TURNER (2015) ergeben haben. Für die Y-STRs zeigt Tabelle A 14 die Daten getrennt.

#### 4.2.6.1 Quantifizierung der DNA-Menge

Der DNA-Erhalt der Individuen aus Herrsching am Ammersee kann, wie Tabelle 49 zeigt, mit Werten von mindestens 2000 Ausgangsmolekülen pro Reaktion als durchgehend gut bis sehr gut bewertet werden.

**Tabelle 49 | Ergebnisse der Quantifizierungsreaktionen der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.** Die Daten sind angegeben, soweit sie durch den Verfasser der Arbeit selbst produziert wurden. Mit jeweils mehr als 2000 Ausgangsmolekülen pro Reaktion ist der DNA-Erhalt der Proben als gut bis sehr gut zu bewerten. Die Tabelle zeigt die je Individuum verwendeten Proben und die daraus ermittelten durchschnittlichen Molekülzahlen je Reaktion mit Standardabweichung. „n.v.“ zeigt Proben an, zu denen keine sicheren Quantifizierungsergebnisse vorhanden sind.

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle/ 2 µl
HE 9	1	Zahn 17	25.665 ± 6.297
	2	Zahn 46	n.v.
HE 10/1	1	Zahn 46	30.167 ± 13.673
	2	Zahn 48	n.v.
HE 10/3	1	Zahn 47	36.043 ± 20.049
	2	Zahn 48	n.v.
HE 10/4	1	Zahn 27	2.121 ± 42
	2	Zahn 17	n.v.

Ein anderes Bild zeigt sich bei der Betrachtung der Ergebnisse der Mehrfachbestattungen aus Wielenbach (Tabelle 50). Während hier in Grab 20 jeweils nur sehr geringe Startquantitäten pro Reaktion zu verzeichnen waren, sind die Quantifizierungsergebnisse der Individuen aus der Mehrfachbestattung 34 vergleichbar zu jenen aus Herrsching am Ammersee.

**Tabelle 50 | Quantifizierungsergebnisse der Individuen aus den untersuchten Bestattungen aus Wielenbach.** Während die Proben 2 und 4 aus der Bestattung 20 einen guten DNA-Erhalt aufweisen, liegen die Quantifizierungsergebnisse für die übrigen Proben sehr niedrig. Die Proben aus Mehrfachbestattung 34 zeigen eine durchweg gute Erhaltung der DNA. Für WB 32 liegen leider keine sicheren Quantifizierungsergebnisse vor. Die fehlenden Quantitäten sind mit „n.v.“ gekennzeichnet. Die Tabelle zeigt die je Individuum verwendeten Proben und die daraus ermittelten durchschnittlichen Molekülzahlen je Reaktion mit Standardabweichung.

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle/ 2 $\mu$ l
WB20/1	1	Zahn 38	45 $\pm$ 0,21
	2	Zahn 26	n.v.
WB20/2	1	Zahn 46	5.133 $\pm$ 546
	2	Zahn 47	5.227 $\pm$ 153
WB20/3	1	Knochenfragment	92
WB20/4	1	Zahn 36	30.367 $\pm$ 1.115
	2	Zahn 35	n.v.
WB20/5	1	Zahn 35	235 $\pm$ 78
	2	Zahn 34	n.v.
WB20/6	1	Zahn 44	185 $\pm$ 40
	2	Zahn 41	n.v.
	3	Zahn 45	n.v.
	4	Zahn 32	n.v.
WB32	1	Zahn 74	n.v.
	2	Zahn 64	n.v.
WB34/1	1	Zahn 48	14.123 $\pm$ 93
	2	Zahn 46	n.v.
WB34/2	1	Zahn 36	8.971 $\pm$ 170
	2	Zahn 46	n.v.
WB34/A	1	Felsenbein re	19.361 $\pm$ 4.172
	2	Felsenbein li	n.v.
WB34/B	1	Felsenbein re	n.v.
	2	Felsenbein li	5.863 $\pm$ 1.726
WB34/C	1	Felsenbein re	34.643 $\pm$ 3.129
	2	Felsenbein li	n.v.
WB34/D	1	Felsenbein re	42.691 $\pm$ 2.580

Die Ergebnisse der Quantifizierungsreaktionen aus Sindelsdorf zeigen, soweit vorhanden, wiederum eine durchgängig gute DNA-Erhaltung der Proben an, da die Anzahl der Ausgangsmoleküle pro Reaktion im Durchschnitt jeweils deutlich über 16.000 Molekülen liegt (Tabelle 51). Lediglich für SD 212 liegen keine Quantifizierungsdaten vor, da die Reaktion aufgrund der o. g. Problematik nicht noch einmal wiederholt werden konnte.

**Tabelle 51 | Ergebnisse der qPCRs für die Individuen vom Fundplatz Sindelsdorf.** Angegeben sind die jeweils verwendeten Proben mit den zugehörigen durchschnittlichen Molekülzahlen je Reaktion mit der entsprechenden Standardabweichung. Die hohen Ausgangszahlen pro Reaktion sprechen für eine durchgehend gute DNA-Erhaltung der Proben. Proben, zu denen keine sicheren Quantifizierungsergebnisse vorliegen, sind mit „n.v.“ gekennzeichnet.

Individuum	Extraktion	Art der Probe	Ausgangsmoleküle/ 2 µl
SD 200	1	Zahn 46	n.v.
	2	Zahn 47	27.017 ± 2.059
SD 208	1	Zahn 46	n.v.
	2	Zahn 47	19.393 ± 3.220
SD 212	1	Zahn 38	n.v.
	2	Zahn 37	n.v.
SD 217	1	Zahn 27	16.860 ± 2.702
	2	Zahn 26	n.v.

#### 4.2.6.2 Amplifikation der HVR I der Individuen aus Tuffplattengräbern

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Sequenzierung der mitochondrialen hypervariablen Region I aus den Tuffplattengräbern jeweils aufgetrennt nach Fundorten aufgelistet. Tabelle 52 zeigt die Ergebnisse für den Fundplatz Herrsching am Ammersee. Insgesamt liegen drei unterschiedliche mitochondriale Haplotypen vor. Innerhalb der Mehrfachbestattung 10 kann eine Übereinstimmung in der HVR I-Sequenz bei den Individuen 10/1 und 10/3 festgestellt werden, welche keine Abweichungen zur Referenzsequenz aufweist. Individuum 10/4 und der Bestattete aus Grab 9 zeigen dagegen keine Übereinstimmung mit einem der anderen Individuen aus dem Fundkomplex. Übereinstimmungen mit Individuen anderer Fundplätze ergeben sich nur im Falle der beiden Individuen, die im untersuchten Teilbereich des Mitochondriums keine Abweichungen von der Referenz aufweisen.

**Tabelle 52 | Ergebnisse der Analyse der HVR I-Sequenz der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.**

Dargestellt sind die Unterschiede der jeweils bestimmten Sequenzen zur Referenzsequenz rCRS (ANDREWS ET AL., 1999). „.“ zeigt an, dass an der jeweiligen Position gegenüber der rCRS eine Mutation festgestellt werden konnte. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	7028	16298	16343	16390	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenzen in Europa
rCRS	C	T	A	G	rCRS	H2a2	0,12245
HE 9	T	C	.	.	mt21	HV0*	0,02835
HE 10/1	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
HE 10/3	.	.	.	.	mt1	H2a2	0,12245
HE 10/4	T	.	G	A	mt22	U3a	0,00195

Die Sequenzierungsergebnisse für den Fundplatz Wielenbach sind in Tabelle 53 dargestellt. Bei diesem Ossuarbefund stellte sich im Zuge der Analysen heraus, dass es sich bei den Proben, die

aufgrund des morphologischen Befundes den Individuen WB 20/1 und WB 34/C zugeordnet wurden, eigentlich um Proben von jeweils zwei Individuen handelt, was auch bei TURNER (2015) unerkant blieb. Diese sind in der folgenden Tabelle daher auch als unterschiedliche Individuen geführt (WB 20/1.1 und WB 20/1.2 sowie WB 34/C1 und WB 34/C2). Die Sequenz für WB 20/1.2 konnte aufgrund der geringen vorhandenen Probenmenge nur in einfacher Abdeckung und nicht vollständig (nur Fragmente C und E) sequenziert werden. Aufgrund des limitierten Probenmaterials trifft dies auch auf die mitochondriale Sequenz von WB34/C2 zu, da hier autosomale Marker amplifizierbar waren und daher deren Reproduktion priorisiert wurde.

Individuum WB 20/6 weist die gleiche HVR I-Sequenz wie einer der Bearbeiter auf (siehe Tabelle A 15). Da in diesem Fall keine autosomales STR-Profil generiert werden konnte (s.u.), um eine mögliche Kontamination auszuschließen, wurde diese Probe für weitere Interpretationen nicht berücksichtigt. Insgesamt finden sich in der Mehrfachbestattung WB 20 somit sechs unterschiedliche mitochondriale Haplotypen und daher keine Individuen, die einen gemeinsamen Haplotypen aufweisen. Lediglich Individuum WB 20/1.1 weist eine Sequenz auf, die im untersuchten mitochondrialen Bereich identisch mit derjenigen des Ergoldinger Individuums E 187 a ist (Tabelle 48).

Im Mehrfachgrab WB 34 zeigen fünf von sieben Bestatteten den gleichen mitochondrialen Haplotypen. Lediglich die Individuen WB 34/B und WB 34/C2 zeigen im untersuchten Bereich keine Übereinstimmungen mit den restlichen Individuen aus diesem Grab.

Übereinstimmungen des mitochondrialen Haplotyps zwischen den drei Gräbern WB 20, WB 32 und WB 34 können nicht festgestellt werden.

**Tabelle 53 | Ergebnisse der Sequenzierung der HVR I der untersuchten Individuen aus Wielenbach.** Dargestellt sind die Unterschiede der jeweiligen Sequenzen zur Sequenz der Referenzsequenz rCRS (ANDREWS ET AL., 1999). „-“ zeigt nicht amplifizierbare Abschnitte. „.“ zeigt an, dass an der jeweiligen Position gegenüber der rCRS eine Mutation festgestellt werden konnte. Die Benennung von Mischbasen erfolgt nach internationaler Nomenklatur. Da es sich bei den Individuen WB 20/1 und WB 34/C jeweils möglicherweise um zwei Individuen handelt, sind diese getrennt aufgeführt. Für die Proben WB 20/1.2 und WB 34/C2 konnte die HVR I im Gegensatz zur üblichen Vorgehensweise nur in einfacher Abdeckung und für WB 20/1.2 nur unvollständig sequenziert werden, da das Probenmaterial limitiert war. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	7028	16126	16182	16183	16189	16192	16209	16256	16270	16292	16294	16296	16298	16311	16356	16362	16394	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenzen in Europa
rCRS	C	T	A	A	T	C	T	C	C	C	C	C	T	T	T	T	C	rCRS	H2a2	0,12245
WB 20/1.1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	mt 20	H	0,01790
WB 20/1.2	-	-	.	.	.	T	.	-	-	-	-	-	-	.	.	.	.	mt 23	(H)	0,00230
WB 20/2	T	.	.	.	C	.	.	.	.	T(C)	C(T)	.	.	.	.	.	.	mt 24	H (T2)	nicht in Datenbank
WB 20/3	T	.	.	.	C	T	.	.	Y	Y	.	.	.	.	.	.	.	mt 25	H (U5)	nicht in Datenbank
WB 20/4	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	mt 26	H	0,00177
WB 20/5	.	.	-	-	-	-	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	mt 27	H	nicht in Datenbank
WB 20/6	T	.	.	.	.	T	.	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	mt 28	U5a	0,03013
WB 32	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	mt 29	H1b	0,00301
WB 34/1	T	C	C	C	C	.	.	.	.	.	T	T	C	.	.	.	.	mt 30	T2f	0,00124
WB 34/2	T	C	C	C	C	.	.	.	.	.	T	T	C	.	.	.	.	mt 30	T2f	0,00124
WB 34/A	T	C	C	C	C	.	.	.	.	.	T	T	C	.	.	.	.	mt 30	T2f	0,00124
WB 34/B	T	C	.	.	C	T	.	.	.	.	T	T	C	.	.	.	.	mt 31	T2f	nicht in Datenbank
WB 34/C1	(T)	C	C	C	Y	.	.	.	.	.	T	T	C	.	.	.	.	mt 30	T2f	0,00124
WB 34/C2	(T)	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	mt 32	T	0,00213
WB 34/D	T	C	C	C	C	.	.	.	.	.	T	T	C	.	.	.	.	mt 30	T2f	0,00124

Die Ergebnisse der Analyse der hypervariablen Region I der Individuen aus Sindelsdorf sind in Tabelle 54 gezeigt. Die Individuen 200, 208 und 212 weisen die gleiche HVR I-Sequenz auf. Dabei zeigen die drei Bestatteten eine Sequenz, die ebenfalls in Ergolding (E 187 a; Tabelle 48) und Wielenbach 20 (WB 20/1.1; Tabelle 53) vorkommt. Individuum 217 zeigt in der mitochondrialen DNA keine Übereinstimmung mit einem der anderen Individuen aus dem Fundkomplex.

**Tabelle 54 | Ergebnisse der Bestimmung der HVR I-Sequenz für die Individuen aus Sindelsdorf.** Dargestellt sind die Unterschiede der jeweiligen Sequenzen zur Sequenz der Referenzsequenz rCRS (ANDREWS ET AL., 1999). „-“ zeigt nicht amplifizierbare Abschnitte. „.“ zeigt an, dass an der jeweiligen Position gegenüber der rCRS eine Mutation festgestellt werden konnte. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden mit Hilfe des Online-Tools <http://www.empop.online> bestimmt.

Individuum	7028	16126	16153	16294	16296	16311	Haplotyp	Hg	Heutige Frequenzen in Europa
rCRS	C	T	G	C	C	T	rCRS	H2a2	0,12245
SD 200	T	.	.	.	.	C	mt20	H	0,01790
SD 208	T	.	.	.	.	C	mt20	H	0,01790
SD 212	T	.	.	.	.	C	mt20	H	0,01790
SD 217	T	C	A	T	T	.	mt33	T2e	0,00035

#### 4.2.6.3 Analyse autosomaler STRs und genetische Geschlechtsbestimmung der Individuen aus Tuffplattengräbern

Aufgrund des relativ guten Probenerhalts in allen Tuffplattengräbern konnten bei weitgehend allen Individuen nahezu vollständige STR-Profile gewonnen werden, die ausschließlich vom Autor dieser Arbeit produziert wurden. Lediglich die Individuen aus Grab 20 aus Wielenbach zeigten eine höhere Ausfallquote, sodass hier bei drei Individuen überhaupt keine STR-Marker amplifiziert werden konnten.

Die Profile der Individuen aus Herrsching am Ammersee (Tabelle 55) sind bei allen Individuen nahezu vollständig. Lediglich einzelne Allele konnten nur einmal beobachtet werden und können daher für die Analyse möglicher Verwandtschaften nicht berücksichtigt werden.

**Tabelle 55 | Ergebnisse der miniSTR-Analyse der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.** Dargestellt sind die Marker mit den jeweils bestimmten Allelen. Allele in Klammern konnten nur einmal in drei unabhängigen Ansätzen amplifiziert werden.

Individuum	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelo
HE 9	21, 24	29, 31.2	15, 16	16, 17	7, 9.3	17	12, (14)	XY
HE 10/1	21, 22	29, 31	17, 18	13, 15	6, 9.3	17	15, (16)	XY
HE 10/3	21, 22	29, 31	16, 17	12	6, 8	16	15, 16	XY
HE 10/4	21, 23	(29, 33.2)	16, 17	15, 17	7, 9.3	17	12	XY

Tabelle 56 zeigt die STR-Profile der Individuen aus den beiden untersuchten Mehrfachbestattungen aus Wielenbach sowie der ebenfalls untersuchten Einzelbestattung 32. Während die STR-Profile der Individuen aus Wielenbach Grab 34 und 32 annähernd vollständig sind, konnten aus Bestattung 20 nur Profile von zwei Individuen gewonnen werden. Bei Individuum WB 20/3 konnten zwar Allele amplifiziert werden, aufgrund der Limitierung des Probenmaterials konnte in diesem Fall jedoch keine Replikation der Ergebnisse mehr erfolgen, sodass dieses Individuum von allen nachfolgenden Analysen der autosomalen Marker ausgeschlossen werden musste. Bei drei Individuen aus dieser Bestattung konnten keine autosomalen Marker amplifiziert werden.

**Tabelle 56 | STR-Profile der untersuchten Individuen aus Wielenbach.** Dargestellt sind die Marker mit den jeweils bestimmten Allelen. Allele in Klammern konnten nur einmal in drei unabhängigen Ansätzen amplifiziert werden.

Individuum	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelo
WB 20/1	-	-	-	-	-	-	-	-
WB 20/2		30, (31)	16, 18	13, 18	6, 8	15, 17	13, (14)	XY
WB 20/3	(24)	-	(14, 18)	(15, 18)	(5, 9.3)	(16, 18)	(9, 10)	-
WB 20/4	21, 23	27, 30	16, 17	14, 18	6, 9.3	16	13	XY
WB 20/5	-	-	(18)	-	-	-	(13)	-
WB 20/6	-	-	-	-	-	-	-	-
WB 32	23	(34.2)	14, 17	14, (17)	6, (8)	10, 16	10, 12	(X)Y
WB 34/1	(20, 22)	-	16, 18	14, 18	6, 9.3	(14, 15), 16	10	(XY)
WB 34/2	19, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
WB 34/A	19, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
WB 34/B	23, 25	28, 29	17, 18	16, 21	6, 9.3	15, 16	13, 15	X
WB 34/C-1	(23), 24	29	17, 18	12, 15	9, 9.3	(12), 16, (18)	13, 15	XY
WB 34/C-2	21	29, 32.2	17, 18	13, 16	7, 9.3	14, 15	12	XY
WB 34/D	22, 25	(29, 30)	16, 18	14, 18	6, 9.3	15, 16	(6), 10	XY

Im Gegensatz zu TURNER (2015), der aufgrund morphologischer Kriterien die Proben WB 34/A und WB 34/1 sowie WB 34/B und WB 34/2 jeweils demselben Individuum zuordnet, zeigen die generierten Ergebnisse der autosomalen STRs ein anderes Ergebnis: Die Proben WB 34/2 (Zahnprobe) und WB 34/A (Felsenbeinprobe) weisen ein absolut identisches STR-Profil auf. Da auch eine vollständige Übereinstimmung sowohl der mtDNA-Sequenz (siehe 4.2.6.2, Tabelle 53) als auch der Y-chromosomalen STRs vorliegt (siehe 4.2.6.4, Tabelle 60), handelt es sich bei WB 34/2 und WB 34/A um Proben eines einzigen Individuums. Daher werden die beiden Proben in den nachfolgenden Analysen unter WB 34/A als ein Individuum geführt. Die Individuen WB 34/1 (Zahnprobe) und WB 34/D weisen ebenfalls sehr viele Überschneidungen in ihren STR-Profilen auf. Aufgrund der Unvollständigkeit des Profils von WB 34/1 kann jedoch nicht mit Sicherheit geklärt werden, ob es sich bei diesen um ein Individuum oder zwei nahe verwandte Individuen handelt. Berechnungen zu verwandtschaftlichen Verhältnissen werden für WB 34/1 und WB 34/D durchgeführt, doch wird wegen der möglichen Identität der beiden für die

Auswertung lediglich WB 34/D berücksichtigt, um mögliche falsche Interpretationen zu vermeiden (siehe Diskussionsteil 5.5.3.2).

Die Individuen aus Sindelsdorf zeigten ebenfalls einen sehr guten Erhaltungszustand, sodass auch hier bei allen Individuen annähernd vollständige STR-Profile vorliegen (Tabelle 57).

**Tabelle 57 | Ergebnisse der STR-Typisierungen der Individuen aus Sindelsdorf.** Dargestellt sind die Marker mit den jeweils bestimmten Allelen. Allele in Klammern konnten nur einmal in drei unabhängigen Ansätzen amplifiziert werden.

Individuum	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelo
SD 200	(17, 24), 25	(29.2, 32.2)	16, 18	(15), 16	8, 9.3	14, 16, 17	12, 13	X
SD 208	22, 24	31.2, 33.2	16, 18	18, 20	6, 9.3	14, 17	12, 13	XY
SD 212	22, 25	29, 31.2	17, 18	16, 20	6, 8	14, 15	12	XY
SD 217	21, 22	28, 32.2	15, 18	17, 18	9, 9.3	16, 18	14, 15	XY

#### 4.2.6.4 Analyse von Y-STRs der männlichen Individuen aus Tuffplattengräbern

Sämtliche als männlich bestimmte Individuen von allen Fundplätzen wurden in die Analyse der Y-chromosomalen STRs miteinbezogen, ebenso wie Individuen mit einer unsicheren morphologischen Geschlechtsansprache.

Aus Herrsching liegen ausschließlich männliche Individuen vor, deren molekularer Erhalt es erlaubt hat, beinahe vollständige Y-STR-Profile von allen vier Bestatteten zu generieren (Tabelle 58). Aufgrund der Ähnlichkeit der bestimmten Profile zwischen HE 10/1 und HE 10/3 besteht hier die Möglichkeit, dass die beiden Männer über eine väterliche Linie verwandt sind. Beide zeigen dagegen zu viele Unterschiede zum Profil von HE 9, sodass eine Verwandtschaft väterlicherseits dieser Individuen als eher unwahrscheinlich gelten muss. Es könnte eine väterliche Verwandtschaftslinie zwischen HE 9 und HE 10/4 postuliert werden, wenngleich das Profil von HE 10/4 einige unsichere Allele aufweist, die eine endgültige Aussage hierüber erschweren.

**Tabelle 58 | Ergebnisse der Y-STR-Analysen der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.** Alle Individuen lieferten gute Ergebnisse, drei Individuen erlaubten sogar die Erstellung annähernd vollständiger Profile. Mögliche verwandtschaftliche Beziehungen bestehen jeweils zwischen den Individuen HE 9 und HE 10/4 sowie zwischen HE 10/1 und HE 10/3. Allele in Klammern traten nur in einer von drei PCRs auf. „-“ zeigt nicht amplifizierbare Marker an. Zusätzlich gezeigt sind mögliche Zuordnungen zu einer Y-chromosomalen Haplogruppe, die mit Hilfe des Onlinetools (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) bestimmt wurden, sowie die zugehörige Wahrscheinlichkeit. In Klammern angegeben sind ebenfalls die Haplogruppe und Wahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung aller Allele, auch wenn diese nur einmal auftraten. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden nur mit sicheren Allelen mit Hilfe des Online-Tools <http://www.yhrd.org> bestimmt.

<b>Grab</b>	<b>9</b>	<b>10/1</b>	<b>10/3</b>	<b>10/4</b>
Geschlecht (morph.)	m	m	m	m
Marker				
DYS 19	(14)	-	-	-
DYS 385	11,14	(14)	(11), 14	11,14
DYS 389I	(13)	12	12	13
DYS 389II	(29)	(29)	(29)	-
DYS 390	23	(23)	(23)	23
DYS 391	11	10	10	11
DYS 392	13	(9)	(11)	(10)
DYS 393	13	13	13	13
DYS 437	15	16	16	(15), (16)
DYS 438	12	(10)	10	(12)
DYS 439	12	(11)	(11)	(11), (12)
DYS 448	19	(20)	(20)	-
DYS 456	16	(14)	14	(14), (16)
DYS 458	(17)	15	15	17
DYS 635	23	22	-	-
Y GATA H4	12	(11)	11	13
<b>Haplotyp</b>	<b>Y8</b>	<b>Y3</b>	<b>Y3</b>	<b>Y9</b>
<b>Haplogruppe</b>	<b>R1b (R1b)</b>	<b>I1 (I1)</b>	<b>I1 (I1)</b>	<b>R1b (R1b)</b>
Wahrscheinlichkeit (%)	100 (100)	99,7 (99,6)	99,7 (99,6)	99,7 (100)
Heutige Frequenzen Europa	0,00332	0,01754	nicht in Datenbank	0,00109

Für die Individuen aus Wielenbach zeigte sich nach der Bestimmung der Y-chromosomalen STRs ein ähnliches Bild wie bei der Bestimmung der autosomalen STRs (siehe 4.2.6.3). Während die Individuen aus Mehrfachbestattung 20 keine oder unvollständige Profile lieferten, konnten in der Mehrfachbestattung 34 und der Bestattung 32 sehr gute und zum Teil vollständige Y-STR-Profile gewonnen werden. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Ergebnisse in diesem Fall getrennt nach den beiden Mehrfachbestattungen aufgeführt.

Für Wielenbach 20 konnten nur bei den beiden Individuen 2 und 4 Teilprofile gewonnen werden. Auch wenn die Profile unvollständig sind, zeigen sich doch bereits einige Unterschiede zwischen den beiden Individuen, die eine Verwandtschaft über eine väterliche Linie unwahrscheinlich machen bzw. ausschließen (Tabelle 59).

**Tabelle 59 | Y-STR-Profil der Individuen aus der Mehrfachbestattung Wielenbach 20.** Lediglich für die Individuen 2 und 4 konnten Teilprofile gewonnen werden. Die anderen lieferten in Übereinstimmung mit der Bestimmung der autosomalen STR-Profile keine Ergebnisse. Eine Verwandtschaft väterlicherseits zwischen den Individuen 2 und 4 scheint aufgrund der Differenzen zwischen den Teilprofilen unwahrscheinlich. Allele in Klammern traten nur in einer von drei PCRs auf. „-“ zeigt nicht amplifizierbare Marker an. Zusätzlich gezeigt sind mögliche Zuordnungen zu einer Y-chromosomalen Haplogruppe, die mit Hilfe des Onlinetools (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) bestimmt wurden, sowie die zugehörige Wahrscheinlichkeit. In Klammern angegeben sind ebenfalls die Haplogruppe und Wahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung aller Allele, auch wenn diese nur einmal auftraten. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden nur mit sicheren Allelen mit Hilfe des Online-Tools <http://www.yhrd.org> bestimmt.

Grab	20/1	20/2	20/3	20/4	20/5	20/6
Geschlecht (morph.)	m	eher m	eher w	m	w	m
Marker						
DYS 19	-	-	(13)	-	-	-
DYS 385	-	11,14	-	(15), 16	-	-
DYS 389I	-	13	-	13	-	-
DYS 389II	-	-	-	-	-	-
DYS 390	-	(24)	(22)	(22)	-	-
DYS 391	-	(10)	-	10	-	-
DYS 392	-	(11)	-	(12)	-	-
DYS 393	-	13	-	14	-	-
DYS 437	-	(14)	-	14	-	-
DYS 438	-	(11)	-	(10)	-	-
DYS 439	-	-	-	-	-	-
DYS 448	-	(20)	-	(20)	-	-
DYS 456	-	17	(14)	(17)	-	-
DYS 458	-	-	-	16	-	-
DYS 635	-	(23)	-	22	-	-
Y GATA H4	-	(12)	(12)	-	-	-
<b>Haplotyp</b>	-	<b>Y10</b>	-	<b>Y11</b>	-	-
<b>Haplogruppe</b>	-	<b>R1b (R1a)</b>	-	<b>I2b1 (I2b1)</b>	-	-
Wahrscheinlichkeit (%)	-	95,5 (100)	-	59,7 (99,5)	-	-
Heutige Frequenzen Europa	-	0,03333	-	0,00004	-	-

Während das erhaltene Profil des Individuums aus Bestattung 32 in Wielenbach einige unsichere Allele in seinem Profil aufweist, konnten für die männlichen Individuen aus Mehrfachbestattung 34 mit Ausnahme der Individuen 34/C1 und 34/C2 sehr gute bis annähernd vollständige Y-chromosomale STR-Profile gewonnen werden (Tabelle 60). Aufgrund der Ähnlichkeiten dieser Profile untereinander ist davon auszugehen, dass die Individuen über eine väterliche Linie miteinander verwandt waren. Die Individuen 34/2 und 34/A, die aufgrund der Ergebnisse der autosomalen STR-Analysen als ein Individuum aufgefasst werden müssen, weisen ebenfalls dasselbe Y-STR-Profil auf.

**Tabelle 60 | Ergebnisse der Analyse der Y-chromosomalen STRs der Individuen aus den Bestattungen Wielenbach 32 und 34.** Alle Individuen weisen eine weitgehende Übereinstimmung in ihren Y-STR-Profilen auf, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die Individuen in einem verwandtschaftlichen Verhältnis väterlicherseits stehen. Allele in Klammern traten nur in einer von drei PCRs auf. „-“ zeigt nicht amplifizierbare Marker an. Zusätzlich gezeigt sind mögliche Zuordnungen zu einer Y-chromosomalen Haplogruppe, die mit Hilfe des Onlinetools (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) bestimmt wurden, sowie die zugehörige Wahrscheinlichkeit. In Klammern angegeben sind ebenfalls die Haplogruppe und Wahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung aller Allele, auch wenn diese nur einmal auftraten. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden nur mit sicheren Allelen mit Hilfe des Online-Tools <http://www.yhrd.org> bestimmt. Db = Datenbank.

<b>Grab</b>	<b>32</b>	<b>34/1</b>	<b>34/2</b>	<b>34/A</b>	<b>34/B</b>	<b>34/C1</b>	<b>34/C2</b>	<b>34/D</b>
Geschlecht (morph.)	eher w	eher m	-	-	-	-	-	-
Marker								
DYS 19	-	-	(14)	14	-	-	-	(14)
DYS 385	(11,14)	(11,14)	11,14	11,14	-	(11,14)	-	11,14
DYS 389I	(13)	13	13	13	-	(13)	-	13
DYS 389II	(30)	(30)	(29)	30	-	-	-	(30)
DYS 390	(24)	(24)	(24)	24	-	-	-	24
DYS 391	10	10	10	10	-	(11)	-	10
DYS 392	-	(13)	(13)	13	-	(13)	-	13
DYS 393	14	13	13	13	-	(13)	-	13
DYS 437	14	(15)	15	15	(14)	(14), (15)	-	15
DYS 438	(12)	(12)	(12)	12	-	(12)	-	12
DYS 439	(11)	-	11	11	-	(11)	-	11
DYS 448	(20)	(20)	-	20	(19)	(17), (19)	-	20
DYS 456	14	15	15	15	-	(15)	-	15
DYS 458	(19)	19	19	19	-	(16)	-	19
DYS 635	23	23	(25)	23	-	(23)	-	23
Y GATA H4	(11)	(12)	12	12	(12)	(12)	(12)	(12)
<b>Haplotyp</b>	<b>Y12</b>	<b>Y13</b>	<b>Y13</b>	<b>Y13</b>	-	-	-	<b>Y13</b>
<b>Haplogruppe</b>	<b>I2b1 (R1b)</b>	<b>R1b (R1b)</b>	<b>R1b (R1b)</b>	<b>R1b</b>	<b>(R1b)</b>	<b>(R1b)</b>	-	<b>R1b (R1b)</b>
Wahrscheinlichkeit (%)	49,4 (64,9)	93,2 (100)	99,8 (100)	100	(54,7)	(100)	-	100 (100)
Heutige Frequenz Europa	0,00045	0,00142	0,00057	nicht in Db	-	-	-	nicht in Db

Vom Fundplatz Sindelsdorf liegen nach morphologischem Befund ein weibliches und drei männliche Individuen vor. In Übereinstimmung mit diesem Befund konnten bei dem weiblichen Individuum 200 keine Y-chromosomalen STRs amplifiziert werden, während bei den übrigen Individuen Y-chromosomale Allele amplifiziert werden konnten (Tabelle 61). Da jedoch für SD 208 und SD 217 nur Teilprofile vorliegen und für SD 212 kein Marker sicher repliziert werden konnte, können in diesem Fall keine Aussagen zu möglichen Verwandtschaften väterlicherseits getroffen werden, außer dass eine solche Verwandtschaft zwischen den beiden Teilprofilen eher auszuschließen ist.

**Tabelle 61 | Y-STR-Profil der männlichen Individuen vom Fundplatz Sindelsdorf.** Die Individuen aus den Gräbern 208 und 217 lieferten Profile, die größtenteils reproduziert werden konnten, der Mann aus Grab 212 lieferte lediglich Allele, die nur in je einer PCR amplifizierbar waren. Allele in Klammern traten nur in einer von drei PCRs auf. „-“ zeigt nicht amplifizierbare Marker an. Zusätzlich gezeigt sind mögliche Zuordnungen zu einer Y-chromosomalen Haplogruppe, die mit Hilfe des Onlinetools (Whit Athey's Haplogroup Predictor; <http://www.hprg.com/hapest5/>) bestimmt wurden, sowie die zugehörige Wahrscheinlichkeit. In Klammern angegeben sind ebenfalls die Haplogruppe und Wahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung aller Allele, auch wenn diese nur einmal auftraten. Kombinierte Ergebnisse aus TURNER (2015) und dieser Arbeit. Frequenzen wurden nur mit sicheren Allelen mit Hilfe des Online-Tools <http://www.yhrd.org> bestimmt.

Grab	208	212	217
Geschlecht (morph.)	m	eher m	eher m
Marker			
DYS 19	(14)	-	-
DYS 385	(14)	-	13, (17)
DYS 389I	12	(13)	12
DYS 389II	(29)	-	(31)
DYS 390	(22)	(24)	(22)
DYS 391	10	-	12
DYS 392	(11)	(9)	(12)
DYS 393	13	(13)	13
DYS 437	16	(14)	15
DYS 438	(10)	(11)	10
DYS 439	(11)	-	11
DYS 448	(21)	(20)	(21)
DYS 456	(14)	(17)	14
DYS 458	16	-	16
DYS 635	22	-	21
Y GATA H4	(11)	-	22
Haplotyp	<b>Y14</b>	-	<b>Y15</b>
Haplogruppe	<b>I1 (I1)</b>	<b>(E1b1b)</b>	<b>I2b (G2a)</b>
Wahrscheinlichkeit (%)	95,8 (93,8)	(61,3)	99,1 (76,2)
Heutige Frequenz Europa	0,00625	-	nicht in Datenbank

#### 4.2.6.5 Ergebnisse der Verwandtschaftsberechnungen mit Familias

Im Folgenden sind die Wahrscheinlichkeiten für mögliche Verwandtschaftsverhältnisse separat für die jeweiligen Fundplätze aufgeführt. Für eine bessere Übersicht sind bei den paarweisen Tests der Individuen gegeneinander immer nur die wahrscheinlichsten Beziehungen gelistet. Die Ergebnisse aller getesteten Verwandtschaften sind in Tabelle A 44 bis Tabelle A 91 im Anhang gezeigt.

Die Ergebnisse für den Fundplatz Herrsching sind in Tabelle 62 dargestellt. Hier besteht offensichtlich eine verwandtschaftliche Beziehung zwischen den beiden Gräbern 9 und 10. Auch innerhalb des Grabes 10 scheinen verwandtschaftliche Beziehungen möglich. So handelt es sich bei HE 10/1 und HE 10/3 wahrscheinlich um Geschwister. Das wahrscheinlichste Verhältnis dieser beiden zu HE 10/4 ist ein Großvater-Enkel-Verhältnis (siehe hierzu auch Diskussionsteil 5.5.3.1).

**Tabelle 62 | Übersicht über die möglichen verwandtschaftlichen Verhältnisse der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.** Es sind jeweils nur die wahrscheinlichsten verwandtschaftlichen Verhältnisse aufgelistet. Eine verwandtschaftliche Beziehung besteht sowohl zwischen den Gräbern 9 und 10 als auch innerhalb von Grab 10.

Bestattung	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschafts-koeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
HE9-HE10/4	Vater-Sohn	0,5	39,57	0,533
HE10/1-HE10/3	Geschwister	0,5	2,57	0,301
HE10/1-HE10/4	Vater-Sohn	0,5	8,01	0,420
HE10/3-HE10/4	H <sub>0</sub>	0	1	0,598
HE10/1-HE10/3-HE10/4	Großvater-Enkel	0,25	2,40	0,551

Aus der Bestattung Wielenbach 20 konnten nur von zwei Individuen ausreichend autosomale Marker für eine Berechnung mit Familias amplifiziert werden. Bei diesen beiden Individuen scheint eine genetische Beziehung möglich zu sein. Da die amplifizierbaren Y-chromosomalen Marker beider Bestattungen aus Wielenbach 20 nicht ausreichend waren, um mögliche Verwandtschaften zu den Individuen aus Wielenbach 32 und 34 auszuschließen, wurden hier ebenfalls Verwandtschaften getestet. Aufgrund der Vielzahl der Individuen und der unklaren chronologischen Reihenfolge der Bestattungen, wurden im Fall von Wielenbach alle Individuenpaare generell hinsichtlich aller möglichen Verwandtschaftsverhältnisse getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 63 gezeigt.

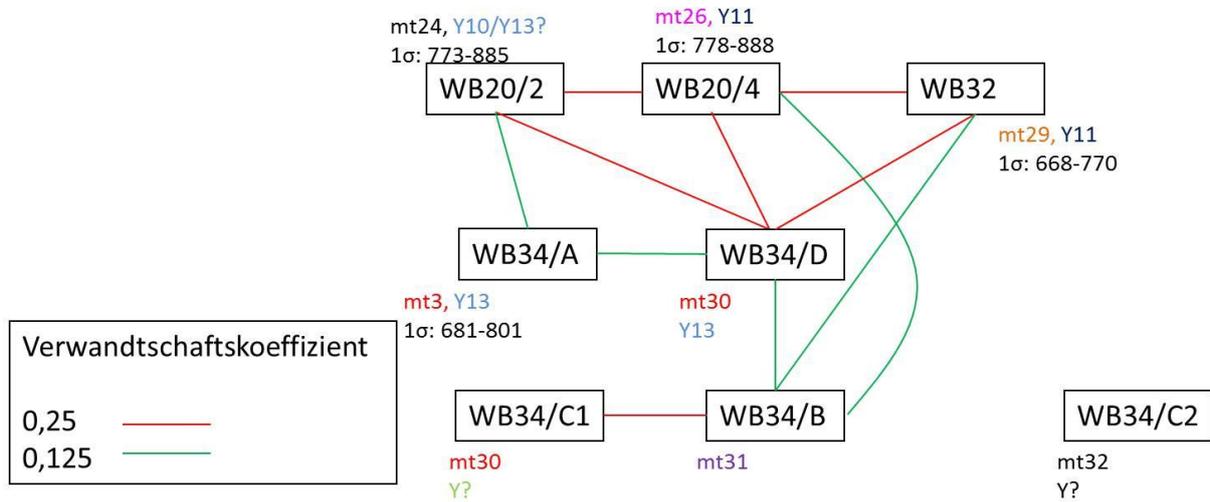
**Tabelle 63 | Übersicht über die möglichen verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen aus Wielenbach.** Aufgeführt ist jeweils nur das wahrscheinlichste verwandtschaftliche Verhältnis pro Individuenpaar. Es sind sowohl verwandtschaftliche Beziehungen innerhalb der Gräber 20 und 34 möglich als auch zwischen allen Gräbern. Der Verwandtschaftskoeffizient der möglichen Beziehungen liegt dabei in der Regel bei 0,25 bis 0,125.

Bestattung	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschafts-koeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
WB20/2-WB20/4		0,25	9,79	0,649
WB20/2-WB32	H <sub>0</sub>	0	1	0,459
WB20/2-WB34/1		0,25	2,01	0,193
WB20/2-WB34/A	Cousins	0,125	1,11	0,225
WB20/2-WB34/B	H <sub>0</sub>	0	1	0,351
WB20/2-WB34/C1	H <sub>0</sub>	0	1	0,488
WB20/2-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,462
WB20/2-WB34/D		0,25	2,01	0,201
WB20/4-WB32		0,25	4,60	0,220
WB20/4-WB34/1	Geschwister	0,5	8,35	0,455
WB20/4-WB34/A	H <sub>0</sub>	0	1	0,432
WB20/4-WB34/B	Cousins	0,125	1,17	0,224
WB20/4-WB34/C1	H <sub>0</sub>	0	1	0,538

Bestattung	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
WB20/4-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,575
WB20/4-WB34/D	Geschwister	0,5	2,70	0,245
WB32-WB34/1		0,25	14,61	0,229
WB32-WB34/A	H <sub>0</sub>	0	1	0,461
WB32-WB34/B	Cousins	0,125	1,51	0,223
WB32-WB34/C1	H <sub>0</sub>	0	1	0,492
WB32-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,517
WB32-WB34/D		0,25	4,36	0,244
WB34/1-WB34/A		0,25	3,92	0,216
WB34/1-WB34/B	H <sub>0</sub>	0	1	0,251
WB34/1-WB34/C1	Cousins	0,125	1	0,242
WB34/1-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,556
WB34/1-WB34/D	Geschwister	0,5	8.754,50	0,918
WB34/A-WB34/B	H <sub>0</sub>	0	1	0,356
WB34/A-WB34/C1	H <sub>0</sub>	0	1	0,280
WB34/A-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,355
WB34/A-WB34/D	Cousins	0,125	1,97	0,187
WB34/B-WB34/C1		0,25	1,92	0,190
WB34/B-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,285
WB34/B-WB34/D	Cousins	0,125	1,36	0,197
WB34/C1-WB34/C2	H <sub>0</sub>	0	1	0,516
WB34/C1-WB34/D	H <sub>0</sub>	0	1	0,473
WB34/C2-WB34/D	H <sub>0</sub>	0	1	0,557

Sowohl innerhalb der beiden Bestattungen als auch zwischen den beiden Tuffplattengräbern und der Einzelbestattung WB 32 bestehen verwandtschaftliche Beziehungen, die sich zwischen Verwandtschaftskoeffizienten von 0,25 und 0,125 bewegen, also auf eher entferntere Verwandtschaften hindeuten (Abbildung 12). Lediglich Individuum WB 34/C2 weist keine Verwandtschaft zu einem der anderen Individuen auf. Das engste verwandtschaftliche Verhältnis bestünde zwischen den Individuen WB 34/1 und WB 34/D, bei welchen es sich um Geschwister handeln könnte. Da jedoch nicht abschließend geklärt werden kann, ob es sich bei

diesen Proben möglicherweise um Proben desselben Individuums handelt, wird dieses Verwandtschaftsverhältnis für die weitere Auswertung nicht berücksichtigt werden, um darauf basierende mögliche falsche Interpretationen zu vermeiden. Im Folgenden wird lediglich Individuum WB 34/D, welches das vollständigere STR-Profil aufweist, berücksichtigt werden.



**Abbildung 12 | Übersicht über die mögliche verwandtschaftliche Verflechtung der Individuen aus den Bestattungen 20, 32 und 34 vom Fundplatz Wielenbach.** Dargestellt sind die Verwandtschaftskoeffizienten der wahrscheinlichsten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den jeweiligen Individuen. Bezüge bestehen sowohl zwischen beiden Tuffplattengräbern (WB 20 und WB 34) als auch zwischen den beiden Tuffplattengräbern und der Einzelbestattung WB 32. Die Nummerierung der mitochondrialen und Y-chromosomalen Haplotypen (TURNER, 2015, DIESE ARBEIT) erfolgte nach der internen Nummerierung, die bereits im Ergebnisteil eingeführt wurde. Bei den Individuen, wo eine Zuordnung möglich war, sind ebenfalls die entsprechenden Datierungen (1σ) angegeben.

In Sindelsdorf kann zwischen den Individuen 200, 208 und 212 eine genetische Beziehung festgestellt werden. Individuum 217 scheint dagegen in keinem genetischen Bezug zu einem der übrigen untersuchten Individuen zu stehen (Tabelle 64).

**Tabelle 64 | Mögliche verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Bestatteten aus Sindelsdorf.** Die jeweils wahrscheinlichsten verwandtschaftlichen Beziehungen sind aufgeführt. Bei Individuum 212 handelt es sich wahrscheinlich um den Vater der beiden Individuen 200 und 208, die somit als Geschwister anzusprechen sind. Individuum 217 weist keine mögliche Verwandtschaft zu den übrigen Individuen auf.

Bestattung	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
SD200-SD208	Geschwister	0,5	5,09	0,480
SD200-SD212	Vater-Tochter	0,5	454,85	0,767
SD200-SD217	H <sub>0</sub>	0	1	0,695
SD208-SD212	Vater-Sohn	0,5	353,47	0,737
SD208-SD217	H <sub>0</sub>	0	1	0,421
SD212-SD217	H <sub>0</sub>	0	1	0,743

#### **4.2.6.6 Ergebnisse der Screening-PCRs zum Nachweis von *Y. pestis***

Da das Aufflammen möglicher Pestereignisse immer wieder auch während des gesamten Zeitraums des Frühmittelalters für möglich gehalten wird, wurden ebenfalls alle Proben aus Tuffplattengräbern einem Screening unterzogen, um mögliche Pestopfer identifizieren zu können. Die Ergebnisse für sämtliche getesteten Proben fielen negativ aus.

### **4.3 ERGEBNISSE DER GENETISCHEN GESCHLECHTSBESTIMMUNGEN IN ANTHROPOLOGISCH-ARCHÄOLOGISCH DIVERGIERENDEN FÄLLEN**

Für die Individuen mit uneindeutiger bzw. widersprüchlicher Geschlechtszuweisung seitens der Archäologie und der morphologischen Anthropologie wurde der Amelogeningenort auf zwei unterschiedliche Arten amplifiziert. Die vorliegenden Ergebnisse wurden im Rahmen einer vom Autor betreuten Masterarbeit generiert (IMMLER, 2013). Zum einen wurde ein TaqMan-Ansatz (siehe 4.1.5) mit jeweils spezifischen Sonden für das X- und das Y-Allel eingesetzt, zum anderen wurde der Marker als Teil eines kommerziell erhältlichen Kits (AmpF $\ell$ STR® MiniFiler™; Applied Biosystems) amplifiziert. Zur Kontaminationskontrolle und der Überprüfung möglicher Y-Signale wurden die Proben zusätzlich auf die Amplifizierbarkeit von Y-chromosomalen STRs (AmpF $\ell$ STR® Yfiler®, Applied Biosystems) hin untersucht.

#### **4.3.1 Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmung in einem TaqMan-Ansatz**

Tabelle 65 zeigt einen Vergleich der genetischen Geschlechtsbestimmungen aus dem TaqMan-Ansatz und aus dem AmpF $\ell$ STR® MiniFiler™, der ebenfalls den Marker Amelogenin integriert hat. Bis auf ein nicht reproduzierbares Y-Signal in einer Minifiler-Reaktion der Probe aus Steinhöring stimmen alle Ergebnisse überein (IMMLER, 2013).

Es sind nur diejenigen Proben aufgeführt, bei denen eine Amplifikation der nukleären DNA überhaupt möglich war.

**Tabelle 65 | Vergleich der Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmungen aus dem TaqMan-Ansatz und dem MiniFiler.** Bis auf ein nicht reproduzierbares Y-Signal in einer Minifiler-Reaktion des Individuums Steinhöring 138 stimmen alle Ergebnisse überein. {} = zeigt Ergebnisse, deren berechnete Ausgangskopienzahl in der TaqMan-Reaktion unter 1 liegt; \* = nur eine Parallele eines Triplikats zeigte ein Ergebnis; () = zeigt ein Allel an, welches nur in einer von drei Reaktionen aufgetreten ist (verändert nach IMMLER, 2013).

Individuum	Geschlecht TaqMan	Geschlecht MiniFiler
Aschheim 9	{XY}	XY
Aubing 490	{XX}	X
Künzing 249	XX	X
Peigen 232	{XY}*	XY
Pliening 62	XY	XY
Sindelsdorf 232	XY	XY
Steinhöring 138	XX	X(Y)
Straubing 26	XY	XY
Straubing 459	XX	X
Weiding 160	{XY}	XY

#### 4.3.2 Analyse von autosomalen und Y-chromosomalen STRs der Individuen aus anthropologisch-archäologisch divergierenden Fällen

Um mögliche Kontaminationen einzelner Proben auszuschließen, wurden alle Proben auch hinsichtlich ihrer autosomalen STR-Profile untersucht (IMMLER, 2013). Die Ergebnisse sind in Tabelle 66 dargestellt. Lediglich eine Diskrepanz im Marker D21S11 zwischen beiden Proben des Individuums Aubing 490 war hier nachzuweisen. Alle anderen Proben und Marker lieferten weitestgehend reproduzierbare Ergebnisse und gaben keinen Hinweis auf mögliche Kontaminationen in Form von mehr als zwei Allelen. Weiterhin zeigen alle untersuchten Proben ein individuelles STR-Profil.

**Tabelle 66 | STR-Typisierung der untersuchten Individuen mittels AmpfSTR MiniFiler.** Es sind lediglich die Ergebnisse der autosomalen Marker aufgelistet, da die Ergebnisse des Markers Amelogenin bereits in Tabelle 65 aufgeführt sind. Alle Individuen weisen ein individuelles Profil auf. () = Marker oder Markerkombination konnte nur in einer von drei Reaktionen nachgewiesen werden (verändert nach IMMLER, 2013).

Individuum	CSF1PO	D13S317	D16S539	D18S51	D21S11	D2S1338	D7S820	FGA
Aschheim 9	(11),12	9, 11	(9, 12)	17, (18)	29	(19, 21)	(13)	(23)
Aubing 490	10, 12	11, 14	-	14, 18	31.2, (32.2), (26, 27, 29, 29.2)	19, 20	10, 12	22, (25), (23)
Künzing 249	10, 11	8, 13	-	13, 18	27, 28, 30, 31	(16), 20	8, 10	21, 23
Peigen 232	(11), (12)	10, (11, 12)	(9)	(15, 17)	(27, 28)	(18, 20)	(7, 8)	(20)
Pliening 62	11, 13	12	-	14	29, 32.2	(16), 17	10	21, 24
Sindelsdorf 232	9, 12	11, 12	(8)	13, 17	29, 31	20, 25	10	23, 25
Steinhöring 138	10, 13	9, 12	(11)	12, 16	28, 29	17, 23	8, (11)	19, 22
Straubing 26	10	11, 12	-	16, 17	(28), 29	(16), 18, 23	10, 12	20, 22
Straubing 459	11, 12	(8), 11, 12	-	12	(28, 31.2, 33.2)	(16, 17), 19	8, 10	(21)
Weiding 160	11, 12	8, 11	(11, 13)	15, 18	29, 30.2	17, 18	10, 11	19, 20

Bei allen Individuen, die in der genetischen Geschlechtsbestimmung ein Y-Signal zeigten, wurden zur Verifizierung dieses Signals Y-STR-Profil erstellt. Bei allen untersuchten Individuen konnte zumindest jeweils ein Marker sicher reproduziert werden (Tabelle 67). Die Individuen Pliening 62 und Weiding 160 weisen möglicherweise das gleiche Y-STR-Profil auf, wenngleich bei dem Individuum aus Weiding weniger Marker amplifizierbar waren als bei dem Individuum aus Pliening (IMMLER, 2013).

**Tabelle 67 | Ergebnisse der Bestimmung der Y-STRs mit dem AmpfSTR Yfiler bei zuvor als genetisch männlich identifizierten Individuen.** Bei allen untersuchten Individuen konnte zumindest ein Y-Marker reproduzierbar amplifiziert werden. Die Individuen Pliening 62 und Weiding 160 weisen möglicherweise das gleiche Y-STR-Profil auf. () = Allel konnte nur in einer von drei Reaktionen amplifiziert werden (Tabelle aus IMMLER, 2013).

Individuum	Aschheim	Peigen	Pliening	Sindelsdorf	Straubing	Straubing	Weiding
Marker	9	232	62	232	26	295	160
DYS 19	-	-	(14)	-	-	-	(14)
DYS 385	-	-	(14)	(16)	-	-	(12, 14)
DYS 389I	12	-	13	12	12	-	13
DYS 389II	-	-	-	-	-	-	-
DYS 390	-	-	(24)	-	(18)	-	(24)
DYS 391	-	-	(11)	11	10	-	11
DYS 392	-	-	(13)	-	-	-	-
DYS 393	-	9	13	13	12	12	13
DYS 437	-	-	(15)	14	16	-	15
DYS 438	-	-	(12)	(10)	-	-	(12)
DYS 439	-	-	(12?)	-	-	-	-
DYS 448	-	-	(19)	20	(19)	-	-
DYS 456	-	-	(17)	(14)	-	-	(16)
DYS 458	-	(17)	17	17	16	-	17
DYS 635	-	-	24	21	23	-	(24)
Y GATA H4	-	-	(12)	(13)	-	-	(12)
<b>Haplogruppe</b>	-	-	<b>R1b (R1b)</b>	<b>E1b1b (E1b1b)</b>	<b>J2b (J2b)</b>	-	<b>R1b (R1b)</b>
W'keit (%)	-	-	98,3 (100)	43,3 (93,4)	77,8 (96,6)	-	99,3 (100)

## **5 DISKUSSION**

### **5.1 METHODENETABLIERUNG**

Im Verlauf dieser Arbeit wurden neun PCR-Protokolle etabliert, deren endgültige Protokolle bereits in Abschnitt 4.1 dargestellt wurden. Im Folgenden sollen nun kurz die Probleme, die sich während der Etablierungen gezeigt haben, diskutiert und einige Entscheidungen, die getroffen wurden, erläutert werden. Ein Phänomen, das sich relativ früh in der Etablierung der Reaktionen zeigte, waren dabei die niedrigen Schmelztemperaturen für die Reaktionsprodukte der mitochondrialen DNA. So zeigten die Fragmente A bis E Schmelztemperaturen von 73,5°C bis 75,5°C und die längeren Fragmente G und F Schmelztemperaturen von 76,5°C und 77°C. Diese Werte erschienen zunächst sehr niedrig, da für PCR-Produkte typischerweise eine Schmelztemperatur von etwa 80°C angegeben wird und nur Primerdimere bei einer niedrigeren Schmelztemperatur angesiedelt werden (APPLIED BIOSYSTEMS, 2010). LEBLANC ET AL. (2008) konnten jedoch zeigen, dass UNG in einer Real-Time PCR die Schmelztemperatur von Oligonukleotiden verringern kann. Eine Überprüfung der Reaktionsprodukte durch Sequenzierung für das Quantifizierungsprodukt bestätigte die Spezifität der Reaktionen. Zudem zeigte sich bei der späteren Arbeit mit alten Proben, dass die auftretenden Primerdimere in den Reaktionen eine Schmelztemperatur deutlich unterhalb von 75°C aufwiesen.

#### **5.1.1 Quantifizierung mitochondrialer DNA**

Die Bewertung der Qualität der Quantifizierungsreaktion erfolgte anhand zweier verschiedener Gesichtspunkte. Zum einen wurde die anhand der Standardkurve berechnete Effizienz der Reaktion berücksichtigt, da diese ein Maß dafür ist, wie zuverlässig die verwendeten Primer bei unterschiedlichen Templatekonzentrationen binden, zum anderen wurde der  $C_T$  der höchsten und niedrigsten Templatekonzentration bewertet, da auch dies ein Maß dafür darstellt, wie effizient die Primer unter verschiedenen Bedingungen binden. Bei ansonsten ähnlicher Effizienz wurden diejenigen Bedingungen als besser bewertet, unter denen niedrigere  $C_T$ -Werte erreicht wurden.

Zunächst wurde die beste Annealingtemperatur für die PCR getestet. Dieser Test wurde mit einer Primerendkonzentration von 300 nM durchgeführt, da diese Konzentration vom Hersteller des Mastermix als höchste Ausgangskonzentration vorgeschlagen wurde (APPLIED BIOSYSTEMS, 2008). Hierbei ergaben sich die besten Ergebnisse bei einer Temperatur von 57 °C.

Ausgehend von dieser Temperatur wurden unterschiedliche Primerkonzentrationen in einem Bereich von 100 nM bis 450 nM getestet (siehe Tabelle A 1 im Anhang). Hierbei ergab sich 300 nM als die beste Endkonzentration für die getesteten Primer.

Im Anschluss wurden nochmals verschiedene Temperaturprofile für die PCR getestet, mit dem Ziel die Effizienz der Reaktion zu steigern. Alle getesteten 2-step PCR-Protokolle schnitten dabei jedoch schlechter ab als das endgültige Protokoll (Tabelle 27; Tabelle A 1).

In einem nächsten Schritt wurde das Protokoll auch unter Zugabe von BSA getestet. Das Vorhandensein von Huminsäuren und anderen Stoffen kann inhibitorisch auf die PCR wirken und sich folglich auch auf die Ergebnisse von Quantifizierungsreaktionen auswirken. Dies resultiert häufig in Unterschätzungen der Molekülzahl oder sogar in falsch-negativen Ergebnissen besonders bei schwierigem Material (SEO ET AL., 2012). Die Zugabe von BSA kann dabei helfen, die Wirkung einiger dieser inhibitorischen Stoffe zu neutralisieren und zu einer besseren Amplifizierbarkeit der alten Proben führen. Allerdings führte die BSA-Zugabe zu einer Effizienzverringern in den Ansätzen mit dem Standard.

Insgesamt konnte die Reaktion für die Quantifizierung auf diese Weise bis zu einer Effizienz von etwa 75 % (mit BSA-Zugabe) bzw. 85 % (ohne BSA-Zugabe) angepasst werden. Ein ähnlicher Wert (70 % Effizienz) konnte auch von PRUVOST & GEIGL (2004) bei einer Reaktion unter Zugabe von BSA bzw. HSA erzielt werden, während in einem Ansatz zur Quantifizierung humaner mtDNA ohne BSA-Zugabe eine Effizienz von 95 – 100 % erzielt werden konnte (KUCH ET AL., 2007). Eine weitere Verbesserung der PCR-Effizienz war weder durch die Änderung der Primerkonzentration noch durch eine Änderung des Temperaturprofils möglich, sodass die als ideal postulierten 90 – 105 % Effizienz für eine qPCR (TAYLOR ET AL., 2011) vermutlich nur durch die Verwendung anderer Primer zu erreichen wären. Da jedoch durch das gewählte Primerpaar eine Sequenz abgedeckt wird, in der ein diagnostisch wichtiger SNP für eine grobe Einordnung der mitochondrialen Haplogruppe liegt (H-/ Non-H-Haplogruppe; MELCHIOR ET AL., 2008B), wurden die Primer beibehalten und die etwas schlechtere PCR-Effizienz in Kauf genommen. Leider werden gerade bei Studien an altem Material, die beim Primerdesign häufig stärkeren Restriktionen unterliegen als andere Disziplinen und die eine Quantifizierung als Grundlage für die Authentizität ihrer Ergebnisse anstreben, außer bei den oben genannten keine Angaben zur Effizienz der durchgeführten Reaktionen gemacht (z. B. CAMELLI ET AL., 2008, MELCHIOR ET AL., 2008A, MALMSTRÖM ET AL., 2009). Dies macht die Beurteilung des eigenen Ansatzes in einem umfassenden Vergleich mit anderen Ansätzen unmöglich. Zum einen wäre dies wichtig für die Einschätzung der Qualität des eigenen Ansatzes, zum anderen würde es die Beurteilung der Ergebnisse anderer Arbeiten und hier vor allem deren Authentizität erleichtern.

**Tabelle 68 | Quantifizierungstestlauf mit alten Proben mit und ohne BSA-Zugabe.** Deutlich zu erkennen ist, dass die Zugabe von BSA den  $C_T$ -Wert bei allen Proben verringert und somit zu einer Erhöhung der quantifizierten Molekülzahl führt. Dieser Effekt wirkt jedoch nicht gleichförmig auf alle getesteten Proben. Die Reaktionen der Standards und Proben wurden jeweils in Duplikaten durchgeführt. Die Effizienz der Reaktion mit BSA-Zugabe lag bei 74,8 % ( $R^2 = 0,994$ ), ohne BSA-Zugabe bei 81,2 % ( $R^2 = 0,999$ ). Die Threshold-Werte wurden für diesen Vergleich in beiden Reaktionen auf einen identischen Wert gesetzt.

Probe	mit BSA		ohne BSA	
	$C_T$	Ausgangsmenge (Kopien/ 2 $\mu$ l)	$C_T$	Ausgangsmenge (Kopien/ 2 $\mu$ l)
BW 1	28,01	35393 $\pm$ 11291	28,50	5681 $\pm$ 723
BW 2	28,49	26371 $\pm$ 1574	36,00	81 $\pm$ 68
BW 3	29,55	14801 $\pm$ 3629	30,55	1671 $\pm$ 185
BW 4	31,02	6452 $\pm$ 980	31,16	1162 $\pm$ 55
BW 5	31,10	6210 $\pm$ 1462	31,65	901 $\pm$ 333
BW 6	38,06	128 $\pm$ 32	36,77	42 $\pm$ 8
BW 7	34,10	1180 $\pm$ 369	34,14	199 $\pm$ 30

Tabelle 68 zeigt den Effekt der Zugabe von BSA auf die Quantifizierungsergebnisse einiger Proben, die für die ersten Testläufe zur Quantifizierung alter Proben verwendet wurden (Fundplatz Burgweinting, 5. Jhd. v. Chr.). Um eine Vergleichbarkeit der  $C_T$ -Werte zwischen den Reaktionen zu erzielen, wurde der Threshold-Wert bei diesen Reaktionen auf einen identischen Wert gesetzt (BUNCE ET AL., 2012). Deutlich zu erkennen ist, dass durch die Zugabe von BSA die  $C_T$ -Werte der meisten Proben verringert werden, was auf eine bessere Amplifikation der Proben hindeutet, und dass dieser Effekt nicht gleichförmig auf alle Proben wirkt, da nicht alle Proben, wie zu erwarten, gleich stark mit Inhibitoren versetzt sind. Die daraus resultierende Erhöhung der Kopienzahl in den Proben ist nicht nur auf eine teils deutliche (BW 2) Verringerung des  $C_T$ -Wertes durch Neutralisierung der enthaltenen Huminstoffe zurückzuführen, sondern auch darauf, dass durch die Zugabe von BSA gleichzeitig die  $C_T$ -Werte der Standards erhöht werden (Tabelle 69). Offensichtlich wirkt die Zugabe von BSA auf die Reaktion des synthetischen Standard-Oligonukleotids verzögernd. Dabei werden die Standards unter BSA-Zugabe etwa um 3 Zyklen in der Reaktion verzögert, was unter Idealbedingungen der Reaktion etwa einer Zehnerpotenz entsprechen sollte (TAYLOR ET AL., 2011).

**Tabelle 69 |  $C_T$ -Werte der Standards mit und ohne Zugabe von BSA.** Die Zugabe von BSA führt zu einer Erhöhung der  $C_T$ -Werte für die entsprechenden Standards. Die Reaktionen wurden in Duplikaten durchgeführt. Die Effizienz mit BSA-Zugabe lag bei 74,8 % ( $R^2 = 0,994$ ), ohne BSA-Zugabe bei 81,2 % ( $R^2 = 0,999$ ). Die Standards hatten die folgenden Molekülzahlen: 1 = 98.000.000, 2 = 500.000, 3 = 50.000, 4 = 5.000, 5 = 500, 6 = 50, 7 = 5. Die Threshold-Werte wurden für diesen Vergleich in beiden Reaktionen auf einen identischen Wert gesetzt.

Probe	mit BSA	ohne BSA	Differenz $C_T$ (mit BSA-ohne BSA)
	$C_T$	$C_T$	
Standard 1	13,28	12,15	1,13
Standard 2	23,76	20,79	2,97
Standard 3	27,57	24,99	2,58
Standard 4	31,65	28,84	2,81
Standard 5	35,10	32,20	2,90
Standard 6	40,02	36,48	3,54
Standard 7	43,55	40,47	3,08

Um jedoch eine bessere Amplifikation der Zielsequenzen aus bodengelagerten Proben zu gewährleisten, was vor allem für die nach der Amplifikation angestrebten Sequenzierungen von enormem Vorteil ist, wurden alle folgenden Reaktionen unter der Zugabe von BSA durchgeführt. Während dies für die Amplifikation der HVR (s. u.) nur von Vorteil ist, muss für die Quantifizierungen bedacht werden, dass nun einige Proben bei der Quantifizierung hinsichtlich ihrer Molekülzahl überschätzt werden könnten. Da jedoch die Reaktion ohne Zugabe von BSA in einigen Fällen zu einer Unterschätzung der Molekülzahl führen würde, kann eine exakte Quantifizierung der Molekülzahl in Extrakten aus bodengelagerten Hartgeweben nie mit absoluter Sicherheit gewährleistet werden. Dennoch können zumindest die Proben und Fundplätze relativ zueinander verglichen werden und Unterschiede im Erhaltungszustand deutlich werden. Eine Quantifizierung der Molekülzahl wird allgemein als nötig erachtet, da Ergebnisse, die auf einer größeren Zahl an Ausgangsmolekülen beruhen, als sicherer angenommen werden können. Für Studien, die sich mit alter DNA beschäftigen, wurde hier als Faustregel eine Zahl von 1.000 Ausgangsmolekülen pro Reaktion postuliert, um auszuschließen, dass Ergebnisse auf sporadische Kontaminationen zurückgehen (HANDT ET AL., 1996, COOPER & POINAR, 2000). Allerdings wurden zwischenzeitlich auch als authentisch akzeptierte Ergebnisse publiziert, die auf 35 Ausgangsmoleküle pro Mikroliter zurückgehen (WINTERS ET AL., 2011). Weiterhin plädieren WINTERS ET AL. (2011) dafür, dass die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse als Kriterium wichtiger sein sollte, als die reine Molekülzahl.

Unter diesem Gesichtspunkt scheint der vorliegende Ansatz auch bei BSA-Zugabe geeignet, die molekulare Erhaltung der Proben einschätzen bzw. untereinander vergleichen zu können. Denkbar wäre hier eine Klassifizierung, bei der man davon ausgeht, dass oberhalb von einem Quantifizierungsergebnis von 10.000 quantifizierten Molekülen eine gute bis sehr gute Erhaltung anzunehmen und die Gefahr der Amplifikation sporadischer Kontamination als gering einzustufen ist. Auf diese Weise wird die mögliche Überschätzung der Kopienzahl um eine Zehnerpotenz berücksichtigt. Zwischen 10.000 und 1.000 kann von einem guten bis mäßigen Erhalt ausgegangen werden, es sollte jedoch vermehrt auf Hinweise von Kontaminationen geachtet werden. Zwischen 1.000 und 500 Ausgangsmolekülen ist von einem mäßigen bis schlechten Erhalt auszugehen. Auch hier sollte auf Hinweise auf Kontaminationen geachtet werden. Unterhalb von 500 quantifizierten Molekülen ist im vorliegenden Ansatz von einem eher schlechten Erhalt auszugehen und es können Kontaminationen grundsätzlich nicht mehr ausgeschlossen werden, sodass in diesen Fällen die Reproduzierbarkeit den wichtigsten Authentizitätsindikator darstellen muss (siehe für eine Überprüfung dieser Einteilung der Quantifizierungsergebnisse auch 5.1.3.2).

Die Entscheidung wurde, auch unter dem Aspekt, dass die Quantifizierung nicht als alleiniges Merkmal für die Authentizität der Ergebnisse gelten kann, und noch sehr viele weitere Kriterien dazu herangezogen werden müssen, dahingehend gefällt, falsch-negative Ergebnisse möglichst

zu verhindern und so auch Proben, die stärker mit Inhibitoren durchsetzt sind oder durch andere Faktoren stärker inhibiert sind, durch die Zugabe von BSA amplifizierbar zu machen. In jedem Fall muss, unabhängig vom Quantifizierungsergebnis, eine Reproduktion der Ergebnisse aus unterschiedlichen und unabhängigen PCRs und Extraktionen gewährleistet sein, um eine höhere Sicherheit für die Authentizität zu erhalten (COOPER & POINAR, 2000, WINTERS ET AL., 2011).

### 5.1.2 Amplifikation der mitochondrialen HVR I

Für die Amplifikation der HVR I sollten ebenfalls SYBR Green-basierte Ansätze etabliert werden, wie in Abschnitt 3.5 dargelegt. Das Ziel der Reaktionen lag hierbei nicht in einer Quantifizierung der einzelnen amplifizierten Abschnitte, sondern in der Amplifikation der entsprechenden Abschnitte des mitochondrialen Genoms und anschließender Bestimmung der Spezifität der Reaktionen durch eine Schmelzkurve, um die Reaktionen im Anschluss direkt aufzureinigen und die amplifizierten Produkte der Sequenzierreaktion zuzuführen.

Für die Etablierung wurden, anders als bei der Anpassung der PCR für das Quantifizierungsfragment, moderne Extrakte freiwilliger Spender der Arbeitsgruppe verwendet. Bei der Beurteilung der Reaktionen hinsichtlich ihrer Effizienz zeigte sich dabei, dass diese in Abhängigkeit von den jeweiligen Extrakten sehr stark schwanken konnte. Dies ist bedingt durch mögliche in den Extrakten vorhandene Inhibitoren, die im Zuge der DNA-Extraktion und der Aufreinigung nicht vollständig entfernt werden konnten, sowie unterschiedlich hohe Ausgangskonzentrationen an DNA in den Extrakten. Dadurch kann es vorkommen, dass verdünnte Proben besser amplifiziert werden können als unverdünnte, was zu sehr stark schwankenden Effizienz-Werten führt, und die daraus berechneten Effizienzen daher wertlos für die Beurteilung der PCR an sich macht. Die Reaktionen wurden daher alle mit Verdünnungsreihen aus je nur einem Extrakt durchgeführt. Die Beurteilung der Güte der Reaktionen erfolgt anhand folgender Parameter: Die  $C_T$ -Werte für die einzelnen Verdünnungen sollten möglichst niedrig sein und es sollten sich in den Schmelzkurven neben dem spezifischen Produkt auch bei niedrigen DNA-Ausgangsmengen möglichst keine Anzeichen für die Entstehung von Primerdimeren finden. Im Anschluss daran wurden die etablierten Protokolle auch an den alten Proben getestet, um zu überprüfen, ob sie auch für deren Amplifikation geeignet sind.

Bei Fragment E ergaben sich hierbei im Verlauf der Arbeit zunehmend Schwierigkeiten bei der Amplifikation. Während die Amplifikation dieses Fragments bei den Proben aus Altenerding, die durchweg eine sehr gute Erhaltung zeigten, noch möglich war, konnte es bei kaum einer Probe aus Aschheim, deren molekulare Erhaltung schlechter als die von Altenerding war (siehe

4.2.3.1), amplifiziert werden. Dieser Umstand konnte nach mehrmaligen Testversuchen nur dadurch behoben werden, dass der reverse Primer von Fragment E durch den reversen Primer, der ursprünglich nur für Fragment G verwendet wurde, ersetzt wurde. Da diese Primerzusammenstellung wesentlich bessere Amplifikationsergebnisse lieferte, wurde sie für alle folgenden Reaktionen beibehalten und in das allgemeine Protokoll übernommen.

Alle Ansätze wurden hinsichtlich ihrer Schmelzpeaks und anschließender Sequenzierung auf ihre Spezifität hin überprüft. Dies erfolgte wiederum zunächst mit moderner DNA und wurde folgend an den alten Proben getestet. Beide lieferten reproduzierbare Ergebnisse, was für eine genügende Effizienz der Ansätze zur Amplifikation alter DNA-Proben spricht und bereits in einer weiteren Arbeit bestätigt werden konnte (KELLER ET AL., 2015).

### 5.1.3 Verwandtschaftsanalyse mit Hilfe autosomaler miniSTRs

Für die Analyse von verwandtschaftlichen Verhältnissen sind autosomale Marker wesentlich effizienter als Y-chromosomale oder mitochondriale, da sie einem biparentalen Vererbungsmuster folgen, während die beiden letztgenannten nur uniparental vererbt werden. Zwar stehen mittlerweile auch kommerzielle Kits zur Amplifikation selbst von schwierigem Material zur Verfügung (AmpflSTR® MiniFiler™, Applied Biosystems), jedoch sind diese nicht an den Einsatz von dUTP-UNG angepasst. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es daher, ein Markerset unter Einsatz des dUTP-UNG-Systems zu entwickeln, da keine anderen publizierten Ansätze dies bisher nicht integriert haben (z. B. BUTLER ET AL., 2003, VON GRUMBKOW ET AL., 2013, SEIDENBERG ET AL., 2012).

Für die Amplifikation wurden die Marker FGA, D18S51, D21S11, vWA, TH01, D3S1358 und D8S1179, welche das Europäische Standardset für autosomale Marker zur Identifikation darstellen (BUTLER, 2006, BUTLER & HILL, 2012), sowie Amelogenin zur genetischen Geschlechtsbestimmung gewählt. Um mögliche Überschneidungen der erwarteten Amplifikatlängebereiche der einzelnen Marker zu vermeiden, wurden je vier Marker in ein Set zusammengefasst, in denen jeder Marker mit einer eigenen Fluoreszenzfarbe (6-FAM™, VIC®, PET™, NED™; Applied Biosystems) markiert wurde.

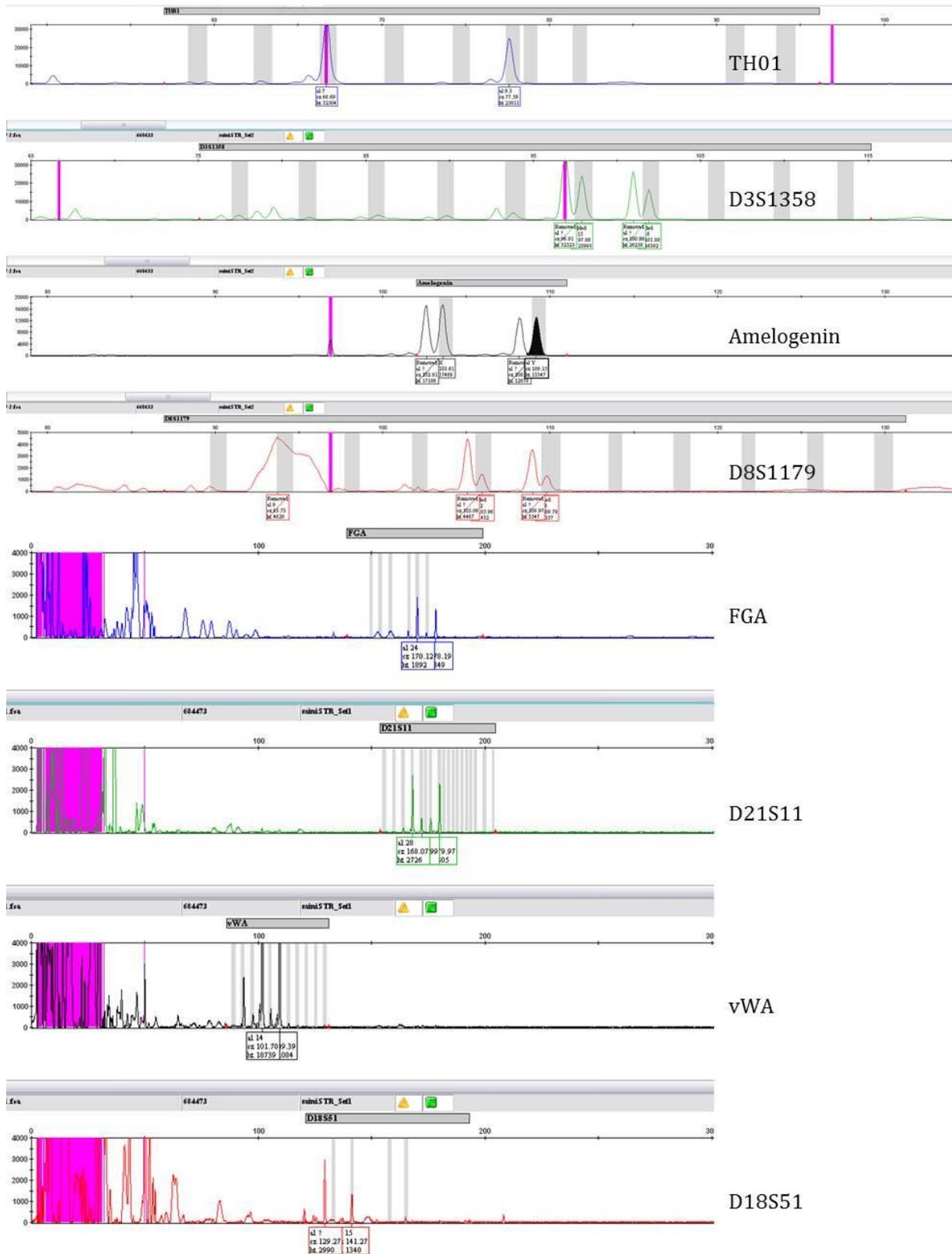
Im Zuge der Etablierung der Reaktionen wurden unterschiedliche Kombinationen von Primer-, Polymerase- und MgCl<sub>2</sub>-Konzentrationen getestet, die in Tabelle A 2 im Anhang zusammengefasst sind. Als beste Protokolle erwiesen sich dabei diejenigen, die unter Abschnitt 4.1.3 im Ergebnisteil dargestellt sind.

Da zunächst für die spätere Analyse Alleleleitern amplifiziert werden mussten, wurden die Etablierungsreaktionen einem Protokoll von BUTLER ET AL. (2003) bzw. einem danach veränderten online zur Verfügung gestellten Protokoll

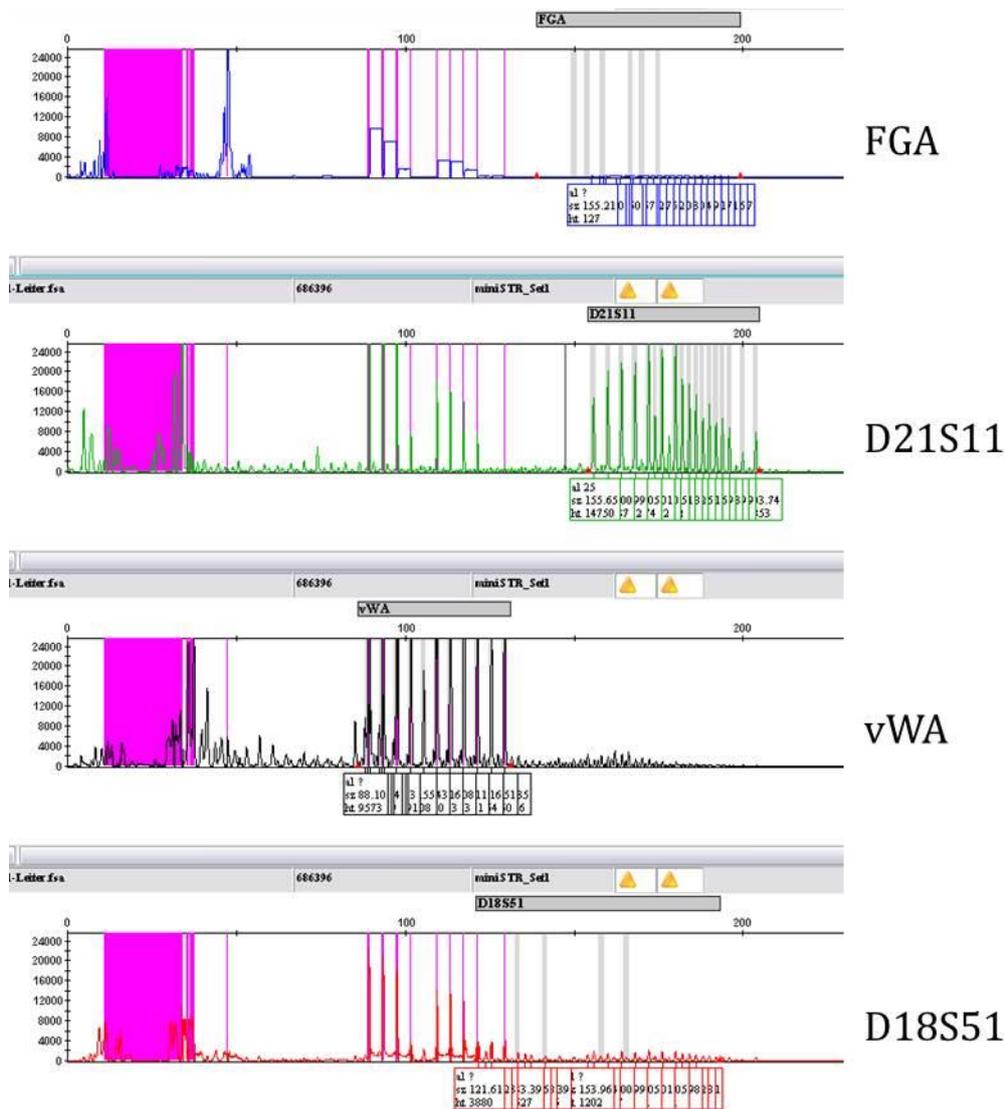
([http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol\\_AllelicLadderReamp.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol_AllelicLadderReamp.pdf)) zur Amplifikation von Allelleitern aus bereits vorhandenen Leitern (Mentype® Nonaplex I, Biotype, und AmpF $\ell$ STR® MiniFiler™, Applied Biosystems) mit bekannter Allellzusammensetzung durchgeführt. Zusätzlich wurde eine Positivkontrolle entweder in Form der Referenz-DNA 007 (Applied Biosystems) oder eines modernen Extraktes mitgeführt, um den Amplifikationserfolg überprüfen zu können. Dabei zeigten sich bereits während der Etablierungsreaktionen einige Unterschiede im Verhalten von Leitern und Proben in den Reaktionen, auf die im Folgenden eingegangen werden soll.

#### 5.1.3.1 Amplifikation der ausgewählten Marker

Während die Marker vWA, D21S11, TH01, D3S1358 und D8S1179 nach Etablierung der in Tabelle 29 dargestellten Bedingungen sowohl aus den mitgeführten Proben als auch aus den Allelleitern amplifiziert werden konnten, war dies bei den Markern FGA, D18S51 und Amelogenin nicht möglich. Die letztgenannten Marker konnten lediglich aus den Proben amplifiziert werden, nicht jedoch aus den Allelleitern. Für Amelogenin ist dieser Umstand recht einfach dadurch zu erklären, dass in den Allelleitern kürzere Fragmente enthalten waren (BIOTYPE, 2008), als mit dem hier ausgewählten Primerpaar amplifiziert werden können. Eine erfolgreiche Amplifikation aus den Leitern war demnach nicht zu erwarten. Anders verhält es sich dagegen bei den beiden Markern FGA und D18S51. Beide Marker konnten aus den modernen Extrakten amplifiziert werden und zeigten hier Peakhöhen, die eine eindeutige Identifikation der vorhandenen Allele zulassen, wie in Abbildung 13 am Beispiel der Positivkontrolle 007 gezeigt ist. In den getesteten Allelleitern zeigte sich jedoch keine Reaktion. Dies ist am Beispiel der Allelleiter des Mentype® Nonaplex I-Kits (Biotype) in Abbildung 14 gezeigt. Dasselbe Bild ergibt sich für diese Marker auch bei der Allelleiter des AmpF $\ell$ STR® MiniFiler™-Kits (Applied Biosystems).



**Abbildung 13 | STR-Profil der Positivkontrolle 007.** Dargestellt sind die Profile aller Marker. Deutlich zu erkennen ist, dass alle Marker eindeutig identifizierbare Peaks liefern. Zur besseren Sichtbarkeit wurden die Marker TH01 bis D8S1179 mit einer höheren Vergrößerung aufgenommen. Dies war wegen der stärkeren Längenunterschiede bei den übrigen Markern nicht möglich.



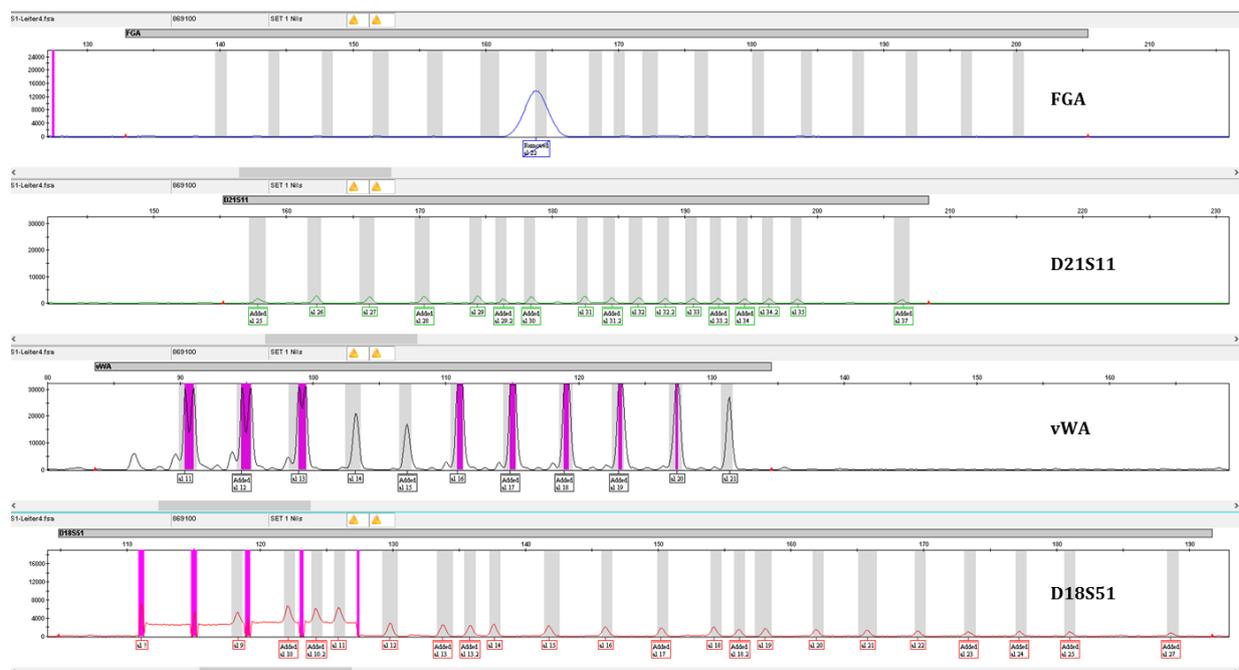
**Abbildung 14 | Alleleiter des Mentype® Nonaplex I-Kits (Biotype) amplifiziert mit den etablierten Primerpaaren.** Die Amplifikation erfolgte im Ansatz mit Substitution von dTTP durch dUTP. Während die Marker D21S11 und vWA deutliche Peaks zeigen, können die Marker FGA und D18S51 aus der Leiter mit den verwendeten Primerpaaren nicht amplifiziert werden.

Da FGA und D18S51 in der vorliegenden Arbeit die einzigen beiden Marker sind, deren Wiederholungssequenz (CTTT bzw. AGAA) bedingt, dass während der Amplifikation drei U-Basen in Folge eingebaut werden müssen (BUTLER & HILL, 2012), und weil die Verwendung von dUTP generell einen leicht hemmenden Effekt auf die PCR ausübt (PRUVOST ET AL., 2005, SLUPPHAUG ET AL., 1993), lag der Verdacht nahe, dass die Amplifikation ebenjener Marker durch den PCR-Ansatz mit dUTP verhindert würde. Daher wurden weitere Versuche mit Set 1, das die Marker beinhaltet, mit einer schrittweisen Reduktion der dUTP- und respektiven Erhöhung der dTTP-Konzentration durchgeführt. Die vollständige Elimination von dUTP aus dem Versuchsansatz führte schließlich dazu, dass FGA und D18S51 sowohl aus modernen wie auch alten Proben mit jeweils deutlich größeren Peakhöhen amplifiziert werden konnten.

Lediglich aus den vorhandenen Alleleitern war es nicht möglich, FGA erfolgreich zu replizieren (Abbildung 15). Wenngleich die Fragmente in beiden Alleleitern deutlich länger sein sollten als

jene, die mit den hier verwendeten Primern amplifiziert werden sollten, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Primer seitens der Kit-Hersteller so konstruiert sind, dass mit den vorliegenden Primern eine Amplifikation nicht möglich ist. Da die Hersteller solcher Kits jedoch keine Primersequenzen für ihre Kits zur Verfügung stellen, kann diese Vermutung nicht verifiziert werden. Weiterhin wäre es denkbar, dass eventuell verwendete *mobility modifier*, welche die Fließgeschwindigkeiten der Fragmente durch das Analysegel verändern und von vielen Herstellern verwendet werden, um mehr Marker mit demselben Fluoreszenzfarbstoff markieren und sicher trennen zu können, sich negativ auf die Amplifikation der Leiterallele auswirken.

Um die Allele, die aus den Extrakten erfolgreich vervielfältigt werden konnten, dennoch richtig bestimmen zu können, wurden moderne Extrakts mit bekannter Allelzusammensetzung verwendet, um die Bins für diese Allele korrekt in der Auswertungssoftware zu setzen. Bins für fehlende Leiterallele wurden durch Extrapolation bestimmt.



**Abbildung 15 | Ergebnis der Amplifikation der Allelleiter ohne Substitution von dTTP.** Alle Marker außer FGA zeigen deutliche Peaks nach der Amplifikation. Im Vergleich zu vWA sind die Peaks von D21S11 und D18S51 zwar kleiner, aber dennoch deutlich zu erkennen.

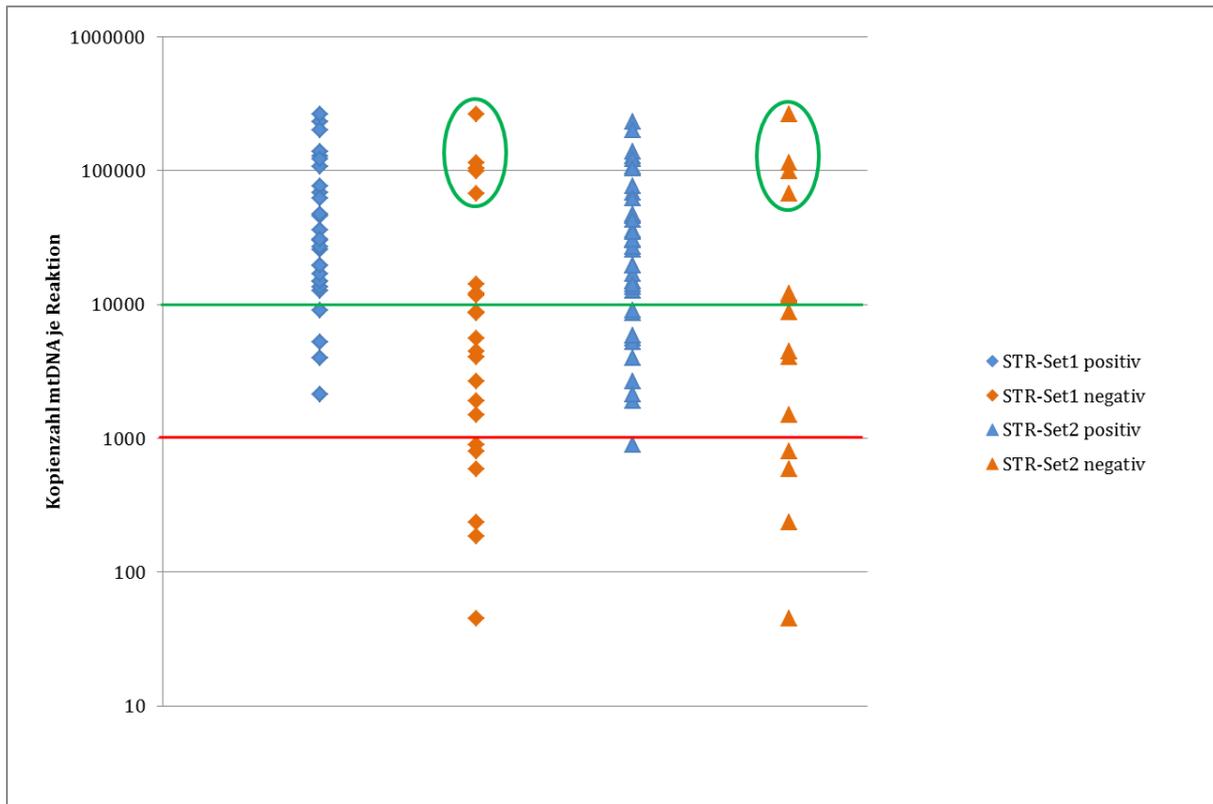
Ungeachtet der Tatsache, dass FGA auch durch den Einsatz von dTTP nicht aus den zur Verfügung stehenden Leitern amplifizierbar war, hat sich die dTTP-Substitution auf die Effizienz der etablierten Ansätze ausgewirkt, was auch daran zu erkennen ist, dass die Peakhöhen für die Marker, die bereits erfolgreich mit der Substitution amplifiziert werden konnten, bei Einsatz von dTTP deutlich höher waren. Somit muss zumindest für das hier etablierte Marker-Set 1

festgestellt werden, dass eine Anpassung an ein PCR-System mit dem kombinierten Einsatz von dUTP und UNG nicht möglich ist.

Unter diesem Gesichtspunkt muss auch überlegt werden, ob der Einsatz von dUTP bei der Amplifikation auch für das zweite Set von Markern eingestellt werden sollte. Nach PRUVOST ET AL. (2005) funktioniert bei Fragmenten mit einer Länge von  $\leq 100$  bp der Schutz vor *carry-over* Kontaminationen durch UNG ohnehin nur noch unzureichend. Darüber hinaus werden im Zuge der STR-Analyse nur die Längen der vollständig amplifizierbaren Fragmente bestimmt und nicht deren Sequenz, sodass in diesem Fall auch auf die Elimination von deaminierten Cytosinen als Hauptquelle für fehlerhafte Sequenzen (GILBERT ET AL., 2003A, PÄÄBO, 1989, PÄÄBO ET AL., 2004) verzichtet werden könnte, da diese die Fragmentlänge nicht beeinflussen. Dadurch wäre es vermutlich möglich auch bei schlechteren Proben die Rate erfolgreicher Amplifikationen und damit den Informationsgewinn für verwandtschaftliche Analysen zu steigern. Wichtigste Authentizitätskriterien müssen bei besonders schwierigen Proben ohnehin die Bedingungen, unter welchen die Ergebnisse erlangt wurden und eine mehrmalige Reproduktion (WINTERS ET AL., 2011) derselben sein.

#### **5.1.3.2 Quantifizierung mitochondrialer DNA zur Beurteilung des Erhaltungszustands der nukleären STR-Marker**

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, neben der Etablierung der oben diskutierten Ansätze, zu testen, ob mittels der Quantifizierung der mitochondrialen DNA Vorhersagen zum Erhalt der nukleären DNA getroffen werden können. Abbildung 16 zeigt jeweils die durchschnittlich quantifizierte Molekülzahl je Individuum in Abhängigkeit davon, ob die Proben bei der Amplifikation der autosomalen STRs negative oder positive Ergebnisse lieferten. Als negativ wurden hierbei Ergebnisse gewertet, die nur einen reproduzierbaren Marker beinhalteten.



**Abbildung 16 | Quantifizierung der mitochondrialen DNA und Erfolg der Amplifikation autosomaler STRs.** Dargestellt ist die mittlere quantifizierte Kopienzahl je Individuum und der Erfolg der Amplifikation autosomaler STRs bei diesen Individuen. Deutlich zu erkennen ist, dass mit einer Ausnahme bei einer quantifizierten Menge mtDNA < 1.000 Moleküle bei keiner Probe erfolgreich ein STR-Profil erstellt werden konnte. Oberhalb von 10.000 quantifizierten Molekülen war dies mit Ausnahme von fünf bzw. vier Milchzahnproben (grüne Ellipsen) bei beinahe allen Proben möglich. Zwischen den beiden genannten Grenzen existiert ein Überschneidungsbereich, in dem die Erstellung eines STR-Profiles gelingen kann.

Deutlich zu erkennen ist, dass für STR-Set 1 und STR-Set 2 mit zwei Ausnahmen beinahe ausschließlich solche Proben positive Ergebnisse lieferten, deren Kopienzahl in der Quantifizierung bei über 10.000 Molekülen pro Reaktion gelegen hat, womit sich die unter 5.1.1 vorgeschlagene Einteilung bestätigt. Im Bereich zwischen 1.000 und 10.000 quantifizierten Molekülen pro Reaktion liegt für beide STR-Sets ein Überlappungsbereich vor, in dem bei Set 2 etwa ein Drittel der Proben (4 von 13) negative und zwei Drittel (9 von 13) positive Resultate lieferten. Dies spiegelt grundsätzlich auch die Erwartungen an alte DNA wider, bei der kürzere Fragmente, wie sie in Set 2 vorhanden sind, besser amplifizierbar sein sollten als längere Fragmente (ADLER ET AL., 2011, BROTHERTON ET AL., 2007, PÄÄBO, 1989, HÖSS ET AL., 1996).

Eine Ausnahme hiervon bildet eine Gruppe von Proben, die bei der Quantifizierung zwar hohe Molekülzahlen lieferten, jedoch bei keiner der Analysen nukleärer DNA positive Ergebnisse zeigten. Auffällig hierbei ist, dass es sich ausschließlich um Proben von subadulten Individuen handelt, bei welchen nur Milchzähne als Proben genommen werden konnten (AE 1005, AE 1184, AE 1185, A 57, A 126; grüne Ellipsen in Abbildung 16). Ein ähnliches Bild zeigte sich auch in der Untersuchung von WAHL ET AL. (2014), in der es bei Zahnproben von Kindern ebenfalls möglich war, mitochondriale jedoch keine nukleäre DNA zu amplifizieren. HIGGINS ET AL. (2015) konnten

zeigen, dass der größte Anteil an nukleärer DNA in Zähnen aus dem Zahnzement gewonnen werden kann, während die meiste mitochondriale DNA aus dem Dentin gewonnen werden kann. Die Autoren führen dies auf die spezifische Verteilung der Zellen im lebenden Zahn zurück. Auch ein Zusammenhang zwischen dem chronologischen Alter der Zahndonoren und dem Erhalt nukleärer DNA konnte festgestellt werden, der möglicherweise mit Veränderungen des Zahns mit zunehmendem Alter, und hier vor allem der stärkeren Mineralisierung der DNA-enhaltenden Zahngewebe, zusammenhängt (HIGGINS ET AL., 2015). Weiterhin konnten HIGGINS ET AL. (2013) in Versuchen zeigen, dass durch die Vorbehandlung der Zähne mit NaOCl zum Zwecke der Dekontamination die Ausbeute nukleärer DNA im Zahnzement frisch extrahierter Zähne bereits zehnfach reduziert wird. Während dies bei frischem Probenmaterial trotzdem ausreichend ist, um vollständige STR-Profile zu generieren, kann dies bei alten Proben mit ihrer wesentlich geringeren Ausgangsmenge an DNA dazu führen, dass durch die Vorbehandlung mögliche vorhandene DNA-Moleküle vollständig zerstört werden (HIGGINS ET AL., 2013). Auch bei den hier vorliegenden Proben kann dies die Ursache für das beobachtete Phänomen sein. Im Falle der genannten Milchzähne kann die Vorbehandlung mit NaOCl unter Umständen ausreichend gewesen sein, um die im Zahnzement vorhandenen Reste nukleärer DNA komplett zu degradieren, was im Anschluss zum Ausfall dieser Proben bei Analyse der nukleären DNA geführt hat. Im Dentin dieser Zähne, in dem der Hauptanteil an mitochondrialer DNA zu erwarten ist (HIGGINS ET AL., 2015), konnte nach der Vorbehandlung genügend genetisches Material gewonnen werden, um eine erfolgreiche Analyse und hohe Quantifizierung der mitochondrialen DNA zu gewährleisten. Da alle Milchzähne, die dieses Phänomen zeigen, von Kindern stammen, die jünger als fünf Jahre waren, während sich die Milchzähne der älteren Kinder in dieser Arbeit ähnlich wie die restlichen Zähne im Probenkollektiv verhielten, scheint es durchaus plausibel, dass auch ein Zusammenhang zwischen der generellen Dicke der Zementschicht und ihrer Mineralisierung (HIGGINS ET AL., 2015) hergestellt werden kann.

Ungeachtet dessen, kann mit Abbildung 16 deutlich gezeigt werden, dass eine Analyse der nukleären STR-Marker ab einer quantifizierten Molekülzahl von 10.000 Kopien auf jeden Fall möglich und für beide Sets von Markern erfolgversprechend ist. Bei einer Zahl von 1.000 bis 10.000 quantifizierten Ausgangsmolekülen pro Reaktion liegt die Erfolgsrate mit den hier bearbeiteten Proben bei ungefähr 69 % für das Marker-Set 2 und bei ungefähr 38 % für Marker-Set 1. Bei unter 1.000 quantifizierten Molekülen pro Reaktion zeigte lediglich eine von fünf Proben bei Marker-Set 2 eine positive Reaktion, während für Set 1 hier bei keiner Probe mehr ein positives Resultat erzielt werden konnte. Die Bestimmung der Molekülzahl der mitochondrialen DNA in den Proben eignet sich daher zur Beurteilung derselben für eine nachfolgende Analyse von Kern-DNA. Proben unterhalb von 1.000 quantifizierten Molekülen mitochondrialer DNA, welche von COOPER & POINAR (2000) als untere Grenze für die Beurteilung authentischer DNA postuliert wurden, scheinen nicht geeignet für die Analyse der nukleären

DNA. Hier kann eine Analyse versucht werden, wenn lediglich eine genetische Geschlechtsbestimmung erfolgen soll.

Lediglich für die Einschätzung von Milchzähnen scheint die Methode aufgrund der oben diskutierten Beobachtung nicht geeignet. Eine Vorhersage kann für diese Art von Proben anhand der Quantifizierung mitochondrialer DNA nicht sicher getroffen werden. Bei derart jungen Individuen sollte daher entweder die Vorbehandlung der Proben auf eine Art erfolgen, die das vorhandene Zahnzement soweit wie möglich schont, da eine Inkubation in 1 % NaOCl offensichtlich ausreicht, dieses weitgehend zu zerstören, oder auf anderes Probenmaterial zurückgegriffen werden. In diesem Zusammenhang konnten GAMBIA ET AL. (2014) zeigen, dass die Erhaltungsaussichten für DNA in Felsenbeinen deutlich besser sind als in anderen Knochenelementen oder Zähnen, sodass diese möglicherweise geeignet sind, bessere Erfolge bei Verwandtschaftsanalysen mit sehr jungen Individuen zu erzielen.

### 5.1.3.3 Berechnung der Wahrscheinlichkeit für Verwandtschaft

Die Berechnung der Wahrscheinlichkeiten für bestimmte verwandtschaftliche Verhältnisse wurde mit dem Freeware-Programm Familias 3 (EGELAND ET AL., 2000, KLING ET AL., 2014B) durchgeführt. Als Basis für die Berechnungen wurden die heutigen Allelfrequenzen der Marker für Deutschland, wie sie auf der ALLST\*R Autosomal Database for short tandem repeats (allstr.de; Qualitytype GmbH, Germany) online zur Verfügung gestellt sind, verwendet (Tabelle A 5 im Anhang). Da für den in dieser Arbeit untersuchten Zeitraum keine Daten über Allelfrequenzen zur Verfügung standen, stellen die in der heutigen Bevölkerung Deutschlands vorkommenden Frequenzen die bestverfügbare Näherung für eine Berechnung der Verwandtschaftswahrscheinlichkeiten dar, ähnlich wie dies bereits in weiteren Publikationen für andere Regionen Europas praktiziert wurde (GAMBIA ET AL., 2011, V. GRUMBKOW ET AL., 2013).

Eine Einbeziehung der Ergebnisse der Untersuchungen der mitochondrialen und Y-chromosomal DNA in die Berechnungen war nicht direkt möglich. Das Programm bietet lediglich die Option, im Falle von Verwandtschaftsanalysen bei lebenden Personen, bekannte Verwandtschaftsverhältnisse, beispielsweise Mutter-Kind-Verhältnisse, zu fixieren. Zwar kann eine Übereinstimmung der mitochondrialen HVR I einer gemeinsam mit einem Kind bestatteten Frau ein Hinweis auf eine Mutter-Kind-Beziehung sein, jedoch kann eine solche Übereinstimmung auch auf ein entfernteres verwandtschaftliches Verhältnis hindeuten oder gar zufälliger Natur sein. Da die HVR I nur ein kleiner Teil des mitochondrialen Genoms ist, stellt sie für sich allein genommen keinen zwingenden Beweis für ein Verwandtschaftsverhältnis dar (BUTLER, 2010). Für eine Bestätigung eines verwandtschaftlichen Verhältnisses müssten hier komplette mitochondriale Genome analysiert werden und auch mit diesen könnte das exakte Verwandtschaftsverhältnis nicht bestimmt werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen der

uniparental vererbten Marker wurden daher lediglich für die Aufstellung bestimmter Hypothesen für verwandtschaftliche Verhältnisse verwendet, die anschließend alle gegen die Nullhypothese ( $H_0$ : die Individuen sind nicht verwandt) getestet wurden. Im Falle einer Übereinstimmung der HVR I zwischen einer Frau und einem mit ihr bestatteten Kind wurden neben der Nicht-Verwandtschaft alle Verhältnisse bis zu einem Verwandtschaftskoeffizienten von 0,125, die über eine weibliche Linie möglich sind, getestet. Im Fall einer fehlenden Übereinstimmung, was eine Verwandtschaft über eine weibliche Linie ausschließt, wurden nur solche Stammbäume als Hypothesen aufgestellt, die ohne Vererbung über eine weibliche Linie zustande kommen können. Analog wurde mit den Ergebnissen aus den Bestimmungen der Y-chromosomalen Haplotypen verfahren. Somit wurden die Informationen über diese Marker für die Vorauswahl der zu testenden Hypothesen verwendet.

Die Einteilung der *likelihood ratios* (LRs) für die Auswertung der Stammbäume erfolgte nach GOODWIN ET AL. (2011) und ist in Tabelle 70 dargestellt.

**Tabelle 70 | Einteilung der *likelihood ratios* nach GOODWIN ET AL. (2011).**

Likelihood ratio (LR)	Wörtliche Entsprechung
1 - 10	Bedingte Unterstützung der Hypothese
10 - 100	Moderate Unterstützung der Hypothese
100 - 1000	Mäßig starke Unterstützung der Hypothese
1000 - 10.000	Starke Unterstützung der Hypothese
> 10.000	Sehr starke Unterstützung der Hypothese

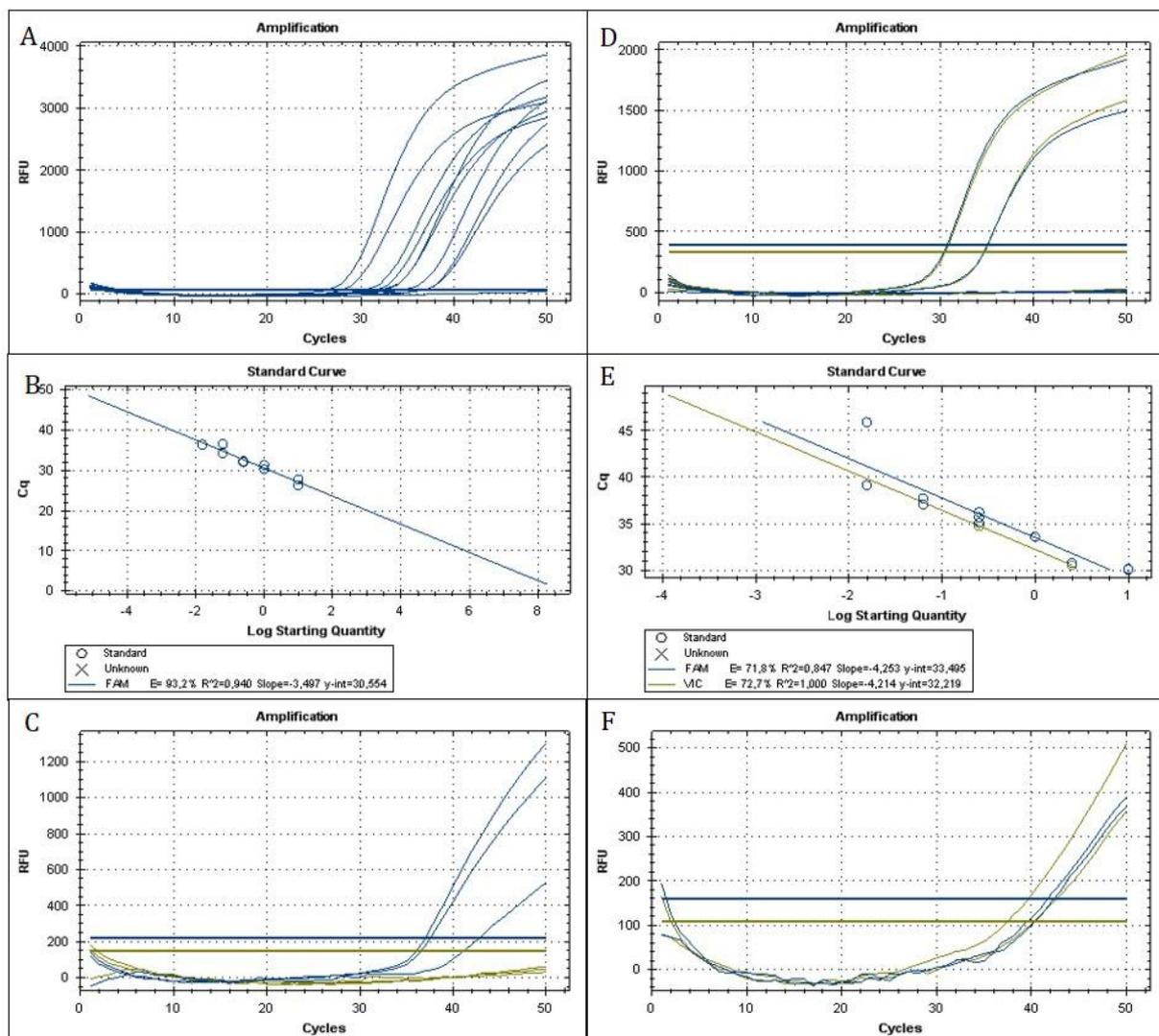
Je nach Anzahl der gegeneinander getesteten Stammbäume haben sich bei den verwandtschaftlichen Untersuchungen auch Verhältnisse mit LRs zwischen 1 und 10 als wahrscheinlichste herausgestellt, da ihre Gesamtwahrscheinlichkeit (*posterior probability*; PP) am Ende die höchste unter allen getesteten Varianten war (siehe 4.2 und 5.2). Diese Stammbäume wurden aufgrund der teilweise geringen zur Verfügung stehenden Markeranzahl dennoch als wahrscheinliche Stammbäume in der Auswertung berücksichtigt.

#### 5.1.4 Amplifikation von Amelogenin in einem TaqMan-Ansatz

Durch verschiedene Anpassungen (siehe Tabelle A 4 im Anhang) war es möglich, die von ALONSO ET AL. (2004) und ALONSO & MARTÍN (2005) publizierten PCR-Protokolle an die Voraussetzungen für den Einsatz von UNG als zusätzlichen Schutz vor *carry over*-Kontaminationen zu erreichen. Im Wesentlichen wurde dem Ansatz zunächst dUTP statt dTTP hinzugefügt. Darüber hinaus wurde das Gesamtvolumen der Reaktionen bei gleichbleibendem Extrakteinsatz erfolgreich verringert, um eine höhere Konzentration der Ziel-DNA zu erreichen. Dies erforderte im Nachgang eine Anpassung der Primer- und Sondenkonzentrationen, die erfolgreich abgeschlossen werden konnte. Die resultierenden Standardkurven wiesen eine PCR-Effizienz

von über 90 % auf und liegen damit in dem von TAYLOR ET AL. (2011) angestrebten Bereich für die Effizienz einer qPCR (IMMLER, 2013).

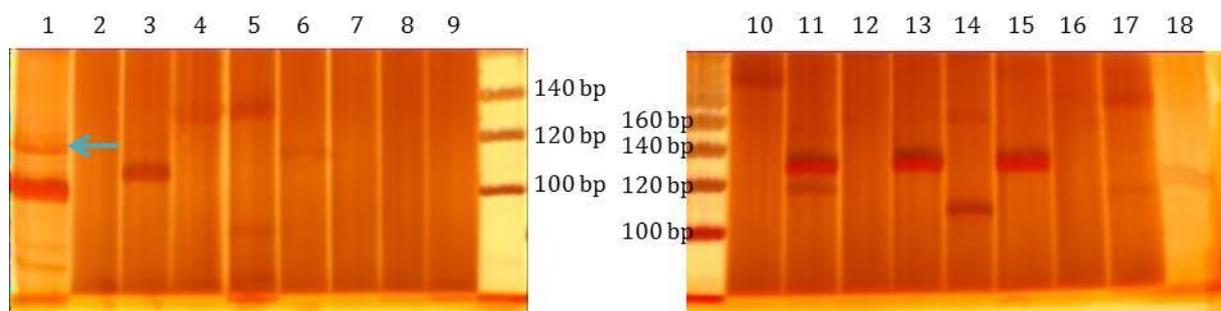
Dennoch zeigten sich bei den TaqMan-Ansätzen wiederholt Ausfälle einzelner PCR-Reaktionen, sowohl bei Ansätzen mit Proben-DNA als auch bei Ansätzen mit Standard-DNA (IMMLER, 2013). Wenngleich die Effizienzen der PCRs in der Regel bei mehr als 90 % lagen, zeigte sich bei der Erstellung der Regressionsgeraden zur Berechnung der Startquantitäten häufig eine schlechte Korrelation ( $R^2 < 0,85$ ; IMMLER, 2013), was oft durch den Ausfall einzelner Reaktionen oder gar aller Reaktionen einer bestimmten Konzentration bedingt war. Dies machte häufig eine Wiederholung der Reaktionen unumgänglich, um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten. Ein weiteres Problem sind die oft sehr niedrigen Ausgangsquantitäten, wie sie mit Hilfe der Regressionsgeraden berechnet wurden (IMMLER, 2013). Dies ist durch die unterschiedliche Reaktionskinetik von Standard und Proben zu erklären (Abbildung 17).



**Abbildung 17 | Vergleich der Reaktionskinetik von Standard und Proben im TaqMan-Ansatz.** Gut zu erkennen ist ein deutlich flacherer Verlauf der Amplifikationskurven von Proben (C und F) im Vergleich zu den Standards (A und D) der jeweils gleichen PCR-Ansätze. Dargestellt sind der Standard für die weibliche DNA (A) mit zugehöriger Regressionsgeraden (B) und der besten Probe aus diesem PCR-Ansatz (Steinhöring 138; C). Außerdem gezeigt werden die Amplifikationskurven des männlichen Standards (D) mit der zugehörigen Regressionsgeraden (E) und einer als männlich identifizierten Probe (Plienig 62; F). Abbildung verändert nach IMMLER (2013).

Ursächlich für die unterschiedliche Kinetik sind vermutlich eventuell immer noch in den Proben vorhandene inhibitorische Stoffe, die durch das zugefügte BSA nicht vollständig neutralisiert werden können, oder der Zustand der Zielmoleküle selbst. So besteht die Möglichkeit, dass Schäden am DNA-Molekül selbst die Hybridisierung der Sonden an die Zielsequenz behindern (s. u.). In der Folge führt dies dazu, dass möglicherweise ein Teil der amplifizierten Moleküle undetektiert bleibt, da nicht immer eine Korrelation zwischen erfolgreicher Amplifikation und Fluoreszenzanstieg gewährleistet ist, wenn beispielsweise an einzelne Moleküle nur die Primer, nicht aber die Sonden binden. In der Folge führt dies womöglich zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Molekülzahl im Extrakt und kann daher eine Erklärung für die häufig erhaltenen Quantifizierungsergebnisse von unter 1 in diesen PCR-Ansätzen (IMMLER, 2013) liefern.

Ein weiteres Problem stellte sich bei der Auswertung der Proben heraus. Vereinzelt zeigte sich in Proben ein kontinuierlicher Anstieg der Fluoreszenzgrundlinie, der zwar von einer spezifischen Amplifikation gut unterscheidbar ist, jedoch die Beurteilung des tatsächlichen Beginns des Anstiegs in der Amplifikationskurve erschwerte (IMMLER, 2013). In zusätzlich stichprobenartig angefertigten Gelbildern ließ sich dieser Effekt auf die Entstehung höhermolekularer Banden zurückführen (Abbildung 18, blauer Pfeil). Wenngleich sowohl die Primer- als auch die Sondensequenzen, die beide jeweils anderen Publikationen entnommen sind (ALONSO & MARTÍN, 2005, MANNUCCI ET AL., 1994), noch einmal mit dem Online-Tool MFE Primer 2.0 (<http://biocompute.bmi.ac.cn/CZlab/MFEprimer-2.0/>) hinsichtlich ihrer Spezifität untersucht wurden (IMMLER, 2013), traten vereinzelt derartige unspezifische Reaktionen auf. Diese sind vermutlich auf unspezifische Reaktionen exogener Kontaminationen in Form von mikrobieller DNA zurückzuführen, die in Extrakten aus bodengelagerten Proben sehr wohl zu erwarten ist (HAGELBERG ET AL., 1991, IMMLER, 2013, MAUERER, 2006).



**Abbildung 18 | Überprüfung der Spezifität der Amelogenin-Amplifikationen im Gelbild.** Polyacrylamid-Gele mit anschließender Silberfärbung. Spur 1: Amplifikation einer Probe von Künzing 249. Neben der spezifischen Bande finden sich in der Spur auch unspezifische, höhermolekulare Reaktionsprodukte (blauer Pfeil) sowie 2 zusätzliche niedermolekulare Banden. Spur 18: Auftrennung der Reaktionsprodukte einer Probe von Aschheim 9. Hier finden sich 2 (schwache) spezifische Banden der Längen 106 und 112 bp, die auf ein männliches Individuum hinweisen. Als Längenstandard wurde eine 20 bp-Leiter verwendet. Das Gel sowie das anschließende Gelbild wurden angefertigt von Dr. I. Wiechmann. Abbildung verändert nach IMMLER (2013).

Ein Vergleich der Ergebnisse der genetischen Geschlechtsbestimmung sowohl im TaqMan-Ansatz als auch mit Hilfe des AmpflSTR® MiniFilers™ zeigt, dass beide Methoden übereinstimmende Ergebnisse liefern (IMMLER, 2013). Im Gegensatz zur Anwendung des MiniFilers, der sehr gut reproduzierbare Ergebnisse lieferte, zeigten sich im TaqMan-Ansatz wiederholt Ausfälle bei einzelnen Reaktionen, was dazu geführt hat, dass bei einigen Proben nur eine positive Reaktion von drei vorliegt (IMMLER, 2013). Zwar scheint dies probenspezifisch zu sein, da sich dieses Phänomen auf einzelne Proben beschränkt (Tabelle 71; IMMLER, 2013), dennoch konnten bei Anwendung des MiniFilers mit denselben Proben bessere Ergebnisse erzielt werden. Hier musste lediglich ein Ausfall des X-Allels bei einer Probe von Peigen 232, einer Probe, für die auch mehrere Ausfälle in der TaqMan-Reaktion verzeichnet werden mussten, festgestellt werden. Durch eine positive Reaktion des Y-Allels war hier allerdings dennoch eine eindeutige Ansprache als männlich möglich (IMMLER, 2013). Zusammengenommen müssen jedoch an dieser Stelle, vor allem vor dem Hintergrund der wenigen Reaktionsausfälle, der MiniFiler™ und auch das in dieser Arbeit etablierte Protokoll (siehe 5.1.3) als die sicherere Methode zur genetischen Geschlechtsbestimmung der alten Proben angenommen werden.

**Tabelle 71 | Vergleich der Reaktionsausfälle zwischen dem TaqMan-Ansatz und dem Minifiler™.** Gerade im TaqMan-Ansatz zeigen sich teils viele Ausfälle bei einzelnen Proben. Vor allem am Ausfall der X-spezifischen Sonde, wird deutlich, dass teilweise nur ein Drittel (graue Markierungen) der Reaktionen erfolgreich verlaufen ist. Dagegen konnten mit Hilfe des Minifilers™ stets reproduzierbare und positive Reaktionen erzielt werden. Lediglich ein Ausfall des X-Allels bei einer Probe von Peigen 232 musste hier verzeichnet werden (nach IMMLER, 2013).

Probe	TaqMan				MiniFiler™	
	X gesamt	X erfolgreich	Y gesamt	Y erfolgreich	gesamt	erfolgreich
Aschheim 9	3	1	3	3	2	2
Aubing 490	3	3	-	-	2	2
Künzing 249	3	3	3	1	2	2
Peigen 232	3	1	-	-	2	2
Pliening 62	12	11	12	12	2	2
Sindelsdorf 232	3	3	3	3	6	6
Steinhöring 138	6	5	-	-	2	2
Straubing 26	6	2	6	4	2	2
Straubing 459	6	6	-	-	2	2
Weiding 160	12	8	12	11	2	2

Die Gründe für das bessere Abschneiden des MiniFilers im direkten Vergleich mit dem TaqMan-Ansatz können dabei sehr vielfältig sein. Ein wichtiger Unterschied zwischen beiden Methoden ist der Einsatz des Enzyms Uracil-N-Glykosylase. Wie oben bereits beschrieben, soll durch dessen Einsatz vor allem die Gefahr von *carry over*-Kontaminationen verringert werden. Zum anderen wird durch den Einsatz dieses Enzyms die Wahrscheinlichkeit von C-zu-T-Transitionen, die durch die diagenetische Deaminierung von C-Basen entstehen können, minimiert. Allerdings führt dies in der Folge zu einer abasischen Stelle im DNA-Molekül, was dessen erfolgreiche Amplifikation vollständig verhindert. Da davon auszugehen ist, dass sehr viel weniger nukleäre Moleküle als mitochondriale Moleküle in einem Extrakt vorliegen, kann angenommen werden,

dass der Effekt von UNG sich auf die erstgenannte stärker auswirkt. Es kann daher möglich sein, dass nach der Inkubation mit UNG nur noch ein geringer Prozentsatz der ohnehin nur in geringer Anzahl vorhandenen Ausgangsmoleküle amplifizierbar bleibt und somit überhaupt detektierbar ist. Dies stellt auch eine Erklärungsmöglichkeit dafür dar, dass in vielen Proben nur einzelne Ansätze eine Reaktion mit einer sehr geringen Ausgangszahl an Molekülen zeigten (IMMLER, 2013). Gegen diese Vermutung spricht, dass die Amplifikation von Amelogenin in STR-Set 2, welches in dieser Arbeit etabliert wurde, auch bei Einsatz des dUTP-UNG-Systems möglich war (siehe 5.1.3).

Einen weiteren Erklärungsansatz liefert hier möglicherweise der bereits erwähnte Einfluss von UNG auf die Schmelztemperatur von Oligonukleotiden. Die Anwesenheit von UNG in Reaktionen führt dabei zu einer Absenkung derselben (LEBLANC ET AL., 2008). Möglicherweise dissoziieren bei der Erhöhung der Annealing- auf die Elongationstemperatur zu viele Sonden zu früh vom Zielmolekül, werden in der Folge nicht durch die Polymerase degradiert und die Amplifikation bleibt schlicht undetektiert, was die häufigeren Ausfälle vor allem bei den Proben mit geringer Ausgangsmolekülzahl erklären könnte.

Außerdem bedarf es im Bereich der aDNA-Untersuchung immer auch einer Bestätigung der Authentizität der gewonnenen Ergebnisse und vor allem auch des Ausschlusses von möglichen Kontaminationen. Bei der genetischen Geschlechtsbestimmung bietet sich hier die zusätzliche Untersuchung autosomaler STR-Marker an (wie in IMMLER, 2013), da nur hierdurch weitestgehend ausgeschlossen werden kann, dass ein Mischprofil vorliegt, und die gewonnenen genetischen Daten folglich nur einem Individuum zugeordnet werden können. Bei allen kommerziell erhältlichen Kits zur Erstellung genetischer Fingerabdrücke ist in der Regel ein geschlechtsdeterminierender Marker, meist Amelogenin, integriert und es können somit gleichzeitig das genetische Geschlecht untersucht und Profile autosomaler STRs erstellt werden, die zur Detektion möglicher Kontaminationen herangezogen werden können. Da auch Reaktionen für solche Marker-Sets bedingt an den Einsatz des dUTP-UNG-Systems angepasst werden können (siehe 5.1.3), scheinen diese trotz der fehlenden Möglichkeit der absoluten Quantifizierung dennoch besser geeignet für die genetische Geschlechtsbestimmung. Die Quantifizierung liefert bei vielen Proben, die im Verlauf ihrer Amplifikationskurven Hinweise auf Inhibition zeigen, Ergebnisse, welche nur als Hinweis auf ein genetisches Geschlecht gewertet werden sollten (IMMLER, 2013), da hier von einer sehr geringen Zahl an Ausgangsmolekülen ausgegangen werden muss. Dies macht eine mehrmalige Wiederholung der TaqMan-Reaktionen, wie sie auch bei den gängigen STR-Kits praktiziert werden muss, unumgänglich. Zum Ausschluss von Mischprofilen müsste anschließend dennoch eine Bestimmung des STR-Profiles der jeweiligen Proben erfolgen. Daher scheint die genetische Geschlechtsbestimmung mit Hilfe eines Sets aus STR-Markern, in dem Amelogenin als

zusätzlicher Marker integriert ist, auch unter dem Aspekt der Zeitersparnis bei der Produktion der Daten für zukünftig zu bearbeitende Proben sehr viel sinnvoller.

## 5.2 EIGNUNG DER ETABLIERTEN METHODEN FÜR DIE ANALYSE ALTER DNA

Die Etablierung der PCR-Reaktionen zur Quantifizierung und Amplifikation der mitochondrialen DNA konnten allesamt erfolgreich abgeschlossen werden. Bei der Analyse alter DNA zeigten sich bei einem der mitochondrialen HVR I-Fragmente Probleme, die scheinbar in Zusammenhang mit der geringeren DNA-Konzentration in den Extrakten stehen. Durch den Austausch eines der beiden Primer für dieses Fragment konnte diesem Umstand jedoch begegnet werden und alle Ansätze lieferten für die alten Proben reproduzierbare Ergebnisse.

Die Anpassung der miniSTR-Reaktionen an den Einsatz des dUTP-UNG-Systems war nur bedingt erfolgreich. Eines der beiden Marker-Sets konnte ohne Probleme daran angepasst werden, bei dem zweiten Set zeigte sich bei zwei Markern, dass eine solche Anpassung, vermutlich aufgrund deren Repeat-Struktur, nicht möglich war. In diesem zweiten Set musste auf eine solche Anpassung verzichtet werden. Beide Sets lieferten reproduzierbare Ergebnisse im erwarteten Rahmen für alte Proben. Darüber hinaus können durch die etablierte Quantifizierung mitochondrialer DNA Vorhersagen über die Erfolgsaussichten der STR-Amplifikation getroffen werden.

Die Anpassung an dUTP-UNG und die Verringerung des Reaktionsvolumens des TaqMan-Ansatzes konnte ebenfalls erfolgreich durchgeführt werden (IMMLER, 2013). Wenngleich die Methode prinzipiell für die Anwendung auf aDNA geeignet scheint, zeigte der Vergleich mit einem kommerziellen Kit zur Geschlechtsbestimmung und Erstellung genetischer Fingerabdrücke jedoch, dass die letztgenannte Methode deutlich weniger Ausfälle bei der Anwendung an altem Probenmaterial zeigt. Somit muss hier der Verwendung eines solchen Ansatzes der Vorzug gegenüber der TaqMan-Methode gegeben werden.

## 5.3 AUTHENTIZITÄT DER ERHALTENEN ERGEBNISSE

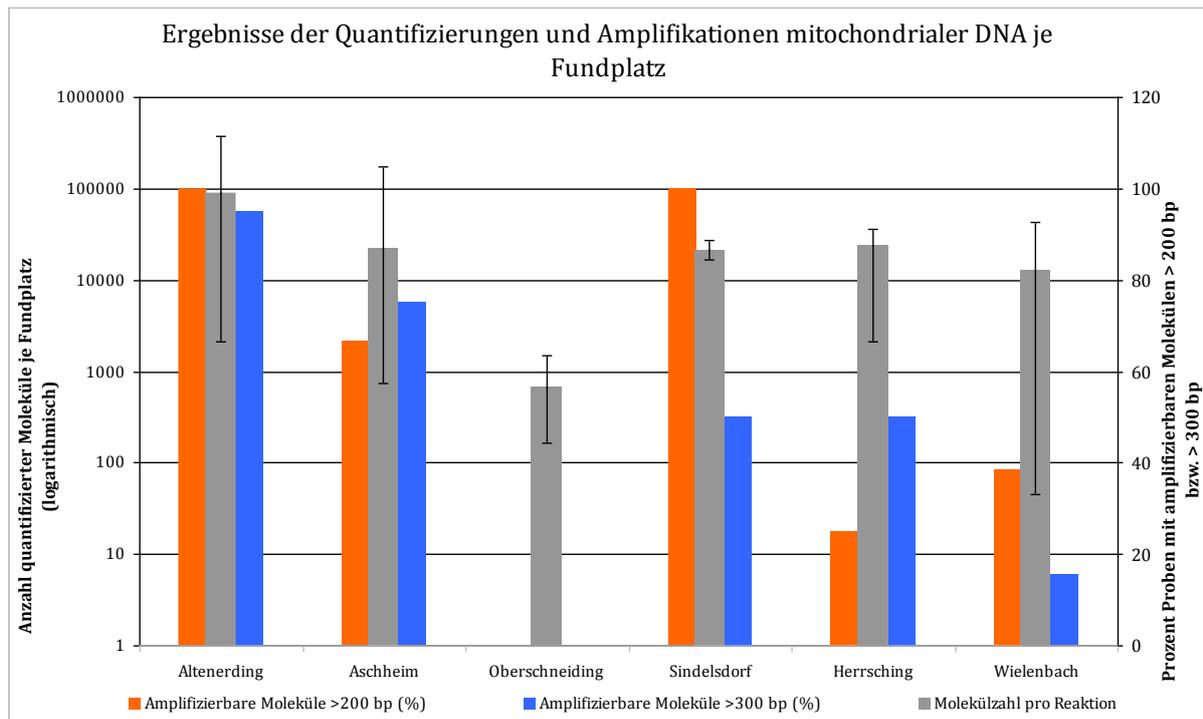
Eines der wichtigsten Kriterien für die Beurteilung der Authentizität der erhaltenen Ergebnisse stellen die laborseitigen Voraussetzungen zur Arbeit mit alter DNA, und hier vor allem die physikalische Trennung von prä- und post-PCR-Bereich, dar (LINDAHL, 1993), was in der vorliegenden Arbeit gewährleistet ist (siehe 3.2). Wie im Ergebnisteil unter 4.2.1 bereits dargestellt besteht nur bei einer mitgeführten Extraktionskontrolle mit 36 quantifizierten Molekülen die Möglichkeit, dass hier eine Kontamination vorliegt. Allerdings können in Einzelfällen auch in Negativkontrollen so viele Moleküle festgestellt werden (MALMSTRÖM ET AL.,

2007). Die zusammen mit dieser Kontrolle extrahierten Proben (jeweils zweite Probe von A 56, A 60, A 119, A 126, OS 1, OS 2, OS 3) liegen mit Ausnahme der Proben aus Oberschneiding alle deutlich über den in der Kontrolle maximal quantifizierten Molekülen und zeigen keinerlei Anzeichen für Kontaminationen in Form von Doppelpeaks oder zusätzlichen Allelen in den nachfolgenden Analysen. Lediglich OS 3 weist dabei eine niedrigere Kopienzahl als die Kontrolle auf, sodass die zweite Probe dieses Individuums nicht mit in die Auswertung einbezogen wurde. Ein Gegentest der verwendeten Chemikalien zeigte weiterhin, dass es sich nicht um eine systematische Kontamination handelt, da eine weitere Kontrolle das erwartete negative Ergebnis aufwies. So ist davon auszugehen, dass es sich hier vermutlich um einen Probenübertrag während der Extraktion gehandelt hat.

Bei allen übrigen mitgeführten Kontrollen besteht kein Verdacht auf eine Kontamination, sodass davon ausgegangen werden kann, dass keine laborseitigen Kontaminationen zu den hier vorgestellten Ergebnissen geführt haben. Wenngleich in einigen Kontrollen sporadisch mögliche Amplifikationsprodukte in sehr niedriger Kopienzahl auftreten, muss damit immer gerechnet werden. Bedingt durch die für die Amplifikation alter DNA nötige hohe Zyklenzahl in der PCR, kann es zu sporadischen Amplifikationsereignissen kommen (HUMMEL, 2003, MALMSTRÖM ET AL., 2007). Daher muss als zusätzliches Kriterium für die Authentifizierung von Ergebnissen aus archäologischem Probenmaterial eine Reproduktion der Daten aus unterschiedlichen Reaktionen und (idealerweise) auch aus unterschiedlichen Extraktionen unbedingt stattfinden. Bei allen in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnissen war eine solche Reproduktion erfolgreich, anderenfalls wird gesondert darauf hingewiesen. Im Falle der Tuffplattengräber und der Proben aus Ergolding lagen jeweils bereits (Teil-)Ergebnisse vor (HARBECK, UNPUBLIZIERT, TURNER, 2015), die hier nochmals bestätigt werden konnten. Die bereits vorliegenden Ergebnisse aus Ergolding wurden zusätzlich im früheren Labor der Arbeitsgruppe generiert. Für die Proben A 76 und A 120 aus Aschheim wurden die hier generierten Ergebnisse zusätzlich durch komplette mitochondriale Genome (WAGNER ET AL., 2014) bestätigt. Diese unabhängige Reproduktion durch unterschiedliche Bearbeiter in zum Teil unterschiedlichen Laborräumen unterstreicht die Authentizität ebenfalls.

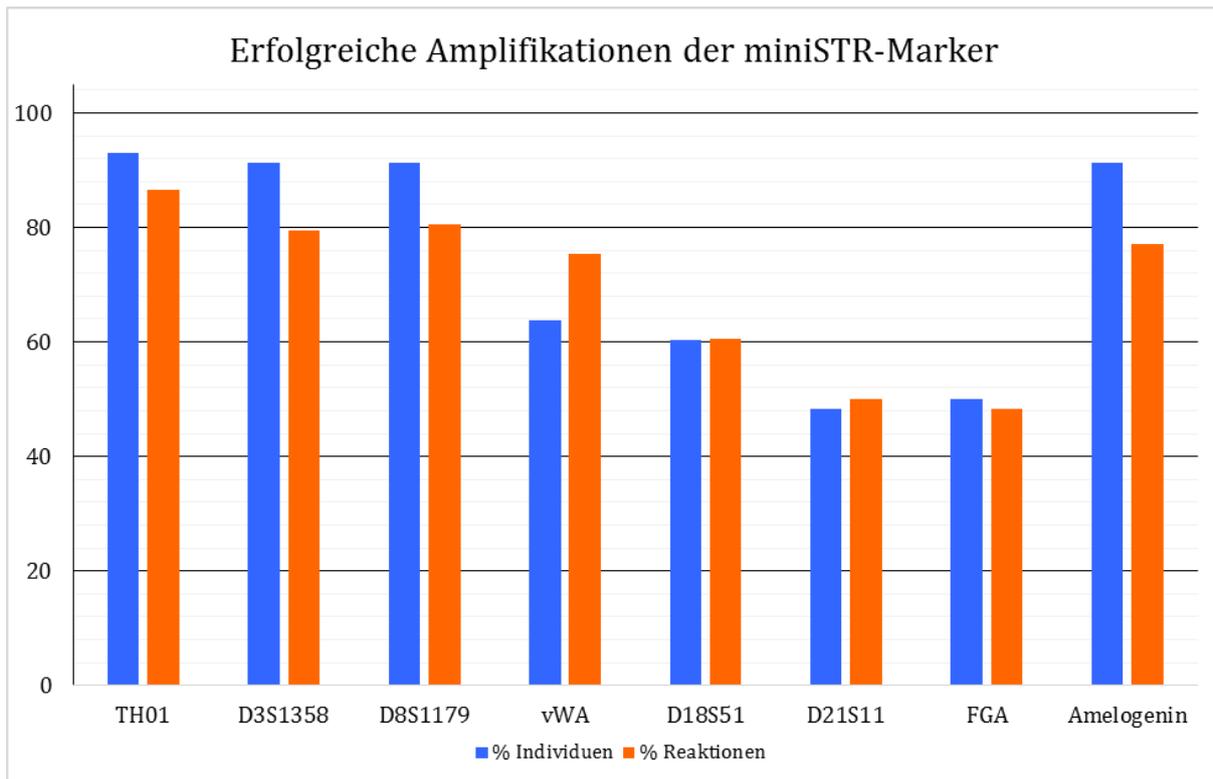
Als weiteres Kriterium für die Authentizität der Ergebnisse kann das molekulare Verhalten der Proben herangezogen werden (COOPER & POINAR, 2000, LINDERHOLM ET AL., 2008, MALMSTRÖM ET AL., 2007). Dabei ist zu erwarten, dass längere Moleküle weniger häufig und weniger gut amplifizierbar sind als kürzere Moleküle. Sowohl bei der Amplifikation der mitochondrialen als auch der nukleären DNA konnte dieser Sachverhalt beobachtet werden. Während von Altenerding und Sindelsdorf, den Fundplätzen, die nach der Quantifizierung der mitochondrialen Molekülzahl den besten molekularen Erhaltungszustand aufwiesen, bei nahezu allen Proben sowohl kurze als auch lange mitochondriale Fragmente amplifizierbar waren, war dies bei den schlechter erhaltenen Proben aus Aschheim und Wielenbach nicht mehr möglich.

Eine Ausnahme hiervon stellt der Fundplatz Herrsching dar, bei dem trotz des guten Erhaltungszustands der Proben bei höchstens der Hälfte der Proben lange Moleküle amplifizierbar waren. Den Erwartungen entsprechend war bei allen Fundplätzen das längere Fragment (> 300 bp) seltener amplifizierbar als das kürzere Fragment (> 200 bp). Bei den Proben aus Oberschneiding, die den schlechtesten Erhaltungszustand aufwiesen, konnten keine der langen mitochondrialen Fragmente amplifiziert werden (Abbildung 19).



**Abbildung 19 | Ergebnisse der Quantifizierung und Amplifikation der mitochondrialen DNA.** In der Abbildung ist der Mittelwert der quantifizierbaren Moleküle mitochondrialer DNA je Fundplatz angegeben (**grau**). Die Fehlerbalken zeigen dabei jeweils den Maximal- und Minimalwert an. Ebenfalls dargestellt ist der prozentuale Anteil an Individuen, bei denen mitochondriale Moleküle > 200 bp (**orange**) bzw. > 300 bp (**blau**) amplifiziert werden konnten.

Das gleiche Verhalten zeigt sich auch bei den nukleären STR-Markern. Während die kürzeren Marker (< 100 bp Länge) bei vielen Proben amplifizierbar waren, konnten die längeren Marker (> 150 bp Länge) nur noch bei etwa der Hälfte der Individuen amplifiziert werden (Abbildung 20). Innerhalb des Markersets mit den längeren Markern sind die beiden kürzeren Marker (vWA und D18S51) ebenfalls häufiger nachweisbar als die längeren, was auch für die Authentizität der erhaltenen Ergebnisse spricht.



**Abbildung 20 | Amplifizierbarkeit der autosomalen STR-Marker.** Die Marker TH01 bis FGA sind nach der Maximalgröße der zu erwartenden Allele sortiert, beginnend mit dem kürzesten Marker (TH01). Deutlich zu erkennen ist, dass die Marker mit zunehmender Amplifikatlänge seltener amplifizierbar waren. Amelogenin kommt nur in zwei diskreten Banden vor und ist genauso häufig amplifizierbar wie die Marker D3S1358 und D8S1179, deren Amplifikatlängen denen von Amelogenin gleichen.

Vereinzelt auftretende Mehrfachbanden bei Proben lassen sich in den vorliegenden Fällen allesamt durch Fehler während der PCR, sogenannte Stotterbanden, die besonders häufig während der Amplifikation repetitiver DNA-Motive aus Proben mit niedriger Molekülzahl auftreten (BUTLER, 2010), erklären. Auch die Tatsache, dass derartige Mehrfachbanden in keinem Fall reproduzierbar waren, weisen darauf hin, dass es sich hier nicht um Kontaminationen im Sinne von Mischprofilen handelt, sondern um ein Artefakt während der PCR, das durch den fragmentierten Zustand der Proben-DNA bedingt ist. Auch die bei den STR-Analysen mitgeführten Kontrollen (Extraktionskontrollen und Leerkontrollen während der PCR) waren alle frei von Reaktionsprodukten, sodass ebenfalls ausgeschlossen werden kann, dass Ergebnisse aus der Amplifikation der nukleären DNA auf systematische Kontaminationen zurückgeführt werden können. Gleiches gilt für die Proben, welche hinsichtlich des genetischen Geschlechts untersucht wurden (GÄRTNER ET AL., 2014, IMMLER, 2013).

Ein Abgleich der aus den Proben erhaltenen STR-Profile zeigte keine Übereinstimmung mit einem STR-Profil eines der Bearbeiter (Tabelle A 16 im Anhang).

Insgesamt kann somit davon ausgegangen werden, dass die erhaltenen mitochondrialen Sequenzen und STR-Profile authentische Signale aus den analysierten Proben darstellen.

#### 5.4 ERGEBNISSE DER PESTSCREENINGS

Für Aschheim konnte in vorhergehenden Arbeiten die Anwesenheit des Erregers *Yersinia pestis* bereits im frühmittelalterlichen Bayern nachgewiesen werden. Die sogenannte Justinianische Pest kann somit auf diesen Erreger zurückgeführt werden. Der für den Ausbruch der Pest ursächliche Erregerstamm unterscheidet sich dabei genetisch von jenem, der später den Ausbruch des Schwarzen Todes verursachen sollte (HARBECK ET AL., 2013, WAGNER ET AL., 2014, WIECHMANN & GRUPE, 2005). Aufgrund der geografischen Nähe schien es wahrscheinlich, dass auch im frühmittelalterlichen Altenerding mit der Anwesenheit des Erregers gerechnet werden muss.

Durch ein Screening auf ein *Y. pestis*-spezifisches Fragment des *pla*-Gens konnten beide Individuen der Doppelbestattung 1175/ 1176 positiv auf die Anwesenheit dieses Erregers getestet werden. Aufgrund der Beschaffenheit des Probenmaterials kann nur ein positiver Nachweis eines Erregers als sicher gelten, während eine Nicht-Nachweisbarkeit grundsätzlich auch lediglich ein Degradationsartefakt darstellen kann (GRUPE ET AL., 2015). Für AE 1175 konnte dieser Befund zwischenzeitlich auch durch ein komplettes Pestgenom bestätigt werden (FELDMAN ET AL., 2016). Der positive Nachweis für das besagte Doppelgrab bedeutet demnach, dass der Pesterreger in Altenerding vorgekommen ist und dass somit alle anderen Mehrfachbestattungen im betreffenden Zeitraum ebenfalls als potenzielle Pestopfer angesehen werden könnten. Gleichzeitig kann natürlich nicht ausgeschlossen, dass auch andere Ereignisse wie Unfälle oder andere Infektionskrankheiten zu Mehrfachbestattungen auch der gleichen Zeitstellung geführt haben. In den folgenden Auswertungen wird für die fünf untersuchten Bestattungen aus Altenerding, die ebenfalls sicher in den fraglichen Zeitrahmen fallen (127/ 128; 349/ 350; 468/ 469; 1004/ 1005; 1223/ 1241; siehe hierzu auch Tabelle 1 im Materialteil), immer auch ein möglicher Pesthintergrund berücksichtigt. Auch für die Individuen mit fraglicher Datierung (siehe ebenfalls Tabelle 1) aus Altenerding muss diese Möglichkeit in Betracht gezogen werden, da hier nicht ausgeschlossen werden, dass es sich um zeitgleiche Bestattungen zu AE 1175/ AE 1176 handeln könnte.

Da lange Zeit gemutmaßt wurde und mittlerweile auch bewiesen werden konnte, dass derselbe Erregerstamm von *Y. pestis* durchaus über mehrere Jahrhunderte hinweg in einer Region endemisch bleiben kann (BOS ET AL., 2016, SEIFERT ET AL., 2016), wurden auch sämtliche Proben aus den Tuffplattengräbern dem Pestscreening unterzogen, obwohl sie alle ins 7. Jahrhundert und damit erst nach dem bisher für die Justinianische Pest in Bayern gesicherten Zeitrahmen datieren (FELDMAN ET AL., 2016, HARBECK ET AL., 2013, WAGNER ET AL., 2014). Allerdings fielen alle Testresultate negativ aus. Somit liegen zunächst keine Anhaltspunkte dafür vor, dass sich unter den Bestatteten in den Tuffplattengräbern an der Pest verstorbene Individuen befinden. Dies stimmt überein mit dem Befund, dass es sich bei den Bestattungen in Tuffplattengräbern,

abgesehen von der Mehrfachbestattung 10 aus Herrsching, nicht um zeitgleiche Bestattungen von Individuen handelt, bei denen davon ausgegangen werden kann, dass sie sehr zeitnah und möglicherweise an der gleichen Ursache verstorben sind.

## 5.5 ERGEBNISSE DER VERWANDTSCHAFTLICHEN UNTERSUCHUNGEN

Wenngleich in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal frühmittelalterliche Mehrfachbestattungen in größerem Umfang hinsichtlich genetischer Verwandtschaften untersucht wurden, ist die Größe der Stichprobe für umfassende Statistiken dennoch nicht groß genug. Daher soll hier, abgesehen von den Verwandtschaftsanalysen selbst, zunächst auf eine umfassende statistische Analyse vor allem mit Blick auf die Unterschiede zwischen den einzelnen Fundkontexten – „normale“ Mehrfachbestattungen, Pestgräber, Männermehrfachbestattungen, Tuffplattenbestattungen – verzichtet werden. Hier können die vorliegenden Ergebnisse nichtsdestotrotz Ansätze zur Verfeinerung der bestehenden Hypothesen (siehe 1.2.1) liefern.

### 5.5.1 Verwandtschaften in Mehrfachbestattungen auf Reihengräberfeldern

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Verwandtschaftsuntersuchungen auf Reihengräberfeldern zusammengeführt werden. Da sich aufgrund des Pestscreenings auch einige Mehrfachbestattungen aus Altenerding als mögliche Pestgräber herausgestellt haben, wird dieser Fundplatz im Vergleich mit Aschheim diskutiert werden.

#### 5.5.1.1 Mehrfachbestattungen in Altenerding

Für die Einbeziehung von verwandtschaftlichen Beziehungen in die Berechnungen wurde im Fall der Mehrfachbestattungen auf den Reihengräberfeldern die Tatsache genutzt, dass es sich dabei um echte Mehrfachbestattungen im Sinne einer gleichzeitigen Beisetzung der Individuen (LÜDEMANN, 1990) handelt. Ausnahmen hiervon bilden die Doppelbestattungen AE 468/ AE 469 und AE 1223/ AE 1241. Hier handelt es sich einmal um eine Nachbestattung des Kindes (AE 469), welche zu einem späteren Zeitpunkt über der Bestattung des Mannes (AE 468) angelegt wurde. Da das Kind hier die jüngere Bestattung darstellt, konnten hier auch einige Hypothesen für nähere Verwandtschaftsverhältnisse formuliert und getestet werden. Bei der Frau AE 1223 handelt es sich um eine Nachbestattung zur Frau AE 1241 (PÄFFGEN, PERS. MITTEILUNG). Auch hier war es dennoch möglich einige sinnvolle Verwandtschaftsverhältnisse zu testen.

Vom Fundplatz Altenerding kann in drei der zehn untersuchten Doppelbestattungen eine enge verwandtschaftliche Beziehung der dort beigesetzten Individuen sicher angenommen werden, in drei weiteren Fällen ergibt sich ein verwandtschaftliches Verhältnis als wahrscheinlichste Beziehung. In den drei letztgenannten Bestattungen liegen jedoch die *likelihood ratios* (LRs) in einer Größenordnung ( $1 < LR < 10$ ), die nach GOODWIN ET AL. (2011) nur bedingt eine Unterstützung für eine solche verwandtschaftliche Beziehung darstellt. Die Gründe hierfür liegen zum einen vermutlich in der begrenzten Anzahl an Markern, die im Zuge von aDNA-Untersuchungen zum Einsatz kommen und in Abhängigkeit der bestimmten Allele höhere oder niedrigere Wahrscheinlichkeiten für oder gegen einen Verwandtschaftsausschluss liefern können, zum anderen war es bei diesem Fundplatz nicht in allen Fällen möglich, vollständige STR-Profile zu erlangen, sodass hier am häufigsten die polymorphen und damit auch längsten Marker im Set für eine Auswertung nicht immer zur Verfügung standen. Bei der Untersuchung von aDNA sollten daher auch niedrige LRs nicht zwangsläufig zum Verwandtschaftsausschluss führen, wenn andere untersuchte Marker wie beispielsweise die mtDNA eine Verwandtschaft ebenfalls zulassen, was in Altenerding in zwei Fällen zutrifft (Tabelle 72).

**Tabelle 72 | Wahrscheinlichstes Verwandtschaftsverhältnis der Individuen aus Altenerding im Vergleich mit den mitochondrialen Haplotypen.** In Fällen, in denen die Verwandtschaftsanalyse nur sehr geringfügig höhere *likelihood ratios* für ein bestimmtes verwandtschaftliches Verhältnis ausgibt, spricht der gemeinsame mitochondriale Haplotyp dennoch für die Annahme eines solchen. In allen Fällen, in denen mit den autosomalen Markern eine Verwandtschaft ausgeschlossen werden kann, zeigen die Individuen auch unterschiedliche mitochondriale Haplotypen. Grau hinterlegte Mehrfachbestattungen fallen in den Zeitraum der Justinianischen Pest.

Bestattung	Morphologie	Wahrscheinlichste Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Mitochondriale Haplotypen
AE 96 – AE 97	Frau – Jugendliche	Mutter - Tochter	0,5	120,11	mt1-mt1
AE 127 – AE 128	Kind – Frau	Geschwister	0,5	46,21	mt2-mt2
AE 349 – AE 350	Frau – Kind	Cousins	0,125	1,15	mt3-mt3
AE 468 – AE 469	Kind – Mann	H <sub>0</sub>	0	1	mt4-mt5
AE 887 – AE 888	Mann – Mann	Vater - Sohn	0,5	162,42	mt6-mt7
AE 1004 – AE 1005	Kind – Kind	Halbgeschwister	0,25	1,96	mt1-mt1
AE 1154 – AE 1155	Mann – Kind	H <sub>0</sub>	0	1	mt1-mt8
AE 1175 – AE 1176	Frau – Mann	Cousins	0,125	1,17	mt9-mt10
AE 1184 – AE 1185	Kind – Kind	Kein Verhältnis wahrscheinlicher oder unwahrscheinlicher als H <sub>0</sub> – nicht ausreichend Marker zur Verfügung			mt11-mt11
AE 1223 – AE 1241	Frau – Frau	H <sub>0</sub>	0	1	mt12-mt1

Für die Individuen aus Grab AE 349/ AE 350 ist der Marker FGA für die Analyse weggefallen und D18S51 lieferte für AE 350 ein unsicheres Allel. Würde dieses Allel in der Analyse berücksichtigt,

wäre auch ein engeres verwandtschaftliches Verhältnis der beiden Individuen wahrscheinlicher. Dies und die Übereinstimmung der mitochondrialen Haplotypen erlaubt in diesem Fall eine Verwandtschaft der beiden Individuen trotz niedriger LR anzunehmen. Gleiches gilt für AE 1004/ AE 1005. Hier war nur ein Marker sicher bei beiden Individuen identifizierbar, der bereits eine Tendenz zu einer Verwandtschaft anzeigt. Da auch hier beide den gleichen mitochondrialen Haplotypen aufweisen, kann eine Verwandtschaft der beiden Kinder durchaus wahrscheinlich sein. Schwieriger liegt der Fall bei AE 1175/ AE 1176. Bei diesen beiden Individuen konnten die Marker FGA und D21S11 nicht für die verwandtschaftliche Analyse berücksichtigt werden. Seitens der autosomalen Marker liegt eine leichte Tendenz zu einer entfernten Verwandtschaft vor. Die mitochondriale DNA gibt hier keine Hinweise auf eine mögliche Verwandtschaft. In diesem Fall ist also höchstens eine entfernte, jedoch keine enge verwandtschaftliche Beziehung zu erwarten.

Weiterhin kann auch bei den beiden gemeinsam bestatteten Kindern AE 1184 und AE 1185, bei denen keine überlappenden Marker amplifiziert werden konnten, um eine Verwandtschaftsanalyse auf Basis der autosomalen DNA durchzuführen, nicht ausgeschlossen werden, dass es sich hier möglicherweise um Geschwister handelt. Der mögliche, gemeinsame mitochondriale Haplotyp würde dieser Theorie immerhin nicht widersprechen.

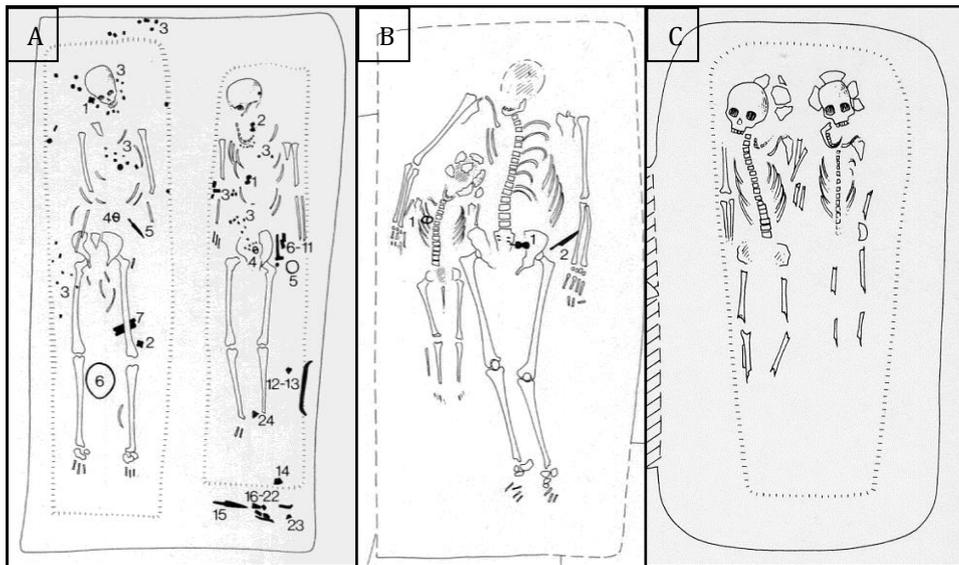
Somit kann für Altenerding nur in drei Fällen eine Verwandtschaft der gemeinsam bestatteten Individuen sicher ausgeschlossen werden.

**Tabelle 73 | Die möglichen Personenkombinationen in Mehrfachbestattungen aus Altenerding und die Verwandtschaft der darin bestatteten.** Gezeigt sind die möglichen Kombinationen bestatteter Individuen in Mehrfachgräbern und die jeweiligen Befunde zu deren Verwandtschaftsverhältnis. Ebenfalls aufgeführt sind die Häufigkeit der einzelnen Kombinationen auf dem Gräberfeld insgesamt und die Anzahl der davon untersuchten Bestattungen.

Kombination	n gesamt	n untersucht	verwandt
Frau - Kind	3	3	immer verwandt
Mann - Kind	3	2	nie verwandt
Kind - Kind	3	2	wahrscheinlich immer verwandt
Mann - Frau	3	1	entfernt verwandt
Frau - Frau	1	1	nicht verwandt
Mann - Mann	1	1	verwandt

In Fällen, in denen eine Frau mit einem Kind bestattet liegt, konnte immer ein verwandtschaftliches Verhältnis der Individuen festgestellt werden (Tabelle 73). Dieser Sachverhalt lässt sich auch auf den Fundplatz Aschheim erweitern, wo in einer Dreifachbestattung zweier Frauen und eines Kindes (diese Arbeit; A 119/ A 120/ A 126) und in einer Doppelbestattung (A 166/ A 167; WIECHMANN & GRUPE, 2005) ebenfalls eine Verwandtschaft der Individuen festgestellt werden konnte. Dabei ist es unerheblich, ob die Individuen in einem gemeinsamen Sarg und mit angedeuteter Kommunikation bestattet sind

(AE 96/ AE 97) oder ob die beiden Verstorbenen jeweils in einem eigenen Sarg bestattet wurden (AE 349/ AE 350 und AE 127/ AE 128; Abbildung 21).



**Abbildung 21 | Beispiele für unterschiedliche Arten der Kommunikation von Bestatteten aus Altenerding.** **A** Bestattung AE 127/ AE 128. Die beiden verwandten Individuen wurden in getrennten Särgen (gestrichelte Linien) und daher ohne erkennbare Kommunikation beerdigt. **B** Bestattung AE 1154/ AE 1155. Obwohl die beiden Individuen nicht verwandt sind, scheint der alte Mann seinen Arm schützend um das Kind zu legen. **C** Bestattung AE 1184/ AE 1185. Die vermutlich verwandten Kinder wurden „Arm in Arm“ in einem gemeinsamen Sarg (gestrichelte Linie) beigesetzt. Abbildungen aus SAGE (1984), Montage: A. Rott.

Ein anderes Bild zeigt sich dagegen bei der Bestattung von Männern mit Kindern. Hier liegt in keinem der getesteten Fälle eine Verwandtschaft zwischen dem Erwachsenen und dem Kind vor (Tabelle 73). Während es sich, wie oben bereits erwähnt, bei der Nachbestattung AE 468/ AE 469 auch um eine zufällige Überschneidung der beiden Gräber handeln könnte, wird in der Bestattung AE 1154/ AE 1155 durch die Art der Deponierung der beiden Individuen deutlich eine Beziehung zum Ausdruck gebracht (Abbildung 21). Diese wurde seitens der Archäologie als die Geste eines Großvaters, der seinen Arm schützend um das Enkelkind legt, interpretiert (LÜDEMANN, 1990, SAGE, 1984). Wenngleich das STR-Profil des Kindes AE 1155 einige Lücken aufweist, reichen die vorhandenen Marker doch, um eine Verwandtschaft der beiden Individuen auszuschließen. Diese Bestattung stellt somit auch den einzigen Fall dar, bei dem trotz Kommunikation der beiden Bestatteten eine biologische Verwandtschaft ausgeschlossen werden kann. Hier müssen schließlich andere soziale Beziehungen in Betracht gezogen werden, die eine gemeinsame Bestattung bedingen können (s. u.).

In den gemeinsamen Bestattungen von Kindern stellt sich immer ein verwandtschaftliches Verhältnis dar oder kann zumindest, wie bei AE 1184/ AE 1185, aufgrund der vorhandenen HVR I-Sequenzen nicht ausgeschlossen werden. Diese sind auch in allen Fällen in einem gemeinsamen Sarg mit angedeuteter Kommunikation bestattet worden (Abbildung 21).

Innerhalb der Bestattungen erwachsener Individuen kann nur bei der Männerdoppelbestattung (AE 887/ AE 888) ein verwandtschaftliches Verhältnis festgestellt werden, während bei der

gemeinsamen Bestattung zweier Frauen (AE 1223/ AE 1241) kein solches Verhältnis festgestellt werden kann, wobei es sich bei letzterer jedoch um eine Nachbestattung handelt. Dieser Befund deckt sich wiederum mit dem archäologischen, da die beiden Männer in einem gemeinsamen Sarg mit angedeuteter Kommunikation bestattet wurden, während die beiden Frauen in getrennten Särgen beigesetzt wurden und eine Überschneidung beider Gräber hier auch zufälliger Natur sein könnte. Im Fall der Bestattung einer Frau und eines Mannes mit angedeuteter Kommunikation (AE 1175/ AE 1176) kann kein oder höchstens ein entferntes verwandtschaftliches Verhältnis festgestellt werden. In diesem Fall könnte es sich bei den beiden auch um ein Ehepaar handeln, sodass diese ein familiäres Verhältnis aufweisen könnten, welches mit genetischen Methoden nicht nachweisbar ist.

Somit kann nach der Analyse der verwandtschaftlichen Verhältnisse innerhalb der Mehrfachbestattungen auf dem Reihengräberfeld von Altenerding festgehalten werden, dass eine gemeinsame Bestattung von Individuen nicht zwangsläufig gleichbedeutend mit einer biologischen Verwandtschaft derselben ist. Auch archäologische Hinweise wie die Lage der Toten innerhalb eines Grabes (Kommunikation oder nicht) und die Tatsache, ob die Personen in einem gemeinsamen oder in getrennten Särgen bestattet wurden, stimmen in vielen Fällen zwar mit einer biologischen Verwandtschaft der Individuen überein. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass eine Übereinstimmung von archäologischen Hinweisen und biologischer Verwandtschaft nicht in allen Fällen besteht. Auch eine gemeinsame Bestattung von Erwachsenen mit Kindern muss nicht zwangsläufig bedeuten, dass eine verwandtschaftliche Beziehung besteht. Selbst wenn es sich dabei auf den ersten Blick um ein eindeutiges Eltern-Kind-Verhältnis zu handeln scheint, dürfen hier anhand des archäologischen Befundes keine zu schnellen Schlussfolgerungen gezogen werden und eine genetische Analyse zur Feststellung oder des Ausschlusses einer möglichen Verwandtschaft ist unerlässlich.

Gleichzeitig kann festgestellt werden, dass zusätzlich zur Verwandtschaft andere Gründe ebenfalls eine gemeinsame Bestattung von Individuen bedingen können. Hierzu zählt auch die Auffassung der *familia* im frühen Mittelalter. Bereits STEUER (1989) weist darauf hin, dass unter diesem Begriff eine Art erweiterte Familie zu verstehen ist, die nicht nur die Kernfamilie, sondern auch Freunde und Bedienstete eines Hofes umfasst. Auch Adoptionen waren im frühen Mittelalter durchaus üblich (SCHNEIDER, 2008). Somit könnten Personen, die genetisch nicht miteinander verwandt waren, als Familienangehörige angesehen und daher auch gemeinsam bestattet worden sein. Einen weiteren Grund, der zu einer gemeinsamen Beisetzung geführt haben kann, nennt WAHL (1994) mit der Schicksalsgemeinschaft. So wäre es durchaus denkbar, dass ein gemeinsamer Unfall oder eine grassierende Krankheit dazu geführt haben, dass Opfer desselben Schicksals gemeinsam bestattet wurden. Auch hier widerspricht das häufige Auftreten von Doppel- oder Mehrfachbestattungen von Frauen mit Kindern keinesfalls einer solchen Schicksalsgemeinschaft, da vor allem bei Kleinkindern noch eine sehr enge Bindung besteht (z.

B. durch Stillen und Pflege durch die Mutter) und für diese damit eine erhöhte Wahrscheinlichkeit besteht, demselben Unfall oder derselben Krankheit zum Opfer zu fallen (WAHL, 1994).

### 5.5.1.2 Ursachen für Mehrfachbestattungen

Wie eingangs bereits erwähnt, müssen Mehrfachbestattungen immer als Sonderbestattungen gelten und somit bestimmte Gründe vorliegen, die eine solche Art des Begräbnisses bedingen (LÜDEMANN, 1990). In der Regel wird hierbei davon ausgegangen, dass es sich bei den Gründen für Mehrfachbestattungen auch um besondere, gemeinsam erlebte Ereignisse, die letztendlich zum Tod der Individuen geführt haben, gehandelt hat (WAHL, 1994). Wann immer mehrere solcher Begräbnisse innerhalb eines kurzen Zeitraums auftreten, kann man sicherlich neben Unfällen, bei denen es sich normalerweise um einzelne Ereignisse handelt, Infektionskrankheiten als ursächlich für Mehrfachbestattungen annehmen. Hierbei gibt es viele mögliche Krankheiten, deren Vorkommen für das frühmittelalterliche Europa bereits nachgewiesen sind, darunter auch Tuberkulose (STONE ET AL., 2009), die teilweise Spuren am Knochen hinterlässt, aber auch alle Arten von viralen Infektionen, die zumindest mit heutigen Methoden noch nicht nachweisbar sind. Für die hier untersuchten Gräber aus Altenerding und Aschheim ist für den Zeitrahmen des 6. Jahrhunderts jedoch eindeutig die Präsenz von *Yersinia pestis* nachgewiesen (diese Arbeit, FELDMAN ET AL., 2016, HARBECK ET AL., 2013, WAGNER ET AL., 2014, WIECHMANN & GRUPE, 2005). Es ist daher möglich, dass zumindest einige der Bestattungen aus Altenerding, die ebenfalls in das 6. Jahrhundert datieren, und möglicherweise auch einige der nicht-datierbaren Gräber Opfer der Justinianischen Pest beinhalten, auch wenn ein molekularer Nachweis hier nicht möglich war.

In Altenerding kommen Verwandtschaften in Mehrfachbestattungen sowohl im Zeitraum, für den die Pest nachgewiesen ist, vor als auch außerhalb desselben und in nicht sicher datierbaren Gräbern (Tabelle 72). Im Fall der Gräber aus dem Pestzeitraum sind etwa 30 % der Individuen, die gemeinsam in einem Grab bestattet werden, nicht verwandt. Werden die Nachbestattungen AE 468/ AE 469 und AE 1223/ AE 1241 wegen der fraglichen Gleichzeitigkeit der Individuen und der Möglichkeit einer zufälligen Überschneidung der Gräber nicht in die Betrachtung mit einbezogen, liegen innerhalb des Zeitraums, für den die Pest bisher nachgewiesen ist, nur Bestattungen von verwandten Individuen vor.

Ein anderes Bild zeigt sich in Aschheim, von wo allerdings ausschließlich Mehrfachbestattungen mit einem nachgewiesenen Pesthintergrund (HARBECK ET AL., 2013, WAGNER ET AL., 2014) untersucht wurden. Während im Dreifachgrab A 119/ A 120/ A 126 eine Verwandtschaft der Individuen wahrscheinlich ist (s.u.), können mit Ausnahme der beiden Kinder A 78 und A 82 innerhalb der Mehrfachgräber keine Verwandtschaften festgestellt werden. Die beiden

möglichen Halbgeschwister-Paarungen (A 56/ A 58 und A 58/ A 59) müssen aufgrund des generell schlechteren DNA-Erhalts in Aschheim und den damit einhergehenden wenigen für Verwandtschaftsanalysen zur Verfügung stehenden Markern fraglich bleiben. Eine trotz der generell schlechten DNA-Erhaltung festgestellte verwandtschaftliche Beziehung zeigt sich in Aschheim hingegen zwischen den beiden großen Mehrfachbestattungen. Bei den Individuen A 56 und A 77 handelt es sich wahrscheinlich um Geschwister. Auch in diesem Fall wird dieser Befund durch den gleichen mitochondrialen Haplotypen unterstützt. Darüber hinaus könnte eine Verwandtschaft zwischen den Individuen A 60 und A 76 bestehen, welche ebenfalls den gleichen mitochondrialen Haplotypen aufweisen. Die schlechte DNA-Erhaltung von A 60 machte eine Einbeziehung der autosomalen Marker in die Analyse jedoch unmöglich. In der Dreifachbestattung liegt ein verwandtschaftliches Verhältnis der Individuen vor, was sowohl durch den gemeinsamen mitochondrialen Haplotypen unterstützt wird als auch durch die Analyse der autosomalen Marker. Der wahrscheinlichste Stammbaum für die Verwandtschaftsbeziehung ist bereits in Abbildung 11 gezeigt. Bei den beiden adulten Frauen handelt es sich wahrscheinlich um Schwestern, die zusammen mit einer Cousine bestattet wurden.

Bei einer weiteren Doppelbestattung aus Aschheim, die nicht Teil dieser Arbeit war, A 166/ A 167, besteht ebenfalls die Vermutung, dass es sich bei den darin Bestatteten um eine Mutter samt Kind handelt (WIECHMANN & GRUPE, 2005).

Vom Fundplatz Aschheim verbleibt somit die Fünffachbestattung als einzige Bestattung ohne verwandtschaftliche Beziehung der darin Bestatteten.

Grundsätzlich kann festgehalten werden, dass auch zu Zeiten der Justinianischen Pest Mehrfachbestattungen mehrheitlich gemeinsame Bestattungen verwandter Individuen waren. Dieser Sachverhalt ist konsistent mit der Feststellung von SCOTT & DUNCAN (2005), dass sich die Infektion innerhalb von Familien oder Haushalten sehr viel einfacher ausbreitete. Außerhalb dieses Zeitraums scheint eine enge Verwandtschaft ebenfalls ein wichtiges Kriterium für eine Mehrfachbestattung zu sein. Somit kann die biologische Verwandtschaft als Hauptgrund für eine Mehrfachbestattung entgegen des Rechts auf eine reguläre Einzelbestattung (LÜDEMANN, 1990, WAHL, 1994) angesehen werden. Hinzu kommt eine gemeinsame Todesursache, welche die Individuen als Schicksalsgemeinschaft charakterisiert (WAHL, 1994) und dazu führen kann, dass auch nicht verwandte Individuen in einem gemeinsamen Grab bestattet wurden. Dieser Sachverhalt trifft zunächst sowohl auf Altenerding als auch Aschheim zu Zeiten der Justinianischen Pest zu. Unterschiede zwischen den beiden Fundplätzen zeigen sich jedoch in der Größe der Mehrfachbestattungen auf beiden Fundplätzen. Während in Altenerding, wie eingangs bereits erwähnt, lediglich 16 Doppelbestattungen zu finden sind, kommen in Aschheim auch jeweils eine Vierfach- und Fünffachbestattung vor. Mit zusätzlich vier Dreifach- und 27 Doppelbestattungen weist Aschheim zudem deutlich mehr Mehrfachbestattungen auf als

Altenerding. Auf beiden Bestattungsplätzen findet sich eine Häufung von Mehrfachbestattungen im 6. Jahrhundert – 21 von 33 sicher datierbaren Mehrfachbestattungen in Aschheim und mindestens 9 von insgesamt 16 in Altenerding fallen in den fraglichen Zeitraum (GUTSMIEDL-SCHÜMANN, 2010, PÄFFGEN, PERSÖNLICHE MITTEILUNG). Da in beiden Nekropolen die frühmittelalterliche Pest nachgewiesen und damit als Ursache für die meisten Mehrfachbestattungen in Frage kommt, stellt sich automatisch die Frage danach, warum in Aschheim so viel mehr Mehrfachbestattungen zu verzeichnen sind, wo doch beide Begräbnisplätze räumlich nahe beieinander liegen.

Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung kann die Besiedlungsdichte in den beiden genannten Regionen liefern. So verweist HAKENBECK (2007) darauf, dass das Gräberfeld von Altenerding erst allmählich durch das Zusammenwachsen mehrerer Bestattungsareale entstanden ist, und geht dabei davon aus, dass die Siedlungen bzw. Höfe oder Hofgemeinschaften, die diese ursprünglichen Areale zur Bestattung nutzten, wohl nur aus je 35 bis 39 Personen bestanden. Dagegen können für Aschheim bereits im 6. Jahrhundert mehrere parallel existierende größere Siedlungen angenommen werden (EULE, 1998). Man könnte daher spekulieren, dass sich im Umfeld einer größeren Siedlung eine größere Nagerpopulation als Kulturfolger etabliert hat, die den Hauptfaktor für einen Massenausbruch der Pest beim Menschen darstellt (GAGE & KOSOY, 2005, KEELING & GILLIGAN, 2000), weil diese das Reservoir für den Erreger darstellen. Somit würden sich in der Anzahl und Größe der angelegten Mehrfachbestattungen zu Zeiten der Justinianischen Pest Unterschiede in der Intensität der Epidemie zwischen den beiden Fundplätzen manifestieren. Für eine mögliche zumindest zeitweise stärkere Ausprägung des Infektionsgeschehens in Aschheim könnte hierbei die Anlage der beiden größeren Bestattungen, in denen Verwandtschaften zwischen Individuen scheinbar weniger berücksichtigt wurden, sprechen. So gehen BIANUCCI & KACKI (2012) davon aus, dass bei einem Pest- oder Epidemieausbruch die Opfer zunächst in Einzelgräbern, mit steigender Mortalität dann auch in Doppel- und später in Mehrfachbestattungen beigesetzt wurden, während die ansonsten üblichen Bestattungsriten beibehalten werden. Hierfür könnte auch die Tatsache sprechen, dass in Doppelbestattungen aus Altenerding und in den „kleineren“ Mehrfachbestattungen (Doppel- und Dreifachbestattungen) aus Aschheim, die bisher untersucht wurden, eine Verwandtschaft nachgewiesen bzw. wahrscheinlich ist, während dies in der Vierfach- und Fünffachbestattung von Aschheim nicht mehr der Fall zu sein scheint. Es wäre also möglich, dass zunächst im Epidemieverlauf biologische Verwandtschaften für die Bestattungen noch berücksichtigt werden konnten, während dies bei steigender Mortalität und damit zunehmender Grabgröße (BIANUCCI & KACKI, 2012) nicht mehr möglich war. Um diese Hypothese weiter zu unterfüttern, müssten jedoch noch mehr der in Aschheim angelegten Doppel- und Dreifachbestattungen hinsichtlich biologischer Verwandtschaft untersucht werden.

Grundsätzlich kommen jedoch auch andere mögliche Ursachen für die Unterschiede zwischen den Gräberfeldern in Frage. Möglicherweise sind auch soziale Unterschiede für die andere Behandlung der Verstorbenen ausschlaggebend. Da die Anlage von Gruben für Mehrfachbestattungen nicht notwendigerweise zu einer Zeitersparnis führen muss, könnte auch eine unterschiedliche gesellschaftliche Stellung der Individuen auf einem der beiden Gräberfelder den Ausschlag für eine Sonderbehandlung in Form von Mehrfachbestattungen gegeben haben. Hierfür sollten jedoch noch einmal die beigabeführenden Gräber auf den Gräberfeldern mit Pestnachweis hinsichtlich möglicher sozialer Unterschiede zwischen Mehrfach- und zeitgleichen Einzelbestattungen untersucht werden. Auch um zu überprüfen, ob Pestopfer grundsätzlich in Mehrfachbestattungen beigesetzt wurden und damit eine Sonderbehandlung bei der Bestattung erfahren haben, müssten zusätzlich zeitgleiche Einzelbestattungen hinsichtlich des Vorkommens von *Y. pestis* untersucht werden. Sollten sich auch hier Individuen finden, die mit dem Erreger infiziert waren, kann ausgeschlossen werden, dass die Justinianische Pest zu einer grundsätzlichen Änderung der Bestattungssitte bzw. Sonderbehandlung der Pesttoten geführt hat. Auf diese Weise könnte auch die an hochmittelalterlichem Material aufgestellte These von BIANUCCI & KACKI (2012) für das Frühmittelalter überprüft werden und gleichzeitig noch die These überprüft werden, nach der Epidemieopfer hauptsächlich wegen der hohen Opferzahlen, wie sie von antiken Geschichtsschreibern wie Prokop auch für die Justinianische Pest berichtet werden (BERGDOLT, 2006, MEIER, 2005), in Mehrfach- oder gar Massengräbern zu erwarten seien (z. B. MCCORMICK, 2016).

Es kann jedoch festgestellt werden, dass die bei LÜDEMANN (1990) angeführten pragmatischen Gründe (Platzmangel, Aufschiebung von Bestattungen wegen schlechter Witterung und anschließender gemeinsamer Bestattung) als Ursachen für Mehrfachbestattungen auszuschließen sind, da ansonsten wesentlich mehr Bestattungen ohne familiären Bezug zu erwarten gewesen wären. Der familiäre Grund scheint eines der Hauptkriterien für Mehrfachbestattungen zu sein.

### **5.5.2 Männermehrfachbestattungen – Opfer des frühmittelalterlichen Fehdewesens?**

Bei den frühmittelalterlichen Männermehrfachbestattungen oder Kriegerbestattungen handelt es sich um die gleichzeitige Deponierung mehrerer Männer in Waffenausstattung in einem gemeinsamen Grab, die in der Literatur häufig diskutiert sind (z.B. MENNINGER ET AL., 2004, SCHNEIDER, 2008, STEUER, 2008).

Für die beiden gemeinsam bestatteten Männer aus Altenerding kann ein verwandtschaftliches Verhältnis festgestellt werden. Es handelt sich bei den beiden am wahrscheinlichsten (LR: 162,42, PP: 0,830) um Vater und Sohn. Bei der Dreifachbestattung aus Oberschneiding war der DNA-Erhalt zu schlecht, um Y-chromosomale oder autosomale STRs amplifizieren zu können. Anhand der mitochondrialen DNA ergeben sich bei den dort bestatteten Männern keine Hinweise auf eine Verwandtschaft in einer mütterlichen Linie, da alle drei unterschiedliche mitochondriale Haplotypen aufweisen. Das gleiche Bild ergibt sich für den Fundplatz Ergolding, für den im Rahmen dieser Arbeit die Sequenz der mitochondrialen HVR I repliziert wurde (Tabelle 48, ROTT & HARBECK, 2014). Auch in diesem Fall konnten keine verwandtschaftlichen Beziehungen in einer mütterlichen Linie festgestellt werden. Dennoch bestehen an diesem Fundplatz mögliche Bezüge der untersuchten Dreifachbestattung zu einer weiteren Sechsfachbestattung von Männern auf dem gleichen Gräberfeld (ROTT & HARBECK, 2014, VANEK ET AL., 2009). So sind in beiden Mehrfachbestattungen Individuen mit dem gleichen Y-chromosomalen Haplotypen zu finden. Die Bestattungen aus Herrsching, HE 9 und HE 10, werden von STEUER (2008) ebenfalls zu den Kriegerbestattungen gerechnet. Hier zeichnet sich eine verwandtschaftliche Beziehung zwischen vier bestatteten Männern ab, die mehrere Generationen einer Familie umfasst (siehe 5.5.3.1).

Das vorrangig im 7. Jahrhundert auftretende Phänomen der Bestattung mehrerer Männer in einem gemeinsamen Grab hat die Aufmerksamkeit der Forschung auf sich gezogen, weil diese Sitte zu der Zeit relativ weit im Untersuchungsgebiet verbreitet ist (eine Zusammenfassung aller Fundplätze, die derartige Bestattungen aufweisen, findet sich in SCHNEIDER, 2008). Die Gründe dafür werden wohl am häufigsten im Zusammenhang mit dem frühmittelalterlichen Fehdewesen vermutet (HAAS-GEBHARD, 2013, SCHNEIDER, 2008, STEUER, 2008). Dabei handelt es sich um ein System der Selbstjustiz bzw. Blutrache, welches dazu geführt hat, dass ganze Familien miteinander verfeindet und in der Folge auch in kriegerische Auseinandersetzungen miteinander verwickelt waren. Die gemeinsam bestatteten Männer werden in diesem Zusammenhang als Opfer solcher Fehden gesehen. Aufgrund dieser Vermutungen wurde stets angenommen, dass die Männer miteinander verwandt sein könnten. Häufig finden sich in den Kriegerbestattungen Individuen, die perimortale oder letale Verletzungen am Skelett aufweisen (SCHNEIDER, 2008, WAHL ET AL., 2014), wie etwa auch im Fall der Altenerdinger Männer, oder andere Hinweise auf einen gewaltsamen Tod der Verstorbenen zeigen (LEHMANN, 2014).

Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zu den Verwandtschaftsverhältnissen reihen sich in bereits publizierte Befunde ein. So konnten bei den Kriegerbestattungen bereits Verwandtschaften bestätigt (VANEK ET AL., 2009), aber auch Verwandtschaften – zumindest mütterlicherseits – ausgeschlossen werden (WAHL ET AL., 2014). Das Zustandekommen dieser Art von Bestattungen kann daher nicht allein in einer Verwandtschaft der Individuen gründen, wodurch sich zumindest ausschließen lässt, dass es sich bei diesen Bestattungen um Grablegen

rein biologischer Familien handelt. Dennoch passen sie in das Bild von Bestattungen, die durch das Fehdewesen zu erwarten wären. Zwar betrafen diese Fehden vermutlich ganze Familien (STEUER, 2008), doch wie bereits unter 5.5.1.1 erwähnt, bestand die frühmittelalterliche *familia* nicht nur aus der Kernfamilie sondern auch aus Freunden und Hofangehörigen (STEUER, 1989), die somit ebenfalls an der Fehde beteiligt waren. Da viele der Männer in Kriegerbestattungen tödliche Verletzungen aufweisen (Zusammenfassung bei SCHNEIDER, 2008), ist davon auszugehen, dass es sich bei diesen Bestattungen um das Begräbnis einer Schicksalsgemeinschaft handelt (WAHL, 1994). In diesen dürften somit alle Individuen einer Fehdepartei, die an einem Kampfgeschehen beteiligt waren und tödlich verletzt wurden, vertreten sein. Damit wären in Bestattungen von Fehdeopfern nicht zwingend bzw. nicht ausschließlich genetisch miteinander verwandte Individuen zu erwarten, womit ein eindeutiger Nachweis für oder gegen einen solchen Befund nicht geführt werden kann. Allerdings würde dies die Heterogenität der Ergebnisse der bisherigen genetischen Untersuchungen erklären. Dies zusammengenommen mit den häufig nachgewiesenen perimortalen oder gar tödlichen Verletzungen, wie sie beispielsweise auch bei den beiden Männern aus Altenerding festgestellt werden konnten (SAGE, 1984), und dem mittleren durchschnittlichen Alter der Männer in Kriegerbestattungen (SCHNEIDER, 2008) ist sicherlich als Indiz dafür zu werten, dass hier zumindest Individuen bestattet wurden, die wie auch immer gearteten Kampfhandlungen zum Opfer gefallen sind und aufgrund des gemeinsamen Todes auch gemeinsam bestattet wurden. Auch die Tatsache, dass sowohl in Ergolding als auch in Herrsching verwandtschaftliche Beziehungen jeweils zwischen zwei solcher Kriegerbestattungen bestehen, würde in das Bild des Fehdewesens passen. Da sich diese Fehden mutmaßlich über mehrere Generationen zogen (KOCH, 2014), können in den Bestattungen Mitglieder einer einzigen Fehdepartei repräsentiert sein, die unterschiedlichen Kämpfen zum Opfer gefallen sind.

Hier müssen weitere Studien an den noch zahlreichen (Zusammenfassung wiederum bei SCHNEIDER, 2008) nicht hinsichtlich Verwandtschaft untersuchten Kriegerbestattungen zeigen, ob sich ein klareres Bild für diese Art der Bestattung ergibt oder ob die Heterogenität in Bezug auf die Verwandtschaft der Individuen die Regel ist. Momentan spricht jedoch auch von genetischer Seite nichts gegen die Interpretation von STEUER (2008) dieser Gräber als Hinweise auf das frühmittelalterliche Fehdewesen, wenngleich ein ähnliches Muster bei Gefallenen aus staatlich organisierten kriegerischen Auseinandersetzungen (z. B. EICHERT, 2016) ebenfalls erwartet werden kann.

### 5.5.3 Frühmittelalterliche Tuffplattengräber als Familiengrablegen?

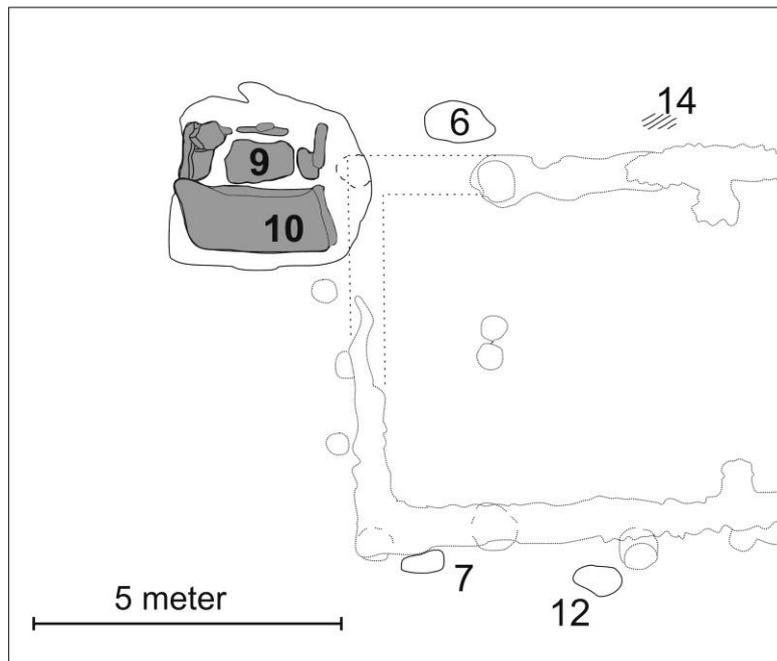
Wie bereits eingangs erwähnt, wurden die im 7. Jahrhundert aufkommenden Tuffplattengräber als mögliche Grablegen sich etablierender „Adelsfamilien“ interpretiert, die sich mit dieser Art der Bestattung von der restlichen Bevölkerung abgrenzen wollten (BURZLER, 2000, SCHOLZ, 2002).

Der Nachweis einer möglichen Verwandtschaft gestaltete sich bei diesen Gräbern schwieriger als bei den anderen zuvor genannten Gräbern. Im Gegensatz zu den echten Mehrfachbestattungen, bei denen eine Gleichzeitigkeit der Niederlegung angenommen werden kann (LÜDEMANN, 1990), sind die Tuffplattengräber über einen längeren, meist nicht genau bekannten Zeitraum belegt worden (SCHOLZ, 2002). Die Bestattung der Individuen erfolgte also nicht zeitgleich. Dies hat zur Folge, dass familiäre Beziehungen zwischen zwei Individuen in den Analysen unter Umständen nicht mehr richtig erkannt werden können, wenn bereits mehrere Generationen zwischen ihnen liegen. Die hier untersuchten einzelnen Individuen wurden innerhalb der Mehrfachbestattungen jeweils bis zu einem Verwandtschaftskoeffizienten von 0,125 (bspw. Cousins) gegeneinander getestet. Weiter entfernte Verwandtschaften wurden nicht getestet, da die Wahrscheinlichkeit für eine sehr entfernte Verwandtschaft gerade bei kleineren Populationen mit kleiner werdendem Verwandtschaftskoeffizienten zunehmend größer wird und damit nicht aussagekräftig ist. Um also Artefakte, die eher im Zusammenhang mit einer beschränkten Populationsgröße als mit einer engen Verwandtschaft im Sinne einer Kernfamilie stehen, auszuschließen, wurden solch weit entfernte verwandtschaftliche Beziehungen nicht berücksichtigt.

Bei allen hier untersuchten Tuffplattengräbern konnten verwandtschaftliche Beziehungen festgestellt werden, auf die im Folgenden eingegangen werden soll.

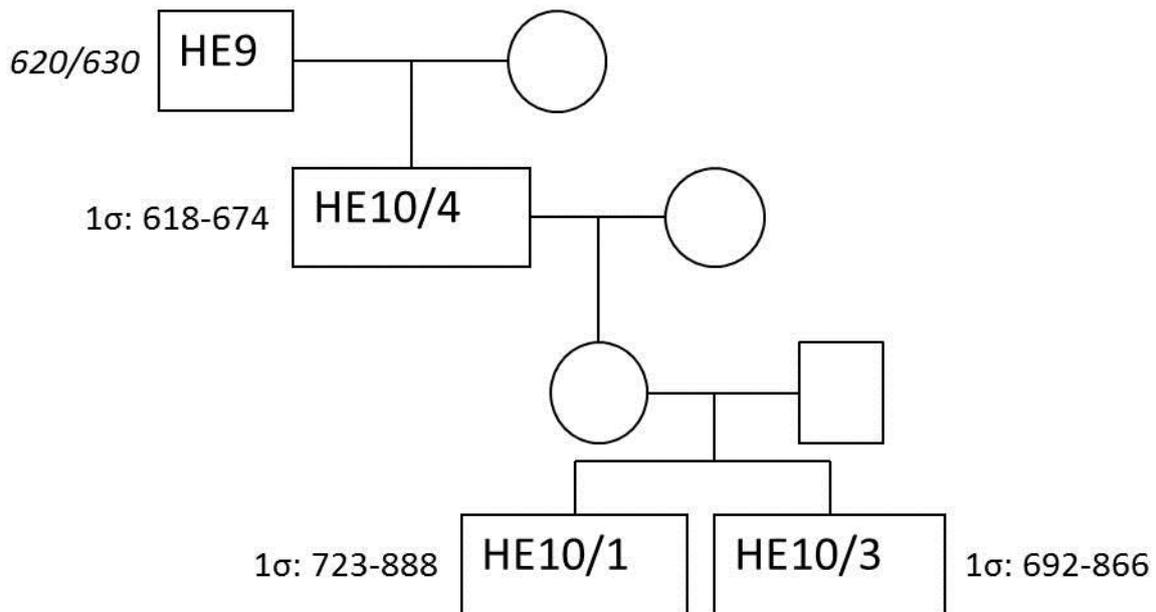
#### 5.5.3.1 Herrsching am Ammersee

Im Fall von Herrsching deuteten sich anhand identischer Y-chromosomaler Haplotypen bereits Verwandtschaften zwischen den Individuen HE 9 und HE 10/4 sowie zwischen HE 10/1 und HE 10/3 an (Abbildung 22; TURNER, 2015, DIESE ARBEIT). Wie mittels chromosomaler DNA in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, handelt es sich bei den ersten beiden um Vater und Sohn und bei den letztgenannten vermutlich um Geschwister. Dieser Befund stellte eine Überraschung dar, da eine Verwandtschaft zwischen den verschiedenen Tuffplattengräbern zunächst nicht unmittelbar erwartet wurde, da es nach KELLER (1995) möglich scheint, dass auf diesem Gräberfeld mehrere unterschiedliche Gruppen ihre Toten bestattet haben könnten.



**Abbildung 22 | Ausschnitt aus dem Gräberfeldplan von Herrsching am Ammersee.** Gezeigt sind das vermutete Gründergrab 9 und das direkt daran angrenzende Mehrfachgrab 10. Beide liegen direkt an der Außenmauer der vermuteten Kirche. Abbildung verändert nach KELLER (1995).

Wenngleich sich in den Y-chromosomalen Haplotypen zwischen den beiden Individuenpaaren zu viele Unterschiede zeigten, die eine Verwandtschaft über eine männliche Linie noch erlauben würden (KAYSER & SAJANTILA, 2001), wurden mögliche Verwandtschaften über eine weibliche Linie zwischen HE 10/4 und dem Geschwisterpaar HE 10/1 und HE 10/3 ebenfalls getestet. Zwischen diesen ist eine Großvater (HE 10/4)-Enkel (HE 10/1 & HE 10/3)-Beziehung wahrscheinlich (Tabelle A 48 im Anhang). Diese möglichen Verwandtschaftsbeziehungen wurden anschließend genutzt, um Stammbäume, die vier Generationen umfassen (Abbildung A 2 im Anhang), zu konstruieren und gegen die Nullhypothese zu testen. Der wahrscheinlichste Stammbaum (LR: 100,13, PP: 0,579) ist in Abbildung 23 dargestellt.

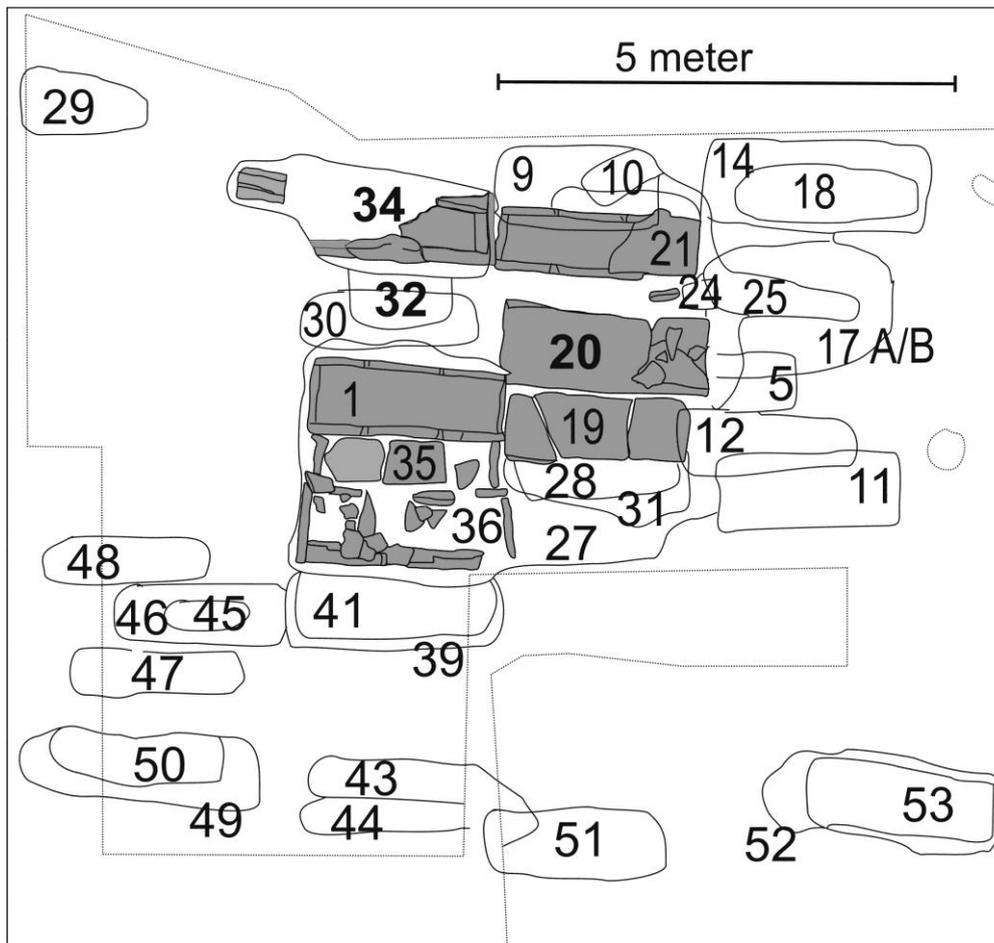


**Abbildung 23 | Wahrscheinlicher Stammbaum für die verwandtschaftliche Beziehung der Individuen aus Herrsching a. Ammersee.** Der sich über vier Generationen erstreckende Stammbaum für die Individuen aus Herrsching a. Ammersee war der wahrscheinlichere der beiden getesteten Stammbäume (LR: 100,13, PP: 0,579). Rechtecke symbolisieren Männer, Kreise symbolisieren Frauen. Zusätzlich sind die Datierungen ( $1\sigma$ ) der Individuen angegeben. Die Datierung von HE9 basiert auf archäologischen Funden (KELLER, 1995).

Die zeitlich etwas frühere Datierung von HE 9 im Vergleich zur Bestattung HE 10 würde diesem Stammbaum nicht widersprechen (HABERSTROH, 2014). Generationslücken im Stammbaum könnten durch andere Bestattete aus Herrsching Grab 10 besetzt werden, von denen aufgrund des morphologischen Erhalts keine geeigneten Proben entnommen und daher auch keine DNA-Profile gewonnen werden konnten. Damit kann für die Separatgrablege von Herrsching eine Familie nachgewiesen werden, die über mehrere Generationen an diesem Ort in unterschiedlichen Tuffplattengräbern bestattet hat. Es könnte sich hierbei also, wie von KELLER (1995) vorgeschlagen, durchaus um einen Patriarchen, der im Gründergrab 9 bestattet wurde, und seine Nachfolgenerationen einer höhergestellten Familie handeln. Die ebenfalls aufgebrachte Annahme, dass es möglich sei, mit den Bestattungen aus Herrsching Angehörige einer der führenden bajuwarischen Adelsfamilien, den Huosi, vorliegen zu haben (KELLER, 1995), kann mit Hilfe der hier durchgeführten DNA-Analysen derzeit weder widerlegt noch unterstützt werden.

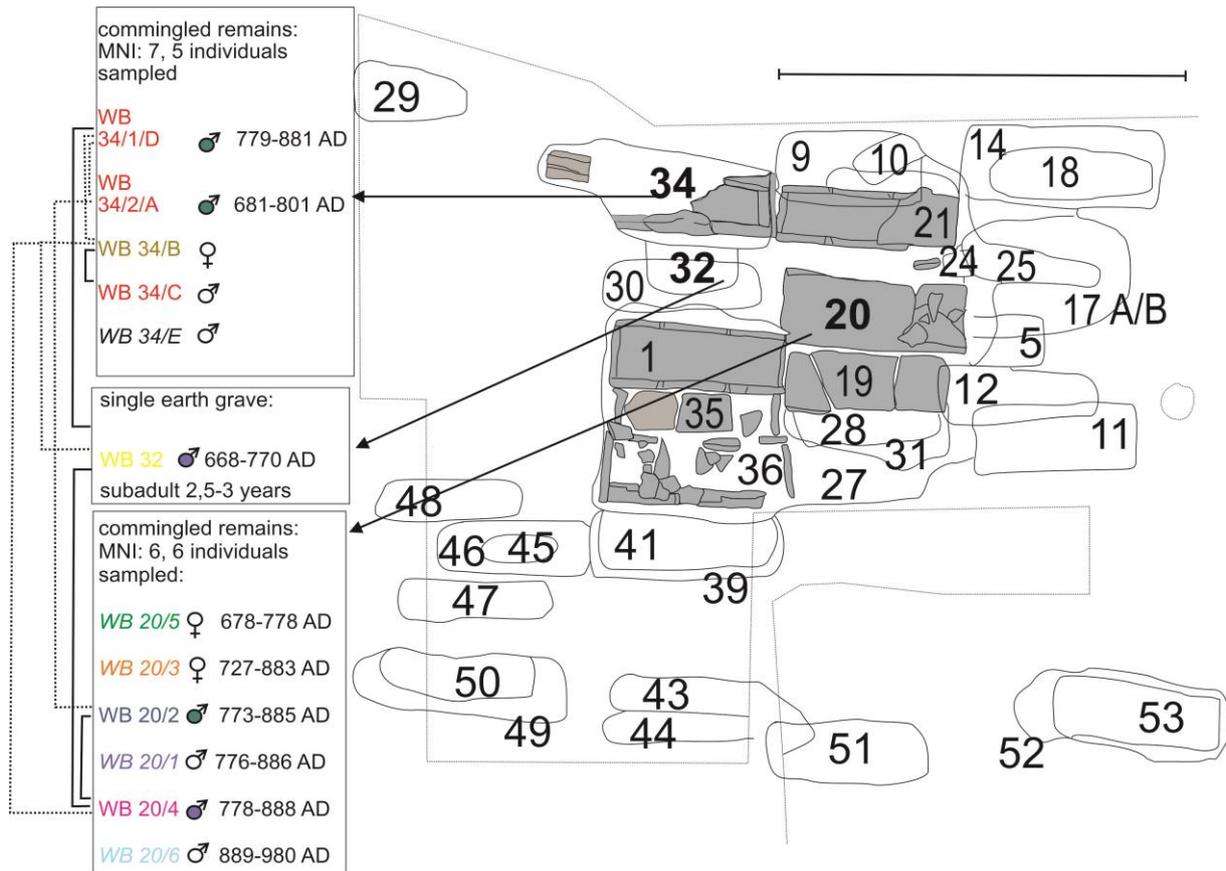
### 5.5.3.2 Wielenbach

Auf dem Gräberfeld von Wielenbach konnten mehrere Tuffplattengräber in direkter Nachbarschaft zueinander geborgen werden (Abbildung 24). Bereits DANNHEIMER (1987) vermutete anhand der Struktur des Gräberfeldes, dass es sich hier um den Bestattungsplatz einer Adelsfamilie bzw. eines Herrenhofes handeln könnte.



**Abbildung 24 | Ausschnitt aus dem Gräberfeldplan von Wielenbach.** Die in dieser Arbeit untersuchten Bestattungen 20, 32 und 34 sind durch Fettdruck hervorgehoben. Insgesamt befinden sich auf dem Gräberfeld sieben Tuffsteingräber, die in unmittelbarer Nähe zueinander liegen (grau eingefärbte Gräber). Die Abbildung wurde verändert nach DANNHEIMER (1974).

Alle Individuen wurden, soweit die DNA-Erhaltung dies erlaubte, bezüglich einer möglichen Verwandtschaft sowohl innerhalb als auch zwischen den beiden untersuchten Tuffplattengräbern sowie der daran angrenzenden Einzelbestattung eines reich ausgestatteten Kindes getestet. Aufgrund der Ergebnisse dieser Analyse scheint eine familiäre Beziehung der meisten untersuchten Individuen möglich, auch wenn die Wahrscheinlichkeiten, wie im Fall von Altenerding, häufig nur gering sind und daher eher als Tendenzen zu interpretieren sind. Abbildung 25 gibt eine Übersicht über die mögliche verwandtschaftliche Verflechtung der beiden untersuchten Tuffplattengräber.



**Abbildung 25 | Übersicht über die möglichen Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb und zwischen den Gräbern 20, 32 und 34 von Wielenbach.** Durchgezogene Linien symbolisieren Verwandtschaften mit einem Koeffizienten von 0,25, gestrichelte Linien von 0,125. Bezüge bestehen sowohl zwischen beiden Tuffplattengräbern (WB 20 und WB 34) als auch zwischen den beiden Tuffplattengräbern und der Einzelbestattung WB 32. Gleichfarbig ausgefüllte Geschlechtssymbole zeigen gleiche Y-chromosomale Haplotypen an, die Farbe der Bestattungsnamen symbolisiert den mitochondrialen Haplotypen (TURNER, 2015, DIESE ARBEIT). Bei den Individuen, wo eine Zuordnung möglich war, sind ebenfalls die entsprechenden Datierungen (1σ) angegeben. Die Individuen WB 34/C1 und WB 34/C2 sind in dieser Abbildung als WB 34/C und WB 34/E bezeichnet. Abbildung aus ROTT ET AL. (2017).

Wie bereits im Ergebnisteil erwähnt, konnte bei den beiden Individuen WB 34/2 (Zahnprobe) und WB 34/A (Felsenbeinprobe) eine absolute Übereinstimmung der STR-Profile festgestellt werden, sodass es sich dabei um Proben desselben Individuums handelt, welches nun unter WB 34/A geführt wird. Weiterhin ergaben sich viele Übereinstimmungen zwischen den STR-Profilen WB 34/1 (Zahnprobe) und WB 34/D (Felsenbeinprobe). Auch hier besteht die Möglichkeit, dass es sich um Proben desselben Individuums handelt. Aufgrund des lückenhaften Profils von WB 34/1 kann dies jedoch nicht endgültig bestätigt werden. Daher wurde WB 34/1 von den weiteren Untersuchungen ausgeklammert. Im Falle einer Nicht-Identität der beiden Proben, stammen diese wahrscheinlich von einem Brüderpaar (Tabelle A 74 im Anhang).

Wie Abbildung 25 zu entnehmen ist, sind mit Ausnahme des Individuums WB34/C2 (in der Abbildung als WB 34/E bezeichnet) alle Bestatteten miteinander verwandt, auch wenn mit Verwandtschaftskoeffizienten zwischen 0,25 und 0,125 keine besonders engen Beziehungen zu bestehen scheinen. Der Grund dürfte darin zu suchen sein, dass die Tuffplattengräber über mehrere Generationen genutzt wurden. So deuten auch die aus den Bestattungen erhobenen <sup>14</sup>C-

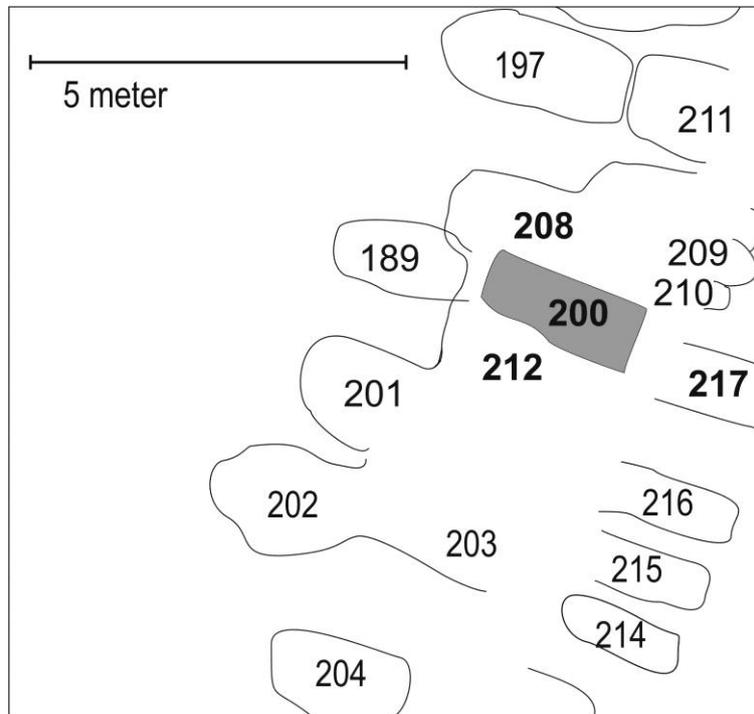
Daten (HABERSTROH, 2014) an, dass die Tuffplattengräber in Wielenbach durchaus über 100 Jahre genutzt worden sein könnten. Da sich verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den beiden untersuchten Tuffplattengräbern abzeichnen, besteht die Möglichkeit, dass sich auch verwandtschaftliche Überschneidungen mit den restlichen Tuffplattengräbern aus Wielenbach ergeben, weil sich diese alle in einem Teil des Gräberfeldes sehr nahe beieinander befinden (DANNHEIMER, 1974, 1987).

Jedoch zeichnet sich bereits ab, dass es sich bei den beiden hier untersuchten Tuffplattengräbern um den Bestattungsort einer Familie handelt. Dabei scheint nicht zu gelten, dass eine Familie nur ein einziges Tuffplattengrab belegt hat, sondern dass von einer Familie mehrere Tuffplattengräber in Anspruch genommen wurden, da sonst engere familiäre Verhältnisse wie beispielsweise in Herrsching (5.5.3.1) zu erwarten wären. Die nicht allzu nahe Verwandtschaft der Individuen untereinander kann dabei eine Folge der langen Belegungszeit der Tuffplattengräber sein, da es sehr wahrscheinlich ist, dass in diesen Gräbern mehrere Generationen einer Familie repräsentiert sind, aber aufgrund des Ossuarcharakters dieser Bestattungen nicht aus allen Generationen Individuen für eine Untersuchung zur Verfügung standen. Unter Umständen ließen sich zusätzliche verwandte Individuen in den fünf weiteren Tuffplattengräbern aus Wielenbach (DANNHEIMER, 1974, 1987) finden, die geeignet wären, die Generationslücken zwischen den hier untersuchten Bestattungen aufzufüllen. Wegen der langen Belegungsdauer und des bereits erwähnten Ossuarcharakters der Gräber kann über eine Belegungsreihenfolge nur spekuliert werden. BURZLER (2000) weist ebenfalls darauf hin, dass in den Grablagen nicht unbedingt Individuen jeder Generation repräsentiert sein müssen. Da anzunehmen ist, dass die einflussreichen Familien einen sogenannten Streubesitz hatten, also Besitz in unterschiedlichen Regionen des bajuwarischen Gebietes, und sehr mobil waren, können weitere Verwandte durchaus auch in anderen Gräberfeldern erwartet werden. Eine solche Hypothese könnte überprüft werden, wenn Theorien über die Verteilung des Streubesitzes einer Familie existieren. Im Fall von Herrsching, den möglichen Angehörigen der Huosi, über deren Einflussgebiet Theorien bestehen (SCHOLZ, 2002), könnten somit Individuen aus Separatgrablagen aus anderen möglichen Besitzungen der Familie hinsichtlich einer Verwandtschaft zu den Herrschinger Individuen untersucht werden.

Die Möglichkeit, dass es sich bei den entfernten Verwandtschaften um einen generellen Verwandtschaftsgrad aller Individuen einer kleinen Population handelt, ist in diesem Fall auszuschließen, da zwischen einigen ein klarer Verwandtschaftsausschluss festgestellt werden kann und auch das Individuum WB 34/C2 keine verwandtschaftlichen Beziehungen zu einem der anderen erfolgreich untersuchten Individuen aufweist.

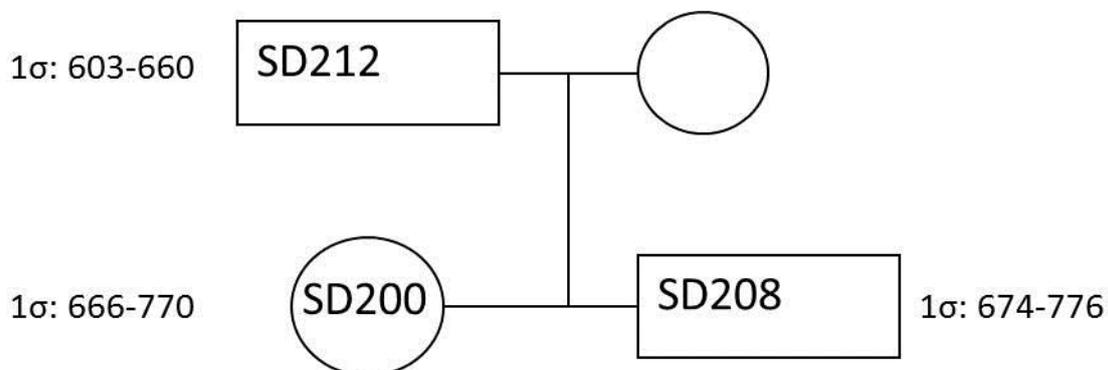
### 5.5.3.3 Sindelsdorf

Bei den Bestattungen aus Sindelsdorf hat sich gezeigt, dass die südlich und nördlich des Tuffplattengrabs bestatteten Männer in einer familiären Beziehung zur Toten im Tuffplattengrab (SD 200) stehen (Abbildung 26).



**Abbildung 26 | Ausschnitt aus dem Gräberfeldplan von Sindelsdorf.** Die in dieser Arbeit untersuchten Bestattungen sind durch Fettdruck markiert. Die Tuffplattenbestattung ist grau hinterlegt. Es besteht eine Verwandtschaft zwischen den Individuen SD 200, SD 208 und SD 212. Abbildung verändert nach MENKE & MENKE (2013).

Es handelt sich dabei um den Vater (SD 212) und Bruder (SD 208) der Frau im Tuffplattengrab. Ein gegen die Nullhypothese getesteter Stammbaum, bestätigt diese Vermutung sehr eindrucksvoll (LR: 1.344.019,56, PP: 0,999) und ist in Abbildung 27 dargestellt.



**Abbildung 27 | Stammbaum der Beziehungen des Individuums aus dem Sindelsdorfer Tuffplattengrab zu den benachbarten Bestattungen.** An die Bestattung der Frau im Tuffplattengrab (SD 200) grenzen nördlich die Bestattung des Bruders (SD 208) und südlich die Bestattung des Vaters (SD 212) an. LR: 1.344.019,56, PP: 0,999. Kreise symbolisieren Frauen, Rechtecke symbolisieren Männer. Ebenfalls angegeben sind die Datierungen (1σ) der Individuen.

Die erzielte hohe Wahrscheinlichkeit entspricht dabei einer Aussagekraft, wie sie in modernen Untersuchungen verwandtschaftlicher Verhältnisse üblicherweise erreicht wird.

Das männliche Individuum in der östlich an das Tuffplattengrab grenzenden Bestattung (SD 217) weist keine verwandtschaftliche Beziehung zu einer der anderen untersuchten Bestattungen auf.

Die nachgewiesene Verwandtschaft zwischen den Individuen war in dieser Form überraschend, da der Fundplatz Sindelsdorf eigentlich als „Negativkontrolle“ in die Untersuchung mit eingegangen war. Wie Abbildung 26 zu entnehmen ist, handelt es sich dabei um ein einzelnes Tuffplattengrab inmitten eines Reihengräberfeldes (MENKE & MENKE, 2013). Die Hypothese war daher, dass es sich dabei um ein einzelnes, reiches Individuum handelt, welches in einem Tuffsteingrab an zufälliger Stelle auf dem Gräberfeld beigesetzt wurde und keine verwandtschaftlichen Beziehungen zu den umliegenden Bestattungen aufweist. Wie gezeigt werden konnte, muss diese Hypothese verworfen werden. Es stellt sich im Gegenteil heraus, dass die Bestattungen auf den Reihengräberfeldern in einer bestimmten Weise gruppiert sein könnten. In diesem Zusammenhang steht eine Vermutung von MENKE & MENKE (2013), die auch auf mögliche intendierte Gruppierungen in anderen Bereichen desselben Gräberfeldes hinweisen. Ähnliches könnte auch auf das Reihengräberfeld von Altenerding zutreffen. HAKENBECK (2007) postuliert eine mögliche Entstehung des Gesamtgräberfeldes von Altenerding aus mehreren kleineren Bestattungsgruppen. Es besteht also die Möglichkeit, dass die Reihengräberfelder eine Binnenstruktur aufweisen, die im Zusammenhang mit unterschiedlichen Bestattungsgruppen bzw. bestattenden Familiengruppen oder Hofgemeinschaften steht.

#### 5.5.3.4 Tuffplattengräber als Adelsbegräbnisse?

Es können für alle in dieser Arbeit untersuchten Tuffplattengräber familiäre Beziehungen sowohl innerhalb eines Grabes (Herrsching, Wielenbach) als auch zwischen unterschiedlichen Gräbern (Herrsching, Wielenbach, Sindelsdorf) festgestellt werden. Hierbei zeigen sich Parallelen zu Sarkophagbestattungen einer kleinen Nekropole (Jau Dignac et Loirac) des 7./8. Jahrhunderts aus Westfrankreich, in denen sich ebenfalls familiäre Beziehungen abzeichnen (DEGUILLOUX ET AL., 2014). Aufgrund der schlechteren DNA-Erhaltung der dort untersuchten Proben liegen zwar nur Ergebnisse der mitochondrialen HVR I vor, jedoch könnte zwischen den Individuen ohne mitochondriale Übereinstimmung ebenfalls ein entfernteres verwandtschaftliches Verhältnis vorliegen, was sich auch im Fall von Wielenbach abzeichnet. Weiterhin geben die Autoren zu bedenken, dass im Fall der Tuffplattengräber durchaus damit zu rechnen sei, dass Angehörige der *familia* (STEUER, 1989) ebenfalls in Sarkophagen bestattet worden sein könnten (DEGUILLOUX ET AL., 2014). BURZLER (2000) geht davon aus, dass sich in den

Tuffplattengräbern erste Strukturen eines „Adels“ im Frühmittelalter zeigen, wobei sie sich explizit auf separate Grablegen, wie im Falle von Herrsching am Ammersee, bezieht. Dagegen befinden sich die übrigen hier untersuchten Tuffplattengräber inmitten der regulären Gräberfelder (DANNHEIMER 1987, MENKE & MENKE, 2013).

Grundsätzlich kann bei diesen Bestattungen angenommen werden, dass es sich um die Begräbnisse von sozial höher gestellten Persönlichkeiten in der Gemeinschaft handelt, worauf der aufwendige Grabbau und die teils reiche Ausstattung der Verstorbenen hindeuten (SCHOLZ, 2002). Mit den hier generierten Ergebnissen kann untermauert werden, dass es sich bei den Mehrfachbestattungen in Tuffplattengräbern tatsächlich um Begräbnisstätten einzelner Familien oder Familienverbände gehandelt hat. Somit kann ausgeschlossen werden, dass in derartigen Tuffplattengräbern bestimmte Würdenträger, unabhängig von ihren verwandtschaftlichen Beziehungen, gemeinsam bestattet wurden. Die Frage, ob es sich bei diesen Individuen um die Angehörigen eines frühen „Adels“ auf bajuwarischem Gebiet handelt, kann alleine mit den hier durchgeführten Untersuchungen nicht beantwortet werden. Dennoch lassen die Verwandtschaftsbeziehungen der Individuen aus den Tuffplattengräbern bereits eine mögliche Erblichkeit der sozialen Stellung erkennen.

Bei Bestattungen von Angehörigen eines bereits „echten Adels“, wie er aus dem späteren Mittelalter bekannt ist, würde man sicherlich erwarten, dass in den Tuffplattengräbern weit mehr eng miteinander verwandte Personen zu finden wären und nicht alle Angehörigen der *familia* (STEUER, 1989) zur Bestattung in den Tuffplattengräbern berechtigt sind. Dennoch müssen einzelne, nicht mit den anderen verwandte Personen den Befund einer Kernfamilie nicht stören. So ist zu erwarten, dass durch Heirat unverwandte Personen in den bestehenden Verband aufgenommen und daher auch zur Kernfamilie gerechnet werden, was diese wiederum berechtigt, ebenfalls im Familiengrab bestattet zu werden. Gerade im Fall von Wielenbach könnte auch die Struktur des Gräberfeldes (DANNHEIMER, 1974, 1987) - die Tuffplattengräber liegen hier direkt neben den sonst für Reihengräberfelder üblichen Erdeinzelbestattungen - dafür sprechen, dass hier die Angehörigen der höher gestellten Kernfamilie in den Tuffplattengräbern bestattet wurden. Hierauf deuten die verwandtschaftlichen Verbindungen zwischen den beiden untersuchten Gräbern hin. Der Rest der zum Haus gehörigen *familia* ist möglicherweise in den umliegenden Erdbestattungen repräsentiert.

Möglich ist auch, dass in der unterschiedlichen Lage der Tuffsteingräber verschiedene Stufen einer „Adelsbildung“ repräsentiert sind. So könnten die in den Reihengräberfeldern liegenden Tuffsteingräber, die als Einzel- (Sindelsdorf) und Mehrfachbestattungen (Wielenbach) auftreten, Vorstufen zum „Adel“ darstellen, bei denen sich einzelne Familien durch die Art der Bestattung von der übrigen Bevölkerung abheben wollten, bevor sie sich schließlich als „vollendeter Adel“ auf Separatgrablegen vollständig von der restlichen Bevölkerung abgrenzen (Herrsching).

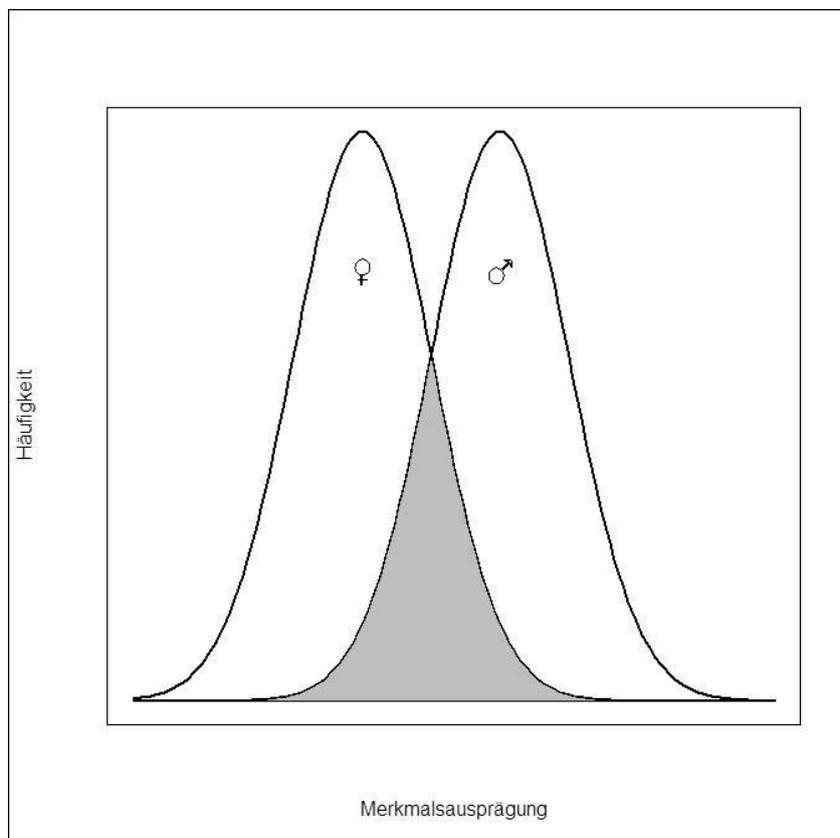
Es spricht im Fall der Tuffplattengräber aus genetischer Sicht nichts gegen die ursprüngliche Ansprache dieser Bestattungen als mögliche Bestattungsorte eines sich herauskristallisierenden „Adels“ (BURZLER, 2000, DANNHEIMER, 1987, SCHOLZ, 2002). AMENT (1970) sieht in der Erblichkeit der Grablege und damit des Standes eines der Hauptkriterien für die Definition eines „echten Adels“. Der genetische Nachweis einer Verwandtschaft für sich stellt zwar lediglich einen weiteren Baustein im Gesamtbild des frühmittelalterlichen „Adels“ dar. Zusammen mit den archäologischen Erkenntnissen über den Grabbau und die allmähliche Separierung derartiger Begräbnisse von den übrigen, „normalen“ Bestattungen ergibt sich jedoch ein Bild, das die Entstehung eines „Adels“ im Frühmittelalter durchaus zulässt.

## **5.6 ERGEBNISSE DER GENETISCHEN GESCHLECHTSBESTIMMUNGEN – BEITRAG DER DNA-ANALYSE ZU FRÜHMITTELALTERLICHEN FRAUEN IN WAFFEN**

Die erneute Geschlechtsbestimmung frühmittelalterlicher Frauen in Waffen, welche in der Literatur häufig auch unter dem Stichwort „Amazonen“ für Aufsehen sorgen, hat gezeigt, dass es dieses Phänomen im Frühmittelalter nicht gegeben hat (IMMLER, 2013; GÄRTNER ET AL., 2014). Bereits durch eine morphologische Begutachtung mit einem erweiterten Methodenkatalog konnte die Anzahl der Fälle mit widersprüchlichem archäologischem und anthropologischem Befund auf drei reduziert werden (IMMLER, 2013). In einem weiteren Fall konnte diese Diskrepanz durch die molekulargenetische Analyse ausgeräumt werden, womit nur noch zwei Fälle mit widersprüchlicher archäologischer und anthropologisch-genetischer Geschlechtsansprache verblieben. In beiden Fällen handelte es sich um Männer, die mit Grabbeigaben aus der weiblichen Sphäre bestattet wurden (IMMLER, 2013, GÄRTNER ET AL., 2014), wobei jedoch unklar bleiben muss, wie aussagekräftig die Grabinventare tatsächlich sind, da eines der Gräber womöglich beraubt wurde und die „weiblichen“ Perlen in dem anderen Grab vermutlich nur deponiert und somit vom Bestatteten wohl nicht getragen wurden (GÄRTNER ET AL., 2014). Die Befunde dieser Untersuchung reihen sich damit in die Ergebnisse ein, die auch auf anderen Gräberfeldern erzielt werden konnten. So zeigte sich auch bei einer Neuuntersuchung der „Amazone von Niederstotzingen“, welche die erste frühmittelalterliche, sogenannte „Amazone“ war (ZELLER, 2000), dass es sich auch hierbei zweifelsfrei um einen Mann gehandelt hat (WAHL ET AL., 2014).

Dennoch wird es auch zukünftig immer wieder Fälle geben, in denen die archäologische und anthropologische Begutachtung zu unterschiedlichen Geschlechtsbestimmungen kommen. Auf Seiten der anthropologischen Befundung liegt dies an der Verteilung der Merkmale. Da es sich hierbei um kontinuierlich verteilte und nicht um diskrete Merkmale handelt, können Unterschiede zwischen den Geschlechtern zwar festgestellt werden, je nach untersuchtem

Merkmal liegt jedoch ein mehr oder weniger großer Überschneidungsbereich zwischen der jeweils weiblichen und männlichen Wertespanne vor (Abbildung 28).



**Abbildung 28 | Schematische Verteilung der Merkmalsausprägungen zwischen Männern und Frauen.** Grau schattiert ist der Überschneidungsbereich der Merkmalsverteilungen beider Geschlechter dargestellt. Dieser kann in Abhängigkeit der für eine Begutachtung zur Verfügung stehenden Merkmale und deren Anzahl mehr oder weniger groß sein und daher immer wieder zu fehlerhaften Geschlechtsansprachen führen.

In Abhängigkeit davon, wie viele Merkmale tatsächlich für eine Begutachtung zur Verfügung stehen, was auch im Fall der von IMMLER (2013) untersuchten Skelette häufig ein nicht zu unterschätzender Faktor war, und der individuellen Ausprägung der Merkmale, kann es somit auch mit einem erweiterten Methodenkatalog zu Fehlbestimmungen seitens der Anthropologie kommen. Durch die zusätzlich durchgeführte molekulargenetische Geschlechtsbestimmung konnten jedoch, in Abhängigkeit des molekularen Erhaltungszustands der untersuchten Individuen, eindeutige Ergebnisse für ein genetisches Geschlecht erzielt werden. Eine derart eindeutige Geschlechtsbestimmung unter Berücksichtigung der unter 1.3.5 dargestellten Einschränkungen ist nur mittels molekulargenetischer Untersuchungen möglich.

Weiterhin hat sich gezeigt, dass auch die Geschlechtsansprache durch Grabbeigaben keineswegs unfehlbar ist, da durch die genetische Analyse in beiden widersprüchlichen Fällen die morphologische Geschlechtsbestimmung unterstützt wurde (IMMLER, 2013, GÄRTNER ET AL., 2014).

Insgesamt zeigt sich also, dass eine Aufarbeitung solch widersprüchlicher Befunde, wie man sie in etlichen Grabungsberichten und Gräberfeldkatalogen immer wieder finden kann, nur durch eine Kombination aller drei Methoden funktionieren kann. Während durch eine Erweiterung des morphologischen Methodenkatalogs eine größere Sicherheit bei der morphologischen Begutachtung erzielt werden kann (IMMLER, 2013), kann die molekulargenetische Analyse dabei helfen, Individuen, die in den Überschneidungsbereich zwischen weiblichen und männlichen Verteilungsspektren der jeweiligen Merkmale fallen, als biologische Frauen oder Männer zu identifizieren, wenn die Analysen unter den gebotenen, Kontaminationen limitierenden Bedingungen durchgeführt werden. Nur mit dieser Methode ist es möglich, in derartigen Fällen eine eindeutige Geschlechtszuweisung zu erhalten. Es stellte sich jedoch auch heraus, dass in jedem Fall eine erneute Untersuchung der archäologischen Befunde dazu beitragen kann, Zweifel an der morphologischen Geschlechtsbestimmung auszuräumen, da auch in diesen Fällen, gerade bei sogenannten Altgrabungen, eine Neubewertung unter Berücksichtigung der neuesten Forschungsergebnisse zu anderen Schlussfolgerungen kommen kann, wie in GÄRTNER ET AL. (2014) gezeigt werden konnte.

Einen weiteren interessanten Befund stellt die durch die Analysen als weiblich identifizierte Jugendliche dar, die mit einer Waage als Grabbeigabe bestattet wurde (GÄRTNER ET AL., 2014). Diese Beigabe stellt eigentlich eine typisch männliche Beigabe dar (GÄRTNER ET AL., 2014), da diese Aufgabe im Alltagsleben auch in der männlichen Sphäre angesiedelt ist (BITEL, 2002). Aus anthropologischer Sicht spricht jedoch nichts dagegen, dass auch die junge Frau eine derartige Aufgabe bereits ausgeführt hat. Ihr Bestattungsplatz auf dem Gräberfeld scheint jedoch in einem Bereich zu liegen, in dem eine Häufung von Individuen mit kaufmännischen Berufen begraben zu sein schien (GÄRTNER, 2013). Eine genauere verwandtschaftliche Untersuchung mit den weiteren in dieser Arbeit präsentierten Methoden, könnte hier wiederum Einblicke in die innere Struktur eines solchen Gräberfeldes geben (siehe 5.5.3.3) und möglicherweise auch Einblicke in die Vererbbarkeit von Berufen im frühen Mittelalter.

## **5.7 ZUSAMMENFASSUNG: BESTATTUNGSPHÄNOMENE DER MEROWINGERZEITLICHEN REIHENGRÄBERKULTUR AUS SICHT DER MOLEKULARBIOLOGIE**

In der vorliegenden Arbeit wurden Bestattungspänomene, die regelmäßig auf frühmittelalterlichen Reihengräberfeldern angetroffen werden können, aus einer molekulargenetischen Sicht untersucht und beurteilt. Zu diesen Phänomenen zählen neben den sogenannten „Amazonen“, also Frauen, die in Waffenausrüstung bestattet wurden, auch Mehrfachbestattungen in allen denkbaren Variationen. Neben den relativ häufig auftretenden Doppelbestattungen, deren Zusammensetzung keinem bestimmten Muster von Alters- oder

Geschlechterverhältnis folgt, zählen hierzu auch Bestattungen mit mehr als zwei Individuen und auch die spätestens ab dem 7. Jahrhundert immer häufiger auftretenden Männermehrfachbestattungen.

Durch die erneute Untersuchung von Frauen in Waffen konnte gezeigt werden, dass es diese Art der Bestattung nicht gab, wie auch die übrigen Bestattungen, deren Geschlechtszuweisung von anthropologischer und archäologischer Seite widersprüchlich war (IMMLER, 2013, GÄRTNER ET AL., 2014). Dies liegt zum einen in der Natur der biologischen Merkmalsausprägung, wie in der vorliegenden Arbeit diskutiert wurde, zum anderen aber auch an geänderten und verbesserten Auswertungsmethoden in beiden Disziplinen, vor allem in Bezug auf Befunde, die in älterer Zeit bearbeitet wurden. Vor allem vermeintlich spektakuläre Ergebnisse bedürfen hier immer einer unabhängigen Reproduktion, Anwendung verschiedener Verfahren und kritischen Betrachtung, wie der ursprüngliche Fall einer vermeintlichen Amazone aus Niederstotzingen (WAHL ET AL., 2014, ZELLER, 2000) zeigt.

Die grundsätzliche Eignung verkürzter STR-Amplicons (miniSTRs) zur genetischen Untersuchung von mumifiziertem und Knochenmaterial konnte bereits mehrfach gezeigt werden (z. B. VON GRUMBKOW ET AL., 2013, HAWASS ET AL., 2010, SEIDENBERG ET AL., 2012). In der hier vorgelegten Arbeit konnte zudem gezeigt werden, dass es bedingt möglich ist, die Verwendung von UNG-dUTP als zusätzlichen Schutz vor Kreuzkontaminationen in die Analyse zu implementieren. Das Beispiel von Sindelsdorf zeigt außerdem, dass mit den gewählten Markern bereits Wahrscheinlichkeiten für Verwandtschaftsuntersuchungen erzielt werden können, die rechtsmedizinischen Standards genügen (GOODWIN ET AL., 2011). Dennoch zeigte sich im Zuge der Untersuchungen auch, dass bei einigen untersuchten Verwandtschaftsverhältnissen Unklarheiten bleiben, die durch die Hinzunahme weiterer Marker geklärt werden könnten, da hierdurch auch entferntere Verwandtschaften besser charakterisiert werden können (ZVÉNIGOROSKY ET AL., 2016).

Bei der Untersuchung der Mehrfachbestattungen hat sich gezeigt, dass eine Verwandtschaft der darin Bestatteten neben dem gemeinsamen oder zeitlich zusammenfallenden Tod das Hauptmotiv für ein solches Begräbnis zu sein scheint. Dies ist besonders deshalb interessant, weil dieses Muster auch während der Zeit der Justinianischen Pest beibehalten wird. Die wenigen Individuen, die trotz gemeinsamer Bestattung keine genetische Beziehung aufweisen, widersprechen diesem Befund nicht, da im frühen Mittelalter auch die Bediensteten eines Hofes zur *familia* gezählt wurden und Adoptionen ebenfalls nicht unüblich waren (SCHNEIDER, 2008, STEUER, 1989). WAHL (1994) weist in diesem Zusammenhang darauf hin, dass Mehrfachbestattungen häufig auch durch eine Schicksalsgemeinschaft der bestatteten Individuen, wie etwa ein gemeinsames tödliches Unglück oder eine andere gemeinsame Todesursache, zustande kommen könnten. Ebenfalls gibt es zu bedenken, dass ein solch gemeinsames Schicksal wahrscheinlicher für Individuen ist, die bereits zu Lebzeiten verbunden

waren und daher auch häufiger Opfer gemeinsamer Schicksale gewesen sein dürften. Zwar nennt WAHL (1994) hier das Beispiel von Frauen mit Kindern, bei denen, wie hier gezeigt werden konnte, meist ein Mutter-Kind-Verhältnis angenommen werden kann, jedoch kann dieser Sachverhalt sicher auf alle Angehörigen einer frühmittelalterlichen *familia* erweitert werden, wodurch sich auch die wenigen genetisch nicht verwandten Bestatteten in einem gemeinsamen Grab erklären lassen.

Im Falle der Männermehrfachbestattungen kann belegt werden, dass es sich nicht um eine rein auf genetischer Verwandtschaft beruhende Bestattungsform handelt. Jedoch deuten Verwandtschaften zwischen einzelnen Bestattungen auf Fundplätzen, die mehr als eine solcher Männermehrfachbestattungen aufweisen, und eine gewisse Heterogenität in den Verwandtschaften innerhalb der Bestattungen darauf hin, dass die von STEUER (2008) aufgestellte These, dass es sich dabei um sichtbare Zeugnisse des frühmittelalterlichen Fehdewesens handelt, zutreffen könnte. Wenngleich ein eindeutiger Beweis aufgrund der bei dieser Hypothese zu erwartenden Heterogenität der Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Bestattungen nicht geführt werden kann, verspricht eine Untersuchung weiterer solcher Bestattungen, und hier vor allem von Fundplätzen, die mehrere derartige Bestattungen aufzuweisen haben (siehe SCHNEIDER, 2008) weitere Einblicke in dieses Phänomen. Möglicherweise könnte auf diese Weise gezeigt werden, dass weitere verwandtschaftliche Beziehungen zwischen solchen Bestattungen innerhalb von Fundplätzen bestehen, was das Bild von der Existenz bestimmter Fehdeparteien schärfen könnte.

Der Nachweis eines Adels ist mit genetischen Methoden und auch mit anderen naturwissenschaftlichen Methoden nur unter bestimmten Voraussetzungen bedingt möglich (STROTT ET AL., 2008). Dennoch weisen Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Tuffplattengräber darauf hin, dass es sich hierbei um die Bestattungsorte einzelner Familien gehandelt hat. Dieser Befund hat eine Entsprechung im westlichen Frankreich, wo derartige Bestattungen ebenfalls als Begräbnisstätten von Familien angesprochen werden konnten (DEGUILLOUX ET AL., 2014). Aufgrund der Heraushebung dieser Individuen aus der Masse durch die Art der Bestattung (SCHOLZ, 2002) und die teilweise Abgrenzung des gesamten Begräbnisareals (BURZLER, 2000) und der hier gezeigten verwandtschaftlichen Beziehungen kann zumindest davon ausgegangen werden, dass es sich dabei um Personen gehandelt hat, deren Stand in der Gesellschaft durch eine gewisse Erblichkeit bedingt war.

Die vorliegende Arbeit zeigt somit, dass mit Hilfe der Paläogenetik weitere wertvolle Einblicke in die Zeit des frühen Mittelalters, die vor allem durch ihre Armut an schriftlichen Quellen noch immer viele Fragen aufwirft, geben kann. Wenn damit auch nicht alle Fragen vollends beantwortet werden können, so ist es zumindest möglich, weitere Puzzleteile zum Gesamtbild dieser Zeit hinzuzufügen und damit einen Beitrag zur Komplettierung unseres Verständnisses der damaligen Zeit zu leisten.

## **6 AUSBLICK**

Obwohl in der vorliegenden Arbeit Antworten auf die eingangs gestellten Fragen gefunden werden konnten, stellen sich nun neue Fragen methodischer und inhaltlicher Art.

Grundsätzlich hat sich gezeigt, dass die Untersuchung nukleärer Marker auch bei Kindern erfolgreich durchgeführt werden kann. Allerdings sollte hier, vor allem bei Kindern der Altersstufe Infans I, die Beprobungsstrategie überdacht werden, da eine andere Probenauswahl unter Umständen erheblich bessere Ergebnisse liefern kann (GAMBA ET AL., 2014, PINHASI ET AL., 2015). Die häufig auch bei adulten Individuen lückenhaften Y-chromosomalen STR-Profile im Vergleich zu den wesentlich besseren autosomalen STR-Profilen machen deutlich, dass auch hier eine Umstellung auf ein miniSTR-System, wie beispielsweise von BACA ET AL. (2012) publiziert, eine gewinnbringende Änderung sein kann. Wenn auch, wie eingangs erläutert (siehe 1.3.4), für die nukleären Marker die PCR nach wie vor die am besten geeignete Methode darstellt, können vollständige mitochondriale Genome, wie sie mit neueren NGS-Methoden erzielt werden können (z. B. BRANDT ET AL., 2015), sicherlich auch für die Verwandtschaftsanalyse Aussagen mit höherer Sicherheit liefern, da hierbei auch Mutationen im kodierenden Bereich und der HVR II des Mitochondriums analysiert werden können.

Um festzustellen, inwieweit sich die Bestattungssitte von Einzelgräbern hin zu Mehrfachgräbern während des Zeitraums der Justinianischen Pest auf den frühmittelalterlichen Reihengräberfeldern tatsächlich geändert hat, müssten auch Einzelgräber aus diesem Zeitraum hinsichtlich des Vorkommens des Pesterregers untersucht werden. Sollte sich hierbei herausstellen, dass sich diese Sitte kaum geändert hat, werden neue Rückschlüsse auf die Intensität der Epidemie und auch auf deren Wahrnehmung in der Bevölkerung möglich. Vor allem eine vergleichende Untersuchung der Bestattungssitte und damit der Behandlung der Pestopfer im Vergleich zur Zeit des hochmittelalterlichen Schwarzen Todes könnte hier sehr aufschlussreich in Bezug auf die Wahrnehmung der Infektion sein. Eine solche vergleichende Untersuchung könnte auch unter Einbeziehung aktueller Vergleiche der genetischen Ausstattung historischer Pesterreger (RASMUSSEN ET AL., 2015) weitere Einblicke in das Pestgeschehen vergangener Zeiten liefern. Ausgehend von den Screening-Ergebnissen in der vorliegenden Arbeit, konnte ein erster Vergleich der Genome aus Aschheim und Altenerding bereits zeigen, dass es sich um den identischen Erreger gehandelt hat, und dadurch eine genauere phylogenetische Einordnung des Erregers vorgenommen werden (FELDMAN ET AL., 2016).

Neue Einblicke in das gesellschaftliche Bild liefert sicherlich auch eine Antwort auf die Frage nach einer möglichen Binnengliederung der Reihengräberfelder, worauf vor allem das Ergebnis aus Sindelsdorf hindeutet. Eine vergleichende verwandtschaftliche Untersuchung möglicher

intendierter Grabgruppierungen kann hier sicherlich auch neue Hinweise auf die Entstehung der Reihengräberfelder geben und vor allem auf die Frage, welche Gruppen dort bestatteten und in welcher Beziehung diese zueinander standen.

Die Frage nach der Entstehung bzw. Existenz eines frühmittelalterlichen Adels konnte in der vorliegenden Arbeit grundsätzlich bejaht werden. Hier bieten sich nun weitere Hypothesen, deren Überprüfung die bereits existierenden Theorien untermauern kann, an. Zum einen bietet die Untersuchung einer kompletten Separatgrablege die Möglichkeit, nach weiteren Mustern zu suchen. Da angenommen wird, dass auch mögliche (nicht mit der Herrenfamilie verwandte) Personen als Angehörige der *familia* in den Nekropolen bestattet wurden (STEUER, 1989), kann der Vergleich von Grabbau und Verwandtschaft innerhalb einer solchen Separatgrablege sicherlich auch hier neue Impulse geben. Weiterhin können unterschiedliche Separatgrablegen, die mutmaßlich zum selben Streubesitz einer einzigen Familie gehören (BURZLER, 2000), hinsichtlich verwandtschaftlicher Verhältnisse zwischen den einzelnen Grablegen untersucht werden, um auch hier weitere Einblicke in die Organisation frühmittelalterlicher Gesellschaften zu geben. So bieten alle in dieser Arbeit untersuchten Gräberfelder mit Tuffplattengräbern die Möglichkeit eine umfassendere Untersuchung mit einem Vergleich der Erdbestattungen durchzuführen. Wie KELLER (1995) bereits erwähnt, fällt die Grablege von Herrsching am Ammersee möglicherweise in den Besitz der Huosi, also einer Familie, über deren Besitzungen zumindest weitere Theorien bestehen. Einen weiteren Bestattungsplatz, der möglicherweise dieser Familie zugeordnet werden könnte, vermuten DIEPOLDER & KELLER (1988) in Jesenwang. Darüber hinaus gibt es bekannte Angehörige der Huosi, die im Freisinger Dom bestattet sind. So handelt es sich sowohl bei Hitto von Freising als auch bei Erchanbert um Mitglieder ebenjener Familie. Hier bleibt allerdings zunächst fraglich, ob die Lage ihrer Bestattungsplätze im Dom bekannt ist und wie zuverlässig eine mögliche Zuordnung ist (B. HAAS-GEHARD, PERS. KOMMUNIKATION).

## **7 LITERATUR**

- ADLER, C. J., HAAK, W., DONLON, D. & COOPER, A. (2011) Survival and recovery of DNA from ancient teeth and bones. *Journal of Archaeological Science* 38: 956-964.
- ALLENTOFT, M. E., COLLINS, M., HARKER, D., HAILE, J., OSKAM, C. L., HALE, M. L., CAMPOS, P. F., SAMANIEGO, J. A., GILBERT, M. T. P., WILLERSLEV, E., ZHANG, G., SCOFIELD, R. P., HOLDAWAY, R. N. & BUNCE, M. (2012) The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils. *Proceedings of the Royal Society B* 279:4724-4733.
- ALLENTOFT, M. E., SIKORA, M., SJÖGREN, K.-G., RASMUSSEN, S., RASMUSSEN, M., STENDERUP, J., DAMGAARD, P. B., SCHROEDER, H., AHLSTRÖM, T., VINNER, L., MALASPINAS, A.-S., MARGARYAN, A., HIGHAM, T., CHIVALL, D., LYNNERUP, N., HARVIG, L., BARON, J., DELLA CASA, F., DĄBROWSKI, P., DUFFY, P. R., EBEL, A. V., EPIMAKHOV, A., FREI, K., FURMANEK, M., GRALAK, T., GROMOV, A., GRONKIEWICZ, S., GRUPE, G., HAJDU, T., JARYSZ, R., KHARTANOVIC, V., KHOKHLOV, A., KISS, V., KOLÁŘ, J., KRIISKA, A., LASAK, I., LONGHI, C., MCGLYNN, G., MERKEVICIUS, A., MERKYTE, I., METSPALU, M., MKRTCHYAN, R., MOISEYEV, V., PAJA, L., PÁLFI, G., POKUTTA, D., POSPIESZNY, Ł., PRICE, T. D., SAAG, L., SABLIN, M., SHISHLINA, N., SMRČKA, V., SOENOV, V. I., SZEVERÉNYI, V., TÓTH, G., TRIFANOVA, S. V., VARUL, L., VICZE, M., YEPISKOPOSYAN, L., ZHITENEV, V., ORLANDO, L., SICHERITZ-PONTÉN, T., BRUNAK, S., NIELSEN, R., KRISTIANSEN, K. & WILLERSLEV, E. (2015) Population genomics of Bronze Age Eurasia. *Nature* 522: 167-172.
- ALONSO, A. & MARTÍN, P. (2005) A real-time PCR protocol to determine the number of Amelogenin (X-Y) gene copies from forensic DNA samples. In: Carracedo, A. (Hrsg.): *Forensic DNA Typing Protocols. Methods in Molecular Biology* 297. Totowa, New Jersey: Humana Press, 31-44.
- ALONSO, A., MARTÍN, P., ALBARRÁN, C., GARCÍA, P., GARCÍA, O., FERNÁNDEZ DE SIMÓN, L., GARCÍA-HIRSCHFELD, J., SANCHO, M., DE LA RÚA, C. & FERNÁNDEZ-PIQUERAS, J. (2004) Real-time PCR designs to estimate nuclear and mitochondrial DNA copy number in forensic and ancient DNA studies. *Forensic Science International* 139: 141-149.
- ALONSO, A., MARTÍN, P., ALBARRÁN, C., GARCÍA, P., PRIMORAC, D., GARCÍA, O., FERNÁNDEZ DE SIMÓN, L., GARCÍA-HIRSCHFELD, J., SANCHO, M. & FERNÁNDEZ-PIQUERAS, J. (2003) Specific quantification of human genomes from low copy number DNA samples in forensic and ancient DNA studies. *Croatian Medical Journal* 44: 273-280.
- AMENT, H. (1970) Fränkische Adelsgräber von Flonheim in Rheinhessen. *Germanische Denkmäler der Völkerwanderungszeit: Die fränkischen Altertümer des Rheinlandes. Serie B, Band 5*. Berlin: Gebr. Mann.
- ANDREWS, R. M., KUBACKA, I., CHINNERY, P. F., LIGHTOWLERS, R. N., TURNBULL, D. M. & HOWELL, N. (1999) Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics* 23: 147.
- APPLIED BIOSYSTEMS (2008) Fast SYBR® Green Master Mix: Executed on Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System. Quick Reference Card.
- APPLIED BIOSYSTEMS (2010) Fast SYBR® Green Master Mix: Protocol.
- BACA, M., DOAN, K., SOBCZYK, M., STANKOVIC, A. & WĘGLEŃSKI (2012) Ancient DNA reveals kinship burial patterns of a pre-Columbian Andean community. *BMC Genetics* 13: 30.
- BAUER, C. M., BODNER, M., NIEDERSTÄTTER, H., NIEDERWIESER, D., HUBER, G., HATZER-GRUBWIESER, P., HOLUBAR, K. & PARSON, W. (2012) Molecular genetic investigations on Austria's patron saint Leopold III. *Forensic Science International Genetics* 7: 313-315.

- BERGDOLT, K. (2006) *Die Pest. Geschichte des Schwarzen Todes*. München: Verlag C. H. Beck.
- BLAU, S., CATELLI, L., GARRONE, F., HARTMANN, D., ROMANINI, C., ROMERO, M. & VULLO, C. (2014) The contributions of anthropology and mitochondrial DNA analysis to the identification of the human skeletal remains of the Australian outlaw Edward 'Ned' Kelly. *Forensic Science International 240*: e11-e21.
- BIANUCCI, R. & KACKI, S. (2012) The archaeology of the second Plague pandemic. An overview of French funerary contexts. In: Harbeck, M., von Heyking, K. & Schwarzberg, H. (Hrsg.): *Sickness, Hunger, War, and Religion. Multidisciplinary Perspectives. RCC Perspectives 2012/3*. P. 71-74.
- BIOTYPE (2008) Mentype® Nonaplex I PCR Amplification Kit Manual.
- BITEL, L. M. (2002) *Women in early Medieval Europe 400 – 1100*. New York: Cambridge University Press.
- BOLLONGINO, R., NEHLICH, O., RICHARDS, M. P., ORSCHIEDT, J., THOMAS, M. G., SELL, C., FAJKOŠOVÁ, Z., POWELL, A. & BURGER, J. (2013) 2000 years of parallel societies in Stone Age Central Europe. *Science 342*: 479-481.
- BØRSTING, C. & MORLING, N. (2015) Next generation sequencing and its applications in forensic genetics. *Forensic Science International: Genetics 18*: 78-89.
- BOS, K. I., HERBIG, A., SAHL, J., WAGLECHNER, N., FOURMENT, M., FORREST, S. A., KLUNK, J., SCHUENEMANN, V. J., POINAR, D., KUCH, M., GOLDING, G. B., DUTOUR, O., KEIM, P., WAGNER, D. M., HOLMES, E. C., KRAUSE, J. & POINAR, H. N. (2016) Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *eLife 2016*;10.7554/eLife.12994. doi:10.7554/eLife.12994
- BRANDT, G., SZÉCSÉNYI-NAGY, A., ROTH, C., ALT, K. W. & HAAK, W. (2015) Human paleogenetics of Europe – The known knowns and the known unknowns. *Journal of Human Evolution 79*: 73-92.
- BRATHER, S. (2008) Bestattungsrituale zur Merowingerzeit – Frühmittelalterliche Reihengräber und der Umgang mit dem Tod. In: *Körperinszenierung – Objektsammlung – Monumentalisierung, Totenritual und Grabkult in frühen Gesellschaften. Archäologische Quellen in kulturwissenschaftlicher Perspektive. Tübinger archäologische Taschenbücher*. Münster, New York, München, Berlin: Waxmann Verlag.
- BROTHERTON, P., ENDICOTT, P., SANCHEZ, J. J., BEAUMONT, M., BARNETT, R., AUSTIN, J. & COOPER, A. (2007) Novel high-resolution characterization of ancient DNA reveals C>U-type base modification events as the sole cause of post-mortem miscoding lesions. *Nucleic Acids Research 35*: 5717-5728.
- BROUSHAKI, F., THOMAS, M. G., LINK, V., LÓPEZ, S., VAN DORP, L., KIRSANOW, K., HOFMANOVÁ, Z., DIEKMAN, Y., CASSIDY, L. M., DÍEZ-DEL-MOLINO, D., KOUSATHANAS, A., SELL, C., ROBSON, H. K., MARTINIANO, R., BLÖCHER, J., SCHEU, A., KREUTZER, S., BOLLONGINO, R., BOBO, D., DAVOUDI, H., MUNOZ, O., CURRAT, M., ABDI, K., BIGLARI, F., CRAIG, O. E., BRADLEY, D. G., SHENNAN, S., VEERAMAH, K., MASHKOUR, M., WEGMANN, D., HELLENTHAL, G. & BURGER, J. (2016) Early Neolithic genomes from the eastern Fertile Crescent. *Science 353*: 499-503.
- BROWN, T. & BROWN, K. (2011) *Biomolecular Archaeology. An Introduction*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2011.

- BRUNDIN, M., FIGDOR, D., ENDO, D., JOHANSSON, A. & SJÖGREN, U. (2014) Preservation of Bacterial DNA by Human Dentin. *Journal of Endodontics* 40: 241-245.
- BUNCE, M., OSKAM, C. L. & ALLENTOFT, M. E. (2012) Quantitative real-time PCR in aDNA research. In: Shapiro, B. & Hofreiter, M. (Hrsg.): *Ancient DNA: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 840*. Springer Science+Business Media, 121-132.
- BURGER, J. & BOLLONGINO, R. (2010) Richtlinien zur Bergung, Entnahme und Archivierung von Skelettproben für palaeogenetische Analysen. *Bulletin der Schweizerischen Gesellschaft für Anthropologie* 16: 71-78.
- BURZLER, A. (2000) Archäologische Beiträge zum Nobilifizierungsprozess in der jüngeren Merowingerzeit. *Materialhefte zur bayerischen Vorgeschichte, Reihe A – Fundinventare und Ausgrabungsbefunde*. Kallmünz/ Opf.: Verlag Michael Lassleben.
- BUTLER, J. M. (2006) Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *Journal of Forensic Sciences* 51: 253-265.
- BUTLER, J. M. (2010) *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo: Academic Press.
- BUTLER, J. M. (2012) *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. San Diego: Academic Press.
- BUTLER, J. M. & HILL, C. R. (2012) Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Useful for Forensic DNA Analysis. *Forensic Science Review* 24: 15-26.
- BUTLER, J. M., SHEN, Y. & MCCORD, B. R. (2003) The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA. *Journal of Forensic Sciences* 48: 1054-1064.
- CARAMELLI, D., MILANI, L., VAI, S., MODI, A., PECCHIOLE, E., GIRARDI, M., PILLI, E., LARI, M., LIPPI, B., RONCHITELLI, A., MALLEGGNI, F., CASOLI, A., BERTORELLE, G. & BARBUJANI, G. (2008) A 28,000 years old Cro-Magnon mtDNA sequence differs from all potentially contaminating modern sequences. *PLoS ONE* 3(7): e2700. doi:10.1371/journal.pone.0002700
- CARBONI, I., FATTORINI, P., PREVIDERÈ, C., SORÇABURU CIGLIERI, S., IOZZI, S., NUTINI, A. L., CONTINI, E., PESUCCI, C., TORRICELLI, F. & RICCI, U. (2015) Evaluation of the reliability of the data generated by Next Generation Sequencing from artificially degraded DNA samples. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 5: e83-e85.
- CHAITANYA L., VAN OVEN, M., BRAUER, S., ZIMMERMANN, B., HUBER, G., XAVIER, C., PARSON, W., DE KNIJFF, P. & KAYSER, M. (2016) High-quality mtDNA control region sequences from 680 individuals sampled across the Netherlands to establish a national forensic mtDNA reference database. *Forensic Science International: Genetics* 21: 158-167.
- CHURCHILL, J. D., SCHMEDES, S. E., KING, J. L. & BUDOWLE, B. (2016) Evaluation of the Illumina® Beta Version ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit for use in genetic profiling. *Forensic Science International: Genetics* 20: 20-29.
- COBLE, M. D. & BUTLER, J. M. (2005) Characterization of new MiniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. *Journal of Forensic Sciences* 50: 43-53.
- COOPER, A. & POINAR, H. N. (2000) Ancient DNA – Do it right or not at all. *Science* 289: 1139.

- DANNHEIMER, H. (1974) Aus der Siedlungsarchäologie des frühen Mittelalters in Bayern. In: Kossack, G. & Ulbert, G. (Hrsg.): *Studien zur Vor- und Frühgeschichtlichen Archäologie. Festschrift für Joachim Werner zum 65. Geburtstag. Teil II, Frühmittelalter*. München: Verlag C. H. Beck, S. 629-646.
- DANNHEIMER, H. (1987) Ein spätmerowingerzeitlicher Friedhof in Wielenbach, Lkr. Weilheim. In: Dannheimer, H. (Hrsg.): *Auf den Spuren der Baiuwaren. Archäologie des früheren Mittelalters in Altbayern. Ausgrabungen – Funde – Befunde*. Pfaffenhofen: Ludwig Verlag, 1987, S. 83-97.
- DEGUILLOUX, M. F., PEMONGE, M. H., MENDISCO, F., THIBON, D., CARTRON, I. & CASTEX, D. (2014) Ancient DNA and kinship analysis of human remains deposited in Merovingian necropolis sarcophagi (Jau Dignac et Loirac, France, 7th-8th century AD). *Journal of Archaeological Science* 41: 399-405.
- DIEPOLDER, G. & KELLER, E. (1988) Ein Bestattungsplatz der Huosi (?) in Jesenwang. *Das archäologische Jahr in Bayern 1987*. S. 148-151.
- DRÁBEK, J. (2009) Validation of software for calculating the likelihood ratio for parentage and kinship. *Forensic Science International: Genetics* 3: 112-118.
- DUNCAN, C. J. & SCOTT, S. (2005) What caused the Black Death? *Postgraduate Medical Journal* 81:315-320. doi:10.1136/pgmj.2004.024075
- EGELAND, T., MOSTAD, P., MEVÅG, B. & STENERSEN, M. (2000) Beyond traditional paternity and identification cases. Selecting the most probable pedigree. *Forensic Science International* 110: 47-59.
- EICHERT, S. (2016) Wandel durch Migration – Der Ostalpenraum im Frühmittelalter als Fallstudie. In: Geisler, H. (Hrsg.): *Wandel durch Migration? 26. Internationales Symposium „Grundprobleme der frühgeschichtlichen Entwicklung im mittleren Donaauraum“*, Straubing 2014. *Arbeiten zur Archäologie Süddeutschlands*, Band 29. Büchenbach: Verlag Dr. Faustus, S. 197-212
- EULE, M. (1998) Die frühmittelalterlichen Siedlungen in Aschheim, Lkr. München, Oberbayern. *RURALIA II, Památky archeologické – Supplementum* 11: 25-33.
- FEHR, H. (2012) Friedhöfe der frühen Merowingerzeit in Baiern – Belege für die Einwanderung der Baiuwaren und anderer germanischer Gruppen? In: Fehr, H. & Heitmeier, I. (Hrsg.): *Die Anfänge Bayerns: Von Raetien und Noricum zur frühmittelalterlichen Baiovaria*. St. Ottilien: EOS Verlag, S. 311-336.
- FEHR, H. & HEITMEIER, I. (2012) *Die Anfänge Bayerns. Von Raetien und Noricum zur frühmittelalterlichen Baiovaria*. St. Ottilien: EOS Verlag.
- FELDMAN, M., HARBECK, M., KELLER, M., SPYROU, M. A., ROTT, A., TRAUTMANN, B., SCHOLZ, H. C., PÄFFGEN, B., PETERS, J., MCCORMICK, M., BOS, K., HERBIG, A. & KRAUSE, J. (2016) A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic Plague victim. *Molecular Biology and Evolution* 33: 2911-2923.
- FU, Q., LI, H., MOORJANI, P., JAY, F., SLEPCHENKO, S. M., BONDAREV, A. A., JOHNSON, P. L. F., AXIMU-PETRI, A., PRÜFER, K., DE FILIPPO, C., MEYER, M., ZWYNS, N., SALAZAR-GARCÍA, D., KUZMIN, Y. V., KEATES, S. G., KOSINTSEV, P. A., RAZHEV, D. I., RICHARDS, M. P., PERISTOV, N. V., LACHMANN, M., DOUKA, K., HIGHAM, T. F. G., SLATKIN, M., HUBLIN, J.-J., REICH, D., KELSO, J., VIOLA, T. B. & PÄÄBO, S. (2014) Genome sequence of a 45,000-year-old modern human from western Siberia. *Nature* 514: 445-450.

- GÄRTNER, T. (2012) Alter, Geschlecht und soziale Rolle – Untersuchungen zu den frühmittelalterlichen Gräberfeldern von Straubing-Bajuwarenstraße, Peigen und Künzing-Bruck. *Bayerische Vorgeschichtsblätter* 77: 151-172.
- GÄRTNER, T. (2013) Zur Ausstattung frühmittelalterlicher Frauengräber im niederbayerischen Donaauraum. In: Husty, L. & Schmotz, K. (Hrsg.): *Vorträge des 31. Niederbayerischen Archäologentages*. Rahden/ Westf.: Verlag Marie Leihdorf, S. 243-284.
- GÄRTNER, T., HAAS-GEHARD, B., HARBECK, M., IMMLER, F. & ROTT, A. (2014) Frühmittelalterliche Frauen in Waffen? Divergenzen zwischen der archäologischen und anthropologischen Geschlechtsansprache. *Bayerische Vorgeschichtsblätter* 79: 219-240.
- GAGE, K. L. & KOSOY, M. Y. (2005) Natural History of plague: Perspectives from more than a century of research. *Annual Review of Entomology* 50:505-528. doi:10.1146/annurev.ento.50.071803.130337
- GAMBA, C., FERNÁNDEZ, E., TIRADO, M., PASTOR, F. & ARROYO-PARDO, E. (2011) Brief communication: Ancient nuclear DNA and kinship analysis: the case of a Medieval burial in San Esteban church in Cuellar (Segovia, Central Spain). *American Journal of Physical Anthropology* 144: 485-491.
- GAMBA, C., JONES, E. R., TEASDALE, M. D., MCLAUGHLIN, R. L., GONZALEZ-FORTES, G., MATTIANGELI, V., DOMBORÓCZKI, L., KÓVÁRI, I., PAP, I., ANDERS, A., WHITTLE, A., DANI, J., RACZKY, P., HIGHAM, T. F. G., HOFREITER, M., BRADLEY, D. G. & PINHASI, R. (2014) Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory. *Nature Communications* 5: 5257. doi:10.1038/ncomms6257
- GEISLER, H. (1998) Das frühbairische Gräberfeld Straubing-Bajuwarenstraße I, Katalog der archäologischen Befunde und Funde, Textband. *Internationale Archäologie Band 30*. Rahden/ Westf.: Verlag Marie Leidorf, S.
- GILBERT, M. T. P., HANSEN, A. J., WILLERSLEV, E., RUDBECK, L., BARNES, I., LYNNERUP, N. & COOPER, A. (2003A) Characterization of genetic miscoding lesions caused by postmortem damage. *American Journal of Human Genetics* 72: 48-61.
- GILBERT, M. T. P., RUDBECK, L., WILLERSLEV, E., HANSEN, A. J., SMITH, C., PENKMAN, K. E. H., PRANGENBERG, K., NIELSEN-MARSH, C. M., JANS, M. E. & ARTHUR, P. (2005) Biochemical and physical correlates of DNA contamination in archaeological human bones and teeth excavated at Matera, Italy. *Journal of Archaeological Science* 32: 785-793.
- GILBERT, M. T. P., WILLERSLEV, E., HANSEN, A. J., BARNES, I., RUDBECK, L., LYNNERUP, N. & COOPER, A. (2003B) Distribution patterns of postmortem damage in human mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetics* 72: 32-47.
- GOODWIN, W., LINACRE, A. & HADI, S. (2011) *An introduction to forensic genetics*. Second edition. Chichester: Wiley-Blackwell.
- VON GRUMKOW, P., FROMMER, S., KOOTKER, L. M., DAVIES, G. R., MAZANEC, J. & HUMMEL, S. (2013) Kinship and mobility in 11th-century A.D. Gammertingen, Germany: an interdisciplinary approach. *Journal of Archaeological Science* 40: 3768-3776.
- GRUNENWALD, A., KEYSER, C., SAUTEREAU, A. M., CRUBÉZY, E., LUDÉS, B. & DROUET, C. (2014) Adsorption of DNA on biomimetic apatites: Toward the understanding of the role of bone and tooth mineral on the preservation of ancient DNA. *Applied Surface Science* 292: 867-875.

- GRUPE, G., HARBECK, M. & MCGLYNN, G. C. (2015) *Prähistorische Anthropologie*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- GUTSMIEDL, D. (2005) Die justinianische Pest nördlich der Alpen? Zum Doppelgrab 166/167 aus dem frühmittelalterlichen Reihengräberfeld von Aschheim-Bajuwarenring. In: Paffgen, B. (Hrsg.): *Cum grano salis. Beiträge zur europäischen Vor- und Frühgeschichte. Festschrift für Volker Bierbrauer zum 65. Geburtstag*. Friedberg: Likias.
- GUTSMIEDL-SCHÜMANN, D. (2010) Das frühmittelalterliche Gräberfeld Aschheim-Bajuwarenring. *Materialhefte zur Bayerischen Vorgeschichte. Reihe A – Fundinventare und Ausgrabungsbefunde. Band 94*. Kallmünz/ Opf.: Lassleben.
- HAAK, W., BRANDT, G., DE JONG, H. N., MEYER, C., GANSLMEIER, R., HEYD, V., HAWKESWORTH, C., PIKE, A. W. G., MELLER, H. & ALT, K. W. (2008) Ancient DNA, strontium isotopes, and osteological analyses shed light on social and kinship organization of the Later Stone Age. *PNAS* 105: 18226-18231.
- HAAK, W., LAZARIDIS, I., PATTERSON, N., ROHLAND, N., MALICK, S., LLAMAS, B., BRANDT, G., NORDENFELT, S., HARNEY, E., STEWARDSON, K., FU, Q., MITTNIK, A., BÁNFFY, E., ECONOMOU, C., FRANCKEN, M., FRIEDERICH, S., GARRIDO PENA, R., HALLGREN, F., KHARTANOVICH, V., KHOKHLOV, A., KUNST, M., KUZNETSOV, P., MELLER, H., MOCHALOV, O., MOISEYEV, V., NICKLISCH, N., PICHLER, S. L., RISCH, R., ROJO GUERRA, M. A., ROTH, C., SZÉCSÉNYI-NAGY, A., WAHL, J., MEYER, M., KRAUSE, J., BROWN, D., ANTHONY, D., COOPER, A., ALT, K. W. & REICH, D. (2015) Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature* 522: 207-211.
- HAAS-GEHARD, B. (2013) *Die Baiuwaren. Archäologie und Geschichte*. Regensburg: Verlag Friedrich Pustet.
- HABERSTROH, J. (2014) Radiokarbonanalysen in der Bodendenkmalpflege – Ultima Ratio oder Rechtfertigungsinstrument? In: Bayerisches Landesamt für Denkmalpflege (Hrsg.): *Bericht der Bayerischen Bodendenkmalpflege 54, 2013*. München: Verlag Rudolf Habelt.
- HAENSCH, S., BIANUCCI, R., SIGNOLI, M., RAJERISON, M., SCHULTZ, M., KACKI, S., VERMUNT, M., WESTON, D. A., HURST, D., ACHTMANN, M., CARNIEL, E. & BRAMANTI, B. (2010) Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the Black Death. *PLoS Pathogens* 6: e1001134. doi:10.1371/journal.ppat.1001134
- HÄNSCH, S., CILLI, E., CATALANO, G., GRUPPIONI, G., BIANUCCI, R., STENSETH, N. C., BRAMANTI, B. & PALLÉN, M. J. (2015) The *pla* gene, encoding plasminogen activator, is not specific to *Yersinia pestis*. *BMC Research Notes* 8:535.
- HAGELBERG, E., GRAY, I. C. & JEFFREYS, A. J. (1991) Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature* 352: 427-429.
- HAKENBECK, S. (2007) Identitätsbildungsprozesse im Gräberfeld von Altenerding. In: Grünewald, C. & Capelle, T. (Hrsg.): *Innere Strukturen von Siedlungen und Gräberfeldern als Spiegel gesellschaftlicher Wirklichkeit?* Münster: Aschendorff Verlag.
- HANDT, O., KRINGS, M., WARD, R. H. & PÄÄBO, S. (1996) The retrieval of ancient human DNA sequences. *American Journal of Human Genetics* 59: 368-376.
- HARBECK, M., SEIFERT, L., HÄNSCH, S., WAGNER, D. M., BIRDSSELL, D., PARISE, K. L., WIECHMANN, I., GRUPE, G., THOMAS, A., KEIM, P., ZÖLLER, L., BRAMANTI, B., RIEHM, J. M. & SCHOLZ, H. C. (2013) *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6th Century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathogens* 9(5): e1003349.

- HAWASS, Z., GAD, Y. Z., ISMAIL, S., KHAIRAT, R., FATHALLA, D., HASAN, N., AHMED, A., ELLEITHY, H., BALL, M., GABALLAH, F., WASEF, S., FATEEN, M., AMER, H., GOSTNER, P., SELIM, A., ZINK, A. & PUSCH, C. M. (2010) Ancestry and pathology in King Tutankhamun's family. *JAMA* 303: 638-647.
- HIGGINS, D., KAIDONIS, J., TOWNSEND, G., HUGHES, T. & AUSTIN, J. J. (2013) Targeted sampling of cementum for recovery of nuclear DNA from human teeth and the impact of common decontamination measures. *Investigative Genetics* 4: 18
- HIGGINS, D., ROHRLACH, A. B., KAIDONIS, J., TOWNSEND, G. & AUSTIN, J. J. (2015) Differential nuclear and mitochondrial DNA preservation in post-mortem teeth with implications for forensic and ancient DNA studies. *PLoS ONE* 10: e0126935. doi:10.1371/journal.pone.0126935
- HILL, C. R., KLINE, M. C., COBLE, M. D. & BUTLER, J. M. (2008) Characterization of 26 MiniSTR loci for improved analysis of degraded DNA samples. *Journal of Forensic Sciences* 53: 73-80.
- HÖSS, M., JARUGA, P., ZASTAWNY, T. H., DIZDAROGLU, M. & PÄÄBO, S. (1996) DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues. *Nucleic Acids Research* 24: 1304-1307.
- HOFREITER, M., PAIJMANS J. L. A., GOODCHILD, H., SPELLER, C. F., BARLOW, A., FORTES, G. G., THOMAS, J. A., LUDWIG, A. & COLLINS, M. J. (2014) The future of ancient DNA: Technical advances and conceptual shifts. *Bioessays* 37: 284-293.
- HOFREITER, M., SERRE, D., POINAR, H. N., KUCH, M. & PÄÄBO, S. (2001) Ancient DNA. *Nature Reviews Genetics* 2: 353-359.
- HUMMEL, S. (2003) *Ancient DNA Typing: Methods, Strategies, and Applications*. Berlin: Springer.
- HUSTY, L., KIRPAL, U. & PÄFFGEN, B. (2012) Begraben im Graben - Eine keltische Viereckschanze und frühmittelalterliche Gräber in Oberschneiding. *Das archäologische Jahr in Bayern 2011*. S. 72-75.
- IMMLER, F. (2013) *Frühmittelalterliche Frauen in Waffen? Morphologische und molekularbiologische Geschlechtsbestimmung in archäologisch/ anthropologisch divergierenden Fällen*. Masterarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- JOBLING, M. A. & TYLER-SMITH, C. (2003) The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nature Reviews Genetics* 4: 598-612.
- KAYSER, M. & SAJANTILA, A. (2001) Mutations at Y-STR loci: implications for paternity testing and forensic analysis. *Forensic Science International* 118: 116-121.
- KEELING, M. J. & GILLIGAN, C. A. (2000) Metapopulation dynamics of bubonic plague. *Nature* 407: 903-906.
- KELLER, E. (1995) Der frühmittelalterliche "Adelsfriedhof" mit Kirche von Herrsching a. Ammersee, Lkr. Starnberg. In: Bayerisches Landesamt für Denkmalpflege (Hrsg.): *Bericht der Bayerischen Bodendenkmalpflege 32/33 (1991/92)*. München: Verlag Rudolf Habelt.
- KELLER, M. (2013) Die Mehrfachbestattung Befund 162 aus dem Michelsberger Erdwerk Bruchsal-Aue – Paläogenetische und archäometrische Charakterisierung einer neolithischen Schicksalsgemeinschaft. Masterarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München.

- KELLER, M., ROTT, A., HOKE, N., SCHWARZBERG, H., REGNER-KAMLAH, B., HARBECK, M. & WAHL, J. (2015) United in death – related by blood? Genetic and archaeometric analyses of skeletal remains from the Neolithic earthwork Bruchsal-Aue. *American Journal of Physical Anthropology* 157: 458-471.
- KIRSANOW, K. & BURGER, J. (2012) Ancient Human DNA. *Annals of Anatomy* 194: 121-132.
- KLING, D., MOSTAD, P. F. & EGELAND, T. (2014A) *Manual for Familias 3*. Online-Publikation: <http://familias.no/english/manual/>
- KLING, D., TILLMAR, A. O. & EGELAND, T. (2014B) Familias 3 – Extensions and new functionality. *Forensic Science International: Genetics* 13: 121-127.
- KOCH, H. (2014) Frühmittelalterliche Adelsgräber aus Ergolding, Landkreis Landshut. In: Koch, H. (Hrsg.): *Frühmittelalterliche Adelsgräber aus Ergolding, Landkreis Landshut*. Büchenbach: Verlag Dr. Faustus. S. 7-69.
- KOCH, H. & STELZLE-HÜGLIN, S. (2001) Das bajuwarische Reihengräberfeld von Ergolding. *Das archäologische Jahr in Bayern 2001*. S. 111-114.
- KUCH, M., GRÖCKE, D. R., KNYF, M. C., GILBERT, M. T. P., YOUNGHUSBAND, B., YOUNG, T., MARSHALL, I., WILLERSLEV, E., STONEKING, M. & POINAR, H. (2007) A preliminary analysis of the DNA and diet of the extinct Beothuk: a systematic approach to ancient human DNA. *American Journal of Physical Anthropology* 132: 594-604.
- LAMBERT, D. M., RITCHIE, P. A., MILLAR, C. D., HOLLAND, B., DRUMMOND, A. J. & BARONI, C. (2002) Rates of evolution in ancient DNA from Adelie penguins. *Science* 295: 2270-2273.
- LAZARIDIS, I., PATTERSON, N., MITTNIK, A., RENAUD, G., MALLICK, S., KIRSANOW, K., SUDMANT, P. H., SCHRAIBER, J. G., CASTELLANO, S., LISON, M., BERGER, B., ECONOMOU, C., BOLLONGINO, R., FU, Q., BOS, K. I., NORDENFELT, S., LI, H., DE FILIPPO, C., PRÜFER, K., SAWYER, S., POSTH, C., HAAK, W., HALLGREN, F., FORNANDER, E., ROHLAND, N., DELSATE, D., FRANCKEN, M., GUINET, J.-M., WAHL, J., AYODO, G., BABIKER, H. A., BAILLIET, G., BALANOVSKA, E., BALANOVSKY, O., BARRANTES, R., BEDOYA, G., BEN-AMI, H., BENE, J., BERRADA, F., BRAVI, C. M., BRISIGHELLI, F., BUSBY, G. B. J., CALI, F., CHURNOSOV, M., COLE, D. E. C., CORACH, D., DAMBA, L., VAN DRIEM, G., DRYOMOV, S., DUGOUJON, J.-M., FEDOROVA, S. A., GALLEGOROMERO, I., GUBINA, M., HAMMER, M., HENN, B. M., HERVIG, T., HODOGLUGIL, U., JHA, A. R., KARACHANAK-YANKOVA, S., KHUSAINOVA, R., KHUSNUTDINOVA, E., KITTLES, R., KIVISILD, T., KLITZ, W., KUČINSKAS, V., KUSHNIAREVICH, A., LAREDJ, L., LITVINOV, S., LOUKIDIS, T., MAHLEY, R. W., MELEGH, B., METSPALU, E., MOLINA, J., MOUNTAIN, J., NÄKKÄLÄJÄRVI, K., NESHEVA, D., NYAMBO, T., OSIPOVA, L., PARIK, J., PLATONOV, F., POSUKH, O., ROMANO, V., ROTHHAMMER, F., RUDAN, I., RUIZBAKIEV, R., SAHAKYAN, H., SAJANTILA, A., SALAS, A., STARIKOVSKAYA, E. B., TAREKEGN, A., TONCHEVA, D., TURDIKULOVA, S., UKTVERYTE, I., UTEVSKA, O., VASQUEZ, R., VILLENA, M., VOEVODA, M., WINKLER, C. A., YEPISKOPOSYAN, L., ZALLOUA, P., ZEMUNIK, T., COOPER, A., CAPELLI, C., THOMAS, M. G., RUIZ-LINARES, A., TISHKOFF, S. A., SINGH, L., THANGARAJ, K., VILLEMS, R., COMAS, D., SUKERNIK, R., METSPALU, M., MEYER, M., EICHLER, E. E., BURGER, J., SLATKIN, M., PÄÄBO, S., KELSO, J., REICH, D. & KRAUSE, J. (2014) Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans. *Nature* 513: 409-416.
- LEBLANC, J. J., PETTIPAS, J., CAMPBELL, S. J., DAVIDSON, R. J. & HATCHETTE, T. F. (2008) Uracil-DNA glycosylase (UNG) influences the melting temperature (T<sub>m</sub>) of herpes simplex virus (HSV) hybridization probes. *Journal of Virological Methods* 151: 158-160.
- LEE, H. Y., SONG, I., HA, E., CHO, S.-B., YANG, W. I. & SHIN, K.-J. (2008) mtDNAManager: a web-based tool for the management and quality analysis of mitochondrial DNA control-region sequences. *BMC Bioinformatics* 9: 483

- LEHMANN, D. (2014) Anthropologische Untersuchung der Mehrfachbestattung Grab 244. In: Koch, H. (Hrsg.): *Frühmittelalterliche Adelsgräber aus Ergolding, Landkreis Landshut*. Büchenbach: Verlag Dr. Faustus.
- LINDAHL, T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362: 709-715.
- LINDERHOLM, A., MALMSTRÖM, H., LIDÉN, K., HOLMLUND, G. & GÖTHERSTRÖM, A. (2008) Cryptic contamination and phylogenetic nonsense. *PLoS ONE* 3(5): e2316. doi:10.1371/journal.pone.0002316
- LIPATOV, M., SANJEEV, K., PATRO, R. & VEERAMAH, K. R. (2015) Maximum likelihood estimation of biological relatedness from low coverage sequencing data. *bioRxiv preprint*. doi: <http://dx.doi.org/10.1101/023374>
- LONGO, M. C., BERNINGER, M. S. & HARTLEY, J. L. (1990) Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* 93: 125-128.
- LÜDEMANN, H. (1990) Mehrfachbelegte Gräber im frühen Mittelalter. Ein Beitrag zum Problem der Doppelbestattungen. *Fundberichte aus Baden-Württemberg* 19: 424-589.
- MALMSTRÖM, H., GILBERT, M. T. P., THOMAS, M. G., BRANDSTRÖM, M., STORÅ, J., MOLNAR, P., ANDERSEN, P. K., BENDIXEN, C., HOLMLUND, G., GÖTHERSTRÖM, A. & WILLERSLEV, E. (2009) Ancient DNA reveals lack of continuity between Neolithic hunter-gatherers and contemporary Scandinavians. *Current Biology* 19: 1758-1762.
- MALMSTRÖM, H., SVENSSON, E. M., GILBERT, M. T. P., WILLERSLEV, E., GÖTHERSTRÖM, A. & HOLMLUND, G. (2007) More on contamination: the use of asymmetric molecular behavior to identify authentic ancient human DNA. *Molecular Biology and Evolution* 24: 998-1004.
- MALMSTRÖM, H., VRETEMARK, M., TILLMAR, A., DURLING, M. B., SKOGLUND, P., GILBERT, M. T. P., WILLERSLEV, E., HOLMLUND, G. & GÖTHERSTRÖM, A. (2012) Finding the founder of Stockholm – A kinship study based on Y-chromosomal, autosomal and mitochondrial DNA. *Annals of Anatomy* 194: 138-145.
- MANNUCCI, A., SULLIVAN, K. M., IVANOV, P. L. & GILL, P. (1994) Forensic application of a rapid and quantitative DNA sex test by amplification of the X-Y homologous gene amelogenin. *International Journal of Legal Medicine* 106: 190-193.
- MAUERER, C. (2006) *Morphologische und molekularbiologische Geschlechtsbestimmung von Individuen mit Knochenfrakturen einer Skelettserie des 15. – 18. Jahrhunderts aus Süddeutschland (Rain am Lech)*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- MCCORMICK, M. (2016) Tracking mass death during the fall of Rome's empire (I). *Journal of Roman Archaeology* 28: 325-357.
- MEIER, M. (2005) "Und hinzu kam auch noch die Pest ...". Die sogenannte Justinianische Pest und ihre Folgen. In: Meier, M. (Hrsg.) *Pest. Die Geschichte eines Menschheitstraumas*. Stuttgart: Klett-Cotta.
- MELCHIOR, L., GILBERT, M. T. P., KIVISILD, T., LYNNERUP, N. & DISSING, J. (2008B) Rare mtDNA haplogroups and genetic differences in rich and poor Danish Iron-Age villages. *American Journal of Physical Anthropology* 135: 206-215.

- MELCHIOR, L., KIVISILD, T., LYNNERUP, N. & DISSING, J. (2008A) Evidence of authentic DNA from Danish Viking Age skeletons untouched by humans for 1,000 years. *PLoS ONE* 3(5): e2214. doi:10.1371/journal.pone.0002214
- MENKE, H. & MENKE, M. (2013) Das frühmittelalterliche Gräberfeld von *Sindolovesdorf/ Sindelsdorf*, Lkr. Weilheim-Schongau. *Materialhefte zur bayerischen Archäologie – Fundinventare und Ausgrabungsbefunde, Band 99*. Kallmünz/Opf.: Verlag Michael Lassleben.
- MENNINGER, M., SCHOLZ, M., STORK, I. & WAHL, J. (2004) Im Tode vereint. Eine außergewöhnliche Doppelbestattung und die frühmittelalterliche Topografie von Giengen a.d. Brenz-Hürben, Kreis Heidenheim. *Archäologische Ausgrabungen in Baden-Württemberg 2003*: 158-161.
- MEYER, M., KIRCHER, M., GANSAUGE, M.-T., LI, H., RACIMO, F., MALICK, S., SCHRAIBER, J. G., JAY, F., PRÜFER, K., DE FILIPPO, C., SUDMANT, P. H., ALKAN, C., FU, Q., DO, R., ROHLAND, N., TANDON, A., SIEBAUER, M., GREEN, R. E., BRYC, K., BRIGGS, A. W., STENZEL, U., DABNEY, J., SHENDURE, J., KITZMAN, J., HAMMER, M. F., SHUNKOV, M. V., DEREVIANKO, A. P., PATTERSON, N., ANDRÉS, A. M., EICHLER, E. E., SLATKIN, M., REICH, D., KELSO, J. & PÄÄBO, S. (2012) A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual. *Science* 338: 222-226.
- PÄÄBO, S. (1989) Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *PNAS* 86: 1939-1943.
- PÄÄBO, S., POINAR, H., SERRE, D., JAENICKE-DESPRÉS, V., HEBLER, J., ROHLAND, N., KUCH, M., KRAUSE, J., VIGILANT, L. & HOFREITER, M. (2004) Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Reviews in Genetics* 38: 645-679.
- PHILLIPS, C., GELABERT-BESADA, M., FERNANDEZ-FORMOSO, L., GARCÍA-MAGARIÑOS, SANTOS, C., FONDEVILLA, M., BALLARD, D., COURT, D. S., CARRACEDO, Á. & LAREU, M. V. (2014) "New turns from old STaRs": Enhancing the capabilities of forensic short tandem repeat analysis. *Electrophoresis* 35: 3173-3187.
- PILLI, E., MODI, A., SERPICO, C., ACHILLI, A., LANCONI, H., LIPPI, B., BERTOLDI, F., GELICHI, S., LARI, M. & CARAMELLI, D. (2013) Monitoring DNA contamination in handled vs. directly excavated ancient human skeletal remains. *PLoS ONE* 8(1): e52524.
- PINHASI, R., FERNANDES, D., SIRAK, K., NOVAK, M., CONNELL, S., ALPASLAN-ROODENBERG, S., GERRITSEN, F., MOISEYEV, V., GROMOV, A., RACZKY, P., ANDERS, A., PIETRUSEWSKY, M., ROLLEFSON, G., JOVANOVIC, M., TRINH HOANG, H., BAR-OZ, G., OXENHAM, M., MATSUMURA, H. & HOFREITER, M. (2015) Optimal ancient DNA yields from the inner ear part of the human petrous bone. *PLoS ONE* 10: e0129102.
- PLETERSKI, A. (2003) Struktur des Gräberfeldes Altenerding. In: Losert, H. & Pleterski, A.: *Altenerding in Oberbayern. Struktur des frühmittelalterlichen Gräberfeldes und „Ethnogenese“ der Bajuwaren*. Berlin, Bamberg, Ljubljana: scrîpvaz-Verlag. S. 505 – 684.
- POSTH, C., RENAUD, G., MITTNIK, A., DRUCKER, D. G., ROUGIER, H., CUPILLARD, C., VALENTIN, F., THEVENET, C., FURTWÄNGLER, A., WISING, C., FRANCKEN, M., MALINA, M., BOLUS, M., LARI, M., GIGLI, E., CAPECCHI, G., CREVECOEUR, I., BEAUVAL, C., FLAS, D., GERMONPRÉ, M., VAN DER PFLICHT, J., COTTIAUX, R., GÉLY, B., RONCHITELLI, A., WEHRBERGER, K., GRIGORESCU, D., SVOBODA, J., SEMAL, P., CARAMELLI, D., BOCHERENS, H., HARVATI, K., CONARD, N. J., HAAK, W., POWELL, A. & KRAUSE, J. (2016) Pleistocene mitochondrial genomes suggest a single major dispersal of non-Africans and a Late Glacial population turnover in Europe. *Current Biology* 26: 827-833. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.01.037>

- PRUVOST, M. & GEIGL, E.-M. (2004) Real-time quantitative PCR to assess the authenticity of ancient DNA amplification. *Journal of Archaeological Science* 31: 1191-1197.
- PRUVOST, M., GRANGE, T. & GEIGL, E.-M. (2005) Minimizing DNA contamination by using UNG-coupled quantitative real-time PCR on degraded DNA samples: application to ancient DNA studies. *BioTechniques* 38: 569-574.
- RASMUSSEN, S., ALLENTOFT, M. E., NIELSEN, K., ORLANDO, L., SIKORA, M., SJÖGREN, K.-G., PEDERSEN, A. G., SCHUBERT, M., VAN DAM, A., KAPEL, C. M. O., NIELSEN, H. B., BRUNAK, S., AVETISYAN, P., EPIMAKHOV, A., KHALYAPIN, M. V., GNUNI, A., KRIISKA, A., LASAK, I., METSPALU, M., MOISEYEV, V., GROMOV, A., POKUTTA, D., SAAG, L., VARUL, L., YEPISKOPOSYAN, L., SICHERITZ-PONTÉN, T., FOLEY, R. A., LAHR, M. M., NIELSEN, R., KRISTIANSEN, K. & WILLERSLEV, E. (2015) Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell* 163: 571-582.
- ROTT, A. & HARBECK, M. (2014) Untersuchung der verwandtschaftlichen Beziehung der Individuen der Ergoldinger Mehrfachbestattung 187. In: Koch, H. (Hrsg.): *Frühmittelalterliche Adelsgräber aus Ergolding, Landkreis Landshut*. Büchenbach: Verlag Dr. Faustus.
- ROTT, A., TURNER, N., SCHOLZ, U., VON HEYKING, K., IMMLER, F., PETERS, J., HABERSTROH, J. & HARBECK, M. (2017) Early medieval stone-lined graves in Southern Germany: analysis of an emerging noble class. *American Journal of Physical Anthropology* 162: 794-809.
- RUSSEL, J. C. (1968) That earlier plague. *Demography* 5: 174-184.
- SAGE, W. (1984) Das Reihengräberfeld von Altenerding in Oberbayern I. Katalog der anthropologischen und archäologischen Befunde. In: *Germanische Denkmäler der Völkerwanderungszeit. Serie A*. Berlin: Gebr. Mann Verlag.
- SCHEIBLE, M., ODILE, L., JUST, R. & IRWIN, J. (2014) Short tandem repeat typing on the 454 platform: Strategies and considerations for targeted sequencing of common forensic markers. *Forensic Science International: Genetics* 12: 107-119.
- SCHIFFELS, S., HAAK, W., PAAJANEN, P., LLAMAS, B., POPESCU, E., LOE, L., CLARKE, R., LYONS, A., MORTIMER, R., SAYER, D., TYLER-SMITH, C., COOPER, A. & DURBIN, R. (2016) Iron Age and Anglo-Saxon genomes from East England reveal British migration history. *Nature Communications* 7: 10408. doi:10.1038/ncomms10408
- SCHNEIDER, T. (2008) Mehrfachbestattungen von Männern in der Merowingerzeit. In: Brather, S., Müller, U. & Steuer, H. (Hrsg.): *Zeitschrift für Archäologie des Mittelalters* 36. Bonn: Verlag Dr. Rudolf Habelt. S. 1-32.
- SCHOLZ, U. (2002) Steinplattengräber im bayerischen Raum. Archäologisch-historische Studie zu einem frühmittelalterlichen Grabtypus. *Universitätsforschungen zur prähistorischen Archäologie, Band 92*. Bonn: Verlag Dr. Rudolf Habelt.
- SCHÜNEMANN, V. J., BOS, K., DEWITTE, S., SCHMEDES, S., JAMIESON, J., MITTNIK, A., FORREST, S., COOMBES, B. K., WOOD, J. W., EARN, D. J. D., WHITE, W., KRAUSE, J. & POINAR, H. N. (2011) Targeted enrichment of ancient pathogens yielding the pPCP1 plasmid of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *PNAS* 108: E746-E752.
- SEIDENBERG, V., SCHILZ, F., PFISTER, D., GEORGES, L., FEHREN-SCHMITZ, L. & HUMMEL, S. (2012) A new miniSTR heptaplex system for genetic fingerprinting of ancient DNA from archaeological human bone. *Journal of Archaeological Science* 39: 3224-3229.

- SEIFERT, L. (2013) *Mikroevolution und Geschichte der Pest: Paläogenetische Detektion und Charakterisierung von Yersinia pestis, gewonnen aus historischem Skelettmaterial*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- SEIFERT, L., HARBECK, M., THOMAS, A., HOKE, N., ZÖLLER, L., WIECHMANN, I., GRUPE, G., SCHOLZ, H. C. & RIEHM, J. M. (2013) Strategy for Sensitive and Specific Detection of *Yersinia pestis* in Skeletons of the Black Death Pandemic. *PLoS ONE* 8(9): e75742
- SEIFERT, L., WIECHMANN, I., HARBECK, M., THOMAS, A., GRUPE, G., PROJAHN, M., CHOLZ, H. C., RIEHM, J. M. (2016) Genotyping *Yersinia pestis* in historical plague: evidence for long-term persistence of *Y. pestis* in Europe from the 14<sup>th</sup> to the 17<sup>th</sup> century. *PLoS ONE* 11(1): e0145194.
- SEO, S. B., LEE, H. Y., ZHANG, A. H., KIM, H. Y., SHIN, D. H. & LEE, S. D. (2012) Effects of humic acid on DNA quantification with Quantifiler® Human DNA Quantification kit and short tandem repeat amplification efficiency. *International Journal of Legal Medicine* 126: 961-968.
- SKOGLUND, P., MALMSTRÖM, H., RAGHAVAN, M., STORÅ, J., HALL, P., WILLERSLEV, E., GILBERT, M. T. P., GÖTHERSTRÖM, A. & JAKOBSSON, M. (2012) Origins and genetic legacy of Neolithic farmers and hunter-gatherers in Europe. *Science* 336: 466-469.
- SLUPPHAUG, G., ALSETH, I., EFTEDAL, I., VOLDEN, G. & KROKAN, H. E. (1993) Low incorporation of dUMP by some thermostable DNA polymerases may limit their use in PCR amplifications. *Analytical Biochemistry* 211: 164-169.
- SODEINDE, O. A. & GOGUEN, J. D. (1989) Nucleotide sequence of the Plasminogen Activator Gene of *Yersinia pestis*: relationship to *ompT* of *Escherichia coli* and Gene *E* of *Salmonella typhimurium*. *Infection and Immunity* 57: 1517-1523.
- SOFESO, C., VOHBERGER, M., WISNOWSKY, A., PÄFFGEN, B. & HARBECK, M. (2012) Verifying archaeological hypotheses: investigations on origin and genealogical lineages of a privileged society in Upper Bavaria from Imperial Roman times (Erding, Kletthamer Feld). In: Kaiser, E., Burger, J. & Schier, W. (Hrsg.): *Population Dynamics in Prehistory and Early History. New Approaches Using Stable Isotopes and Genetics*. Berlin, Boston: de Gruyter. S. 113-130.
- SOSA, C., VISPE, E., NÚÑEZ, C., BAETA, M., CASALOD, Y., BOLEA, M., HEDGES, R. E. M. & MARTINEZ-JARRETA, B. (2013) Association between ancient bone preservation and DNA yield: a multidisciplinary approach. *American Journal of Physical Anthropology* 151: 102-109.
- STASKIEWICZ, A. (2007) The early medieval cemetery at Aschheim-Bajuwarenring – a Merovingian population under the influence of pestilence? In: Grupe, G. & Peters, J. (Hrsg.): *Documenta Archaeobiologiae 5. Skeletal series and their socio-economic context*. Rahden/Westf.: Verlag Marie Leidorf.
- STEINACHER, R. (2012) Zur Identitätsbildung frühmittelalterlicher Gemeinschaften. Überblick über den historischen Forschungsstand. In: Fehr, H. & Heitmeier, I. (Hrsg.): *Die Anfänge Bayerns: Von Raetien und Noricum zur frühmittelalterlichen Baiuvaria*. St. Ottilien: EOS Verlag. S. 73-123.
- STEUER, H. (1989) Archaeology and history: proposals on the social structure of the Merovingian kingdom. In: Randsborg, K. (Hrsg.): *The birth of Europe: archaeology and social development in the first millennium A. D.* Roma: L'Erma di Bretschneider. S. 100-122.
- STEUER, H. (2008) Archäologische Belege für das Fehdewesen während der Merowingerzeit. In: Ludwig, U. (Hrsg.): *Nomen et Fraternitas: Festschrift für Dieter Geuenich zum 65. Geburtstag*. Berlin: de Gruyter, 2008. S. 343-362.

- STÖRMER, W. (2002) *Die Baiuwaren. Von der Völkerwanderung bis Tassilo III.* 2. Überarbeitete Auflage. München: Verlag C. H. Beck, 2007.
- STONE, A. C., WILBUR, A. K., BUIKSTRA, J. E. & ROBERTS, C. A. (2009) Tuberculosis and Leprosy in perspective. *Yearbook of Physical Anthropology* 52: 66-94.
- STROTT, N., CZERMAK, A. & GRUPE, G. (2008) Are biological correlates to social stratification depicted in skeletal finds? Investigation of early medieval separate burial grounds in Bavaria. In: Grupe, G. & Peters, J. (Hrsg.): *Documenta Archaeobiologiae 5. Skeletal series and their socio-economic context.* Rahden/ Westf.: Verlag Marie Leidorf.
- SULLIVAN, K. M., MANNUCCI, A., KIMPTON, C. P. & GILL, P. (1993) A rapid and quantitative DNA sex test: fluorescence-based PCR analysis of X-Y homologous gene amelogenin. *BioTechniques* 15: 636-638.
- TAYLOR, S., WAKEM, M., DIJKMAN, G., ALSARRAJ, M. & NGUYEN, M. (2010) A practical approach to RT-qPCR – Publishing data that conform to the MIQE guidelines. *Methods* 50: S1-S5.
- TOMASO, H., REISINGER, E. C., AL DAHOUK, S., FRANGOULIDIS, D., RAKIN, A., LANDT, O. & NEUBAUER, H. (2003) Rapid detection of *Yersinia pestis* with multiplex real-time PCR assays using fluorescent hybridisation probes. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 38: 117-126.
- TURNER, N. (2015) *Molekulargenetische Verwandtschaftsanalyse an frühmittelalterlichen Tuffplattengräbern aus Bayern.* Masterarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- VANEK, D., SASKOVA, L. & KOCH, H. (2009) Kinship and Y-chromosome analysis of 7<sup>th</sup> century human remains: novel DNA extraction and typing procedure for ancient material. *Croatian Medical Journal* 50: 286-295.
- WAGNER, D. M., KLUNK, J., HARBECK, M., DEVAULT, A., WAGLECHNER, N., SAHL, J. W., ENK, J., BIRDSSELL, D. N., KUCH, M., LUMIBAO, C., POINAR, D., PEARSON, T., FOURMENT, M., GOLDING, B., RIEHM, J. M., EARN, D. J. D., DEWITTE, S., ROUILLARD, J-M., GRUPE, G., WIECHMANN, I., BLISKA, J. B., KEIM, P. S., SCHOLZ, H. C., HOLMES, E. C. & POINAR, H. (2014) *Yersinia pestis* and the Plague of Justinian 541-543 AD: a genomic analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 14: 319-326.
- WAHL, J. (1994) Zur Ansprache und Definition von Sonderbestattungen. In: Kokabi, M. & Wahl, J. (Hrsg.): *Beiträge zur Archäozoologie und prähistorischen Anthropologie. Forschungen und Berichte zur Vor- und Frühgeschichte in Baden-Württemberg* 53: 85-106.
- WAHL, J., CIPOLLINI, G., COIA, V., FRANCKEN, M., HARVATI-PAPATHEODOROU, K., KIM, M.-R., MAIXNER, F., O'SULLIVAN, N., PRICE, T. D., QUAST, D., SPEITH, N. & ZINK, A. (2014) Neue Erkenntnisse zur frühmittelalterlichen Separatgrablege von Niederstotzingen, Kreis Heidenheim. *Fundberichte aus Baden-Württemberg* 34: 341-390.
- WIECHMANN, I. & GRUPE, G. (2005) Detection of *Yersinia pestis* DNA in two early medieval skeletal finds from Aschheim (Upper Bavaria, 6th century A.D.). *American Journal of Physical Anthropology* 126: 48-55.
- WIECHMANN, I., HARBECK, M. & GRUPE, G. (2010) *Yersinia pestis* DNA sequences in Late Medieval skeletal finds, Bavaria. *Emerging Infectious Diseases* 16: 1806-1807.

- WIECHMANN, I., HARBECK, M., GRUPE G. & PETERS, J. (2012) Ancient DNA-Labor des ArchaeoBioCenters, LMU München. In: Grupe, G., McGlynn, G. & Peters, J. (Hrsg.): *Documenta Archaeobiologiae 10. Current discoveries from outside and within – Field explorations and critical comments from the lab*. Rahden/ Westf.: Verlag Marie Leidorf.
- WILLERSLEV, E. & COOPER, A. (2005) Ancient DNA. *Proceedings of the Royal Society B* 272: 3-16.
- WINTERS, M., BARTA, J. L., MONROE, C. & KEMP, B. M. (2011) To clone or not to clone: method analysis for retrieving consensus sequences in ancient DNA samples. *PLoS ONE* 6(6): e21247.
- YANG, D. Y., ENG, B., WAYE, J. S., DUDAR, J. C. & SAUNDERS, S. R. (1998) Technical Note: improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology* 105: 539-543.
- ZELLER, M. (2000) *Molekularbiologische Geschlechts- und Verwandtschaftsbestimmungen in historischen Skelettresten*. Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen.
- ZVÉNIGOROSKY V., CRUBÉZY, E., GIBERT, M., THÈVES, C., HOLLARD, C., GONZALEZ, A., FEDOROVA, S. A., ALEXEEV, A. N., BRAVINA, R. I., LUDES, B. & KEYSER, C. (2016) The genetics of kinship in remote human groups. *Forensic Science International: Genetics* 25: 52-62.

### **Onlinequellen**

<http://allstr.de> (Letzter Zugriff: 08.03.2016)

<http://mtmanager.yonsei.ac.kr> (Letzter Zugriff: 19.02.2016)

[http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol\\_AllelicLadderReamp.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/Protocol_AllelicLadderReamp.pdf) (Letzter Zugriff: 08.03.2016)

<http://www.hprg.com/hapest5/> (Letzter Zugriff: 08.03.2016)

<http://www.empop.online> (Letzter Zugriff: 23.11.2016)

<http://www.yhrd.org/search> (Letzter Zugriff: 23.11.2016)

## 8 ANHANG

### 8.1 ETABLIERUNG DER SYBR GREEN-BASIERTEN PCR-REAKTIONEN

**Tabelle A 1 Tabellarische Zusammenfassung der Etablierungsreaktionen der SYBR Green-basierten PCR-Ansätze.** Angegeben sind die grundlegenden Parameter der PCRs. Veränderungen zum vorherigen Versuch sind jeweils in rot kenntlich gemacht. Die Anpassungsreaktionen für Fragment A wurden mit einem synthetischen Oligonukleotid durchgeführt, dessen Kopienzahl je Reaktion angegeben ist. Die Etablierungen der Fragmente B-G wurden mit modernen Extrakten durchgeführt, hier ist lediglich angegeben, ob die Extrakte „unverdünnt“ eingesetzt oder in einer der angegebenen Verdünnungen.

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonzentration Fast SYBR Green Mastermix	Endkonzentration Primer (nM)	Endkonzentration BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen		Template	Ergebnis	Bemerkungen
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		1.000.000, 100.000, 10.000, 1.000, 100, 10, 5 Kopien	alle Ansätze positiv, kaum Unterschiede in C <sub>T</sub>	Spezifität der Produkte durch Sequenzierung getestet
					95°C, 20 sec				
					95°C, 5 sec	60			
					60°C, 40 sec	x			
					Schmelzkurve				
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg	alle Ansätze positiv	57°C beste Annealing- Temperatur
					95°C, 20 sec				
					95°C, 5 sec	60			
					50-55°C, 10 sec	x			
					72°C, 10 sec				
Schmelzkurve									
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg	alle Ansätze positiv	
					95°C, 20 sec				
					95°C, 5 sec	60			
					55-60°C, 10sec	x			
					72°C, 10 sec				
Schmelzkurve									
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg, 1.000.000, 10.000, 100, 10 Kopien	10 Kopien negativ	
					95°C, 20 sec				
					95°C, 5 sec	60			
					57°C, 10 sec	x			
					Schmelzkurve				
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg,	alle Ansätze positiv	C <sub>T</sub> -Abstände zwischen

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonzentration Fast SYBR Green Mastermix	Endkonzentration Primer (nM)	Endkonzentration BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen		Template	Ergebnis	Bemerkungen
					95°C, 20 sec		1.000.000,		den Ansätzen noch nicht optimal
					95°C, 5 sec	60	100.000,		
					57°C, 20 sec	x	10.000,		
					Schmelzkurve		1.000, 100, 10 Kopien		
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg,	alle Ansätze positiv	
					95°C, 20 sec		1.000.000,		
					95°C, 5 sec	60	100.000,		
					57°C, 30 sec	x	10.000,		
					Schmelzkurve		1.000, 100, 10Kopien		
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg,	alle Ansätze positiv	C <sub>T</sub> -Abstände und Effizienz noch nicht optimal, bestes Ergebnis bei 57°C Annealing
					95°C, 20 sec		1.000.000,		
					95°C, 5 sec	60	100.000,		
					57-60°C, 30 sec	x	10.000,		
					Schmelzkurve		1.000, 100, 10 Kopien		
A	20	1x	300, 250, 200, 150, 100	1	37°C, 10 min		10 pg,	bei 100 nM nur die 4 höchsten Konzentrationen positiv, sonst alle Ansätze positiv	bestes Ergebnis bei 300 nM
					95°C, 20 sec		1.000.000,		
					95°C, 5 sec	60	100.000,		
					57°C, 30 sec	x	10.000,		
					Schmelzkurve		1.000, 100, 10 Kopien		
A	20	1x	300, 350, 360, 370, 380, 390 400, 450	1	37°C, 10 min		10 pg,	alle Ansätze positiv; ab 350 nM vermehrt Primerdimerbildung bei niedriger Templatemenge	Effizienzen im Bereich zwischen 300 – 400 nM Primer ungefähr gleich
					95°C, 20 sec		1.000.000,		
					95°C, 5 sec	60	100.000,		
					57°C, 30 sec	x	10.000,		
					Schmelzkurve		1.000, 100, 10 Kopien		
A	20	1x	300	1	37°C, 10 min		10 pg,	oberhalb von 65°C für Elongation sind die letzten 3 Templatekonz. nur schwach positiv; bestes Ergebnis bei 60°C Elongation	
					95°C, 20 sec		1.000.000,		
					95°C, 5 sec	60	100.000,		
					57°C, 20 sec	x	10.000,		
					60-72°C, 10 sec		1.000, 100, 10 Kopien		
					Schmelzkurve				
A	20	1x	300	1, 0	37°C, 10 min		10 pg,	ohne BSA-Zugabe zeigt der Standard bessere Reaktion	trotz der besseren Reaktion des Standards ohne BSA
					95°C, 20 sec		1.000.000,		
					95°C, 5 sec	50	100.000,		

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonzentration Fast SYBR Green Mastermix	Endkonzentration Primer (nM)	Endkonzentration BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen		Template	Ergebnis	Bemerkungen
					57°C, 20 sec 60°C, 10 sec Schmelzkurve	x	10.000, 1.000, 100, 10 Kopien		musste dieses beibehalten bleiben, da einige Proben unter Einsatz von BSA besser amplifizierbar waren
B	20	1x	800	1	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 50°C, 20 sec 72°C, 10 sec Schmelzkurve	50 x	unverdünnt	kaum Reaktion, leichte Primerdimerbildung	
B	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 57°C, 20 sec 60°C, 10 sec Schmelzkurve	50 x	Verd. 1:10, 1:100, 1:1000	Reaktion insgesamt besser; C <sub>T</sub> -Abstände stimmen noch nicht	Bedingungen aus der Etablierung von Fragment A übernommen
B	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 50-57°C, 20 sec 60°C, 10 sec Schmelzkurve	50 x	Verd. 1:10, 1:100, 1:1000	unterhalb von 55°C Annealing schlechte Reaktion; früheste Reaktion bei 56°C Annealing	
B	20	1x	200, 250, 300, 350	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec Schmelzkurve	50 x	Verd. 1:10, 1:100, 1:1000	bestes Ergebnis mit 300 nM Primer	
C	20	1x	800	1	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 50°C, 20 sec 72°C, 10 sec Schmelzkurve	50 x	unverdünnt	kaum Reaktion, leichte Primerdimerbildung	
C	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5,	alle Ansätze positiv	Bedingungen aus der Anpassung von

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonzentration Fast SYBR Green Mastermix	Endkonzentration Primer (nM)	Endkonzentration BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen		Template	Ergebnis	Bemerkungen
					95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec	50 x	1:10, 1:20, 1:40		Fragment B übernommen
					Schmelzkurve				
D	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	alle Ansätze positiv	Bedingungen aus Anpassung von Fragment B übernommen
				95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec	50 x				
				Schmelzkurve					
E <sub>1</sub>	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	1:40-Verd. negativ, späte Reaktion, leichte Primerdimerbildung	Bedingungen aus Anpassung von Fragment B übernommen; r-Primer: mtH406
				95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec	50 x				
				Schmelzkurve					
E <sub>1</sub>	20	1x	250	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	Verd. 1:40 negativ, späte Reaktion, leichte Primerdimerbildung	
				95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec	50 x				
				Schmelzkurve					
E <sub>1</sub>	20	1x	200	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	Verd. 1:10, 1:20, 1:40 negativ	
				95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec	50 x				
				Schmelzkurve					
E <sub>1</sub>	20	1x	250	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	Verd. 1:40 negativ	
				95°C, 5 sec 60°C, 30 sec	50 x				
				Schmelzkurve					
E <sub>1</sub>	20	1x	250	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec		unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	alle Ansätze negativ	im Rahmen der Etablierung und anschließenden Probenbearbeitung konnten mit Frg. G
				95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 72°C, 10 sec	50 x				
				Schmelzkurve					

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonzentration Fast SYBR Green Mastermix	Endkonzentration Primer (nM)	Endkonzentration BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen
					Schmelzkurve			stets bessere Ergebnisse erzielt werden, daher wurde für Frg. E für einen Versuch der r-Primer von Frg. G verwendet
E <sub>2</sub>	20	1x	250	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 60°C, 30 sec Schmelzkurve	unverdünnte Extrakte; Verd. 1:5, 1:20, 1:100	alle Ansätze positiv, Reaktion sehr viel besser als bei Frg. E <sub>1</sub>	r-Primer: MtH16410
E <sub>2</sub>	20	1x	250	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 57°C, 20 sec 60°C, 10 sec Schmelzkurve	Verd. 1:5, 1:20, 1:100	alle Ansätze positiv, bessere Reaktion	
F	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 60°C, 10 sec Schmelzkurve	unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	nur Primerdimerbildung	Bedingungen aus Anpassung von Fragment B übernommen
F	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 60°C, 20 sec 72°C, 10 sec Schmelzkurve	Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	alle Ansätze positiv	
F	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 60°C, 30 sec Schmelzkurve	unverdünnt	starke Primerdimerbildung	
F	20	1x	250	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 60°C, 30 sec	unverdünnt	alle Ansätze positive, gute Reaktion	

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonzentration Fast SYBR Green Mastermix	Endkonzentration Primer (nM)	Endkonzentration BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen	
					Schmelzkurve				
G	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 56°C, 20sec 60°C, 10 sec	50 x	unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	Verd. 1:20, 1:40 negativ; generell schlechte Reaktion	Bedingungen aus Anpassung von Fragment B übernommen
					Schmelzkurve				
G	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 60°C, 20 sec 72°C, 10 sec	50 x	unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	nur unverdünnt und Verd. 1:5 positiv	
					Schmelzkurve				
G	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 56°C, 20 sec 72°C, 10 sec	50 x	unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	nur unverdünnt und Verd. 1:5 positiv	
					Schmelzkurve				
G	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 60°C, 30 sec	50 x	unverdünnt, Verd. 1:5, 1:10, 1:20, 1:40	Verd. 1:20, 1:40 negativ	
					Schmelzkurve				
G	20	1x	300	0	37°C, 10 min 95°C, 20 sec 95°C, 5 sec 57°C, 20 sec 60°C, 10 sec	50 x		alle positiv, Reaktionen besser als mit 60°C Annealingtemperatur	
					Schmelzkurve				

## 8.2 ETABLIERUNG DER STR-REAKTIONEN

**Tabelle A 2 Übersicht über die durchgeführten Reaktionen zur Etablierung der STR-Reaktionen.** Dargestellt sind die für die Etablierung wichtigsten PCR-Parameter. Veränderungen zum vorhergehenden Versuch sind jeweils rot hervorgehoben. Die Reaktionen wurden mit Verdünnungen vorhandener Allelleitern oder modernen Extrakten durchgeführt. Die Spalte „Primer-Set“ verweist jeweils auf eine Primermischung, die Tabelle A 3 entnommen werden kann. Die eingesetzte Zahl folgt dabei dem Muster „STR-Set.Primermix“.

STR-Set	Primer-Set	AmpliTaq (U/µl)	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. BSA (µg/µl)	UNG (U/µl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen		
1/2	1.1/ 2.1	0,08	1,5	0	0	37°C, 10 min	AL 1:1000, 1:100		Protokoll nach Butler et al. (2003)		
						95°C, 10 min					
						94°C, 1 min				15 x	
		0,08	2	0	0	55°C, 1 min					
		0,08	1,5	1	0	72°C, 1 min					
		1.2/ 2.2	0,08	1,5	0	0			60°C, 45 min		
			0,08	2	0,16	0			4°C, hold		Online-Protokoll nach Butler et al.
1/2	1.3/ 2.3	0,08	2	0,16	0	37°C, 10 min	AL 1:100				
						95°C, 10 min					
						94°C, 1 min				15 x	
						55°C, 1 min					
						72°C, 1 min					
60°C, 45 min											
4°C, hold											
1/2	1.1/ 2.1/ 2.3	0,08	2	0,16	0	37°C, 10 min	Moderner Extrakt				

STR-Set	Primer-Set	AmpliTaQ (U/μl)	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. BSA (μg/μl)	UNG (U/μl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen
						95°C, 10 min 94°C, 1 min 55°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 45 min 4°C, hold			
1/2	1.1/ 2.1/ 2.3	0,08	2	0,16	0	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 45 min 4°C, hold	Moderner Extrakt, AL 1:100		
1/2	1.4/ 2.3	0,08	2	0,16	0	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 55°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 45 min 4°C, hold	Moderner Extrakt, AL 1:100		
1/2	1.4/ 2.3	0,08	2	0,16	0	37°C, 10 min	Moderner Extrakt, AL 1:100	Leiter & Extrakt laufen gut bei 58°C Annealing;	Beinahe alle Peaks zeigen einen +A-Peak; finale

STR-Set	Primer-Set	AmpliTaq (U/µl)	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. BSA (µg/µl)	UNG (U/µl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen
						95°C, 10 min 94°C, 1 min 55/ 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 45 min 4°C, hold		FGA & D18S51 können nicht aus Leiter amplifiziert werden	Extension möglicherweise zu kurz
1/2	1.5/ 2.3	0,08	2	0,16	0	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	Moderner Extrakt, AL 1:100, aufgereinigte Leiter aus Vorversuchen, DNA 2800M, DNA 9947A	FGA & D18S51 kann aus Extrakten amplifiziert werden, nicht aus Leitern; Die aufgereinigte Leiter wirkt fragmentiert; Alle anderen Marker liefen gut	Die Marker aus Set2 zeigen immer noch durchgängig +A-Peaks
1/2	1.5/ 2.3	0,08	3	0,16	0	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	Moderner Extrakt, AL 1:100, aufgereinigte Leiter	Wie oben: Reaktion mit 3 mM MgCl <sub>2</sub> lief insgesamt schlechter als mit 2 mM Aufgereinigte Leiter nicht amplifizierbar	
1/2	1.6/ 2.3	0,08	3	0,16	0	37°C, 10 min	Moderner Extrakt,	Alle Marker aus Set2 amplifizierbar, Set1 mit	Marker, die laufen (v.a. in

STR-Set	Primer-Set	AmpliTaQ (U/μl)	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. BSA (μg/μl)	UNG (U/μl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen
						min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	AL 1:100, AL 1:1000, ALmf 1:1000	sehr schlechten Amplifikationsergebnissen auch im Extrakt	Set2) zeigen noch immer +A-Peaks
1/2	1.5/ 1.6/ 2.4	0,08	3/ 2	0,16	0	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	AL 1:100, AL 1:1000, ALmf 1:1000	Marker, die gelaufen sind, zeigen höhere Peaks bei 2mM MgCl <sub>2</sub> ; vWA zeigt bessere Reaktion, wenn Primerkonz. für FGA und D18S51 bei 2 μM liegt (nicht bei 4 μM)	Marker aus Set2 immer noch mit starken +A-Peaks, daher Versuch mit mehr Polymerase in Reaktion
1/2	1.3/ 1.7/ 2.4	0,08/ 0,12	2	0,16	0	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	AL 1:100, AL 1:1000, ALmf 1:1000	Ansätze mit 0,12 U/μl Polymerase sind generell besser gelaufen FGA & D18S51 weiterhin mit sehr schlechter bis keiner Reaktion	
1/2	1.3/ 1.5/	0,12	2	0,16	0	37°C, 10	Moderner Extrakt,	Ansätze bei 58°C Annealingtemp. laufen	

STR-Set	Primer-Set	AmpliTaq (U/µl)	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. BSA (µg/µl)	UNG (U/µl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen
	1.7/ 2.4					min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 55/ 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	AL 1:1000, ALmf 1:1000	besser als bei 55°C; Aus dem modernen Extrakt können mit den Primermixen 1.5 und 2.5 alle Marker amplifiziert werden FGA & D18S51 können weiterhin nicht aus den Allelleitern amplifiziert werden	
1/2	1.5/ 2.4	0,12	2	0,16	0,01	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 58°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	Aufgereinigte Leitern (ohne UNG-Zugabe); Moderner Extrakt, AL 1:1000	Bei aufgereinigten Leitern fand nur eine teilweise Reaktion statt; Unter UNG-Zugabe haben alle Marker zumindest schwach reagiert bis auf FGA & D18S51	
1/2	1.5/ 2.4	0,12	2	0,16	0,01	37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 56/ 57°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min	Moderner Extrakt, Leitern, Referenz-DNA	Ansatz mit 56°C Annealingtemp. generell besser gelaufen	Referenz-DNA liefert mit den amplifizierten Leitern die erwarteten Ergebnisse

STR-Set	Primer-Set	AmpliTaQ (U/µl)	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. BSA (µg/µl)	UNG (U/µl)	Cycling-Bedingungen	Template	Ergebnis	Bemerkungen
1	1.6/ 1.8/ 1.9/ 1.10	0,12	2	0,16	0	4°C, hold 37°C, 10 min 95°C, 10 min 94°C, 1 min 56°C, 1 min 72°C, 1 min 60°C, 240 min 4°C, hold	AL 1:100, ALmf 1:1000, Referenz-DNA	FGA kann aus Extrakt amplifiziert werden (außer bei Primermix 1.10), D18S51 kann aus Extrakt amplifiziert werden; beide können aus keiner Leiter amplifiziert werden Die anderen Marker können aus allen templates amplifiziert werden	Versuch: dTTP statt dUTP in Nukleotidmix: Im Ansatz ohne dUTP und mit dTTP zeigen D18S51 & FGA in den Extrakten eine gute Reaktion; D18S51 kann ohne dUTP/ mit dTTP auch aus der Leiter amplifiziert werden; FGA kann weiterhin nicht aus der Leiter amplifiziert werden.

**Tabelle A 3 Im Zuge der Etablierungsreaktionen verwendete Primermischungen der beiden STR-Sets.** Die Zahlen in der Spalte „Primer-Set“ in Tabelle A 2 setzen sich dabei nach dem Muster „STR-Set.Primermix“ zusammen.

STR-Set	Marker	Endkonzentration (µM)										
		Primermix	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	FGA	1	2	0,5	1	2	4	1	3	1	5	
	D18S51	1	2	0,5	2	2	4	1	3	1	5	
	D21S11	1	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	
	vWA	1	2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
2	TH01	1	2	2	2							
	D3S1358	1	2	2	2							
	D8S1179	1	2	0,5	1							
	Amelogenin	1	2	0,2	0,2							

### 8.3 ETABLIERUNG DER TAQMAN-REAKTIONEN

**Tabelle A 4 Übersicht über die Reaktionen zur Etablierung der TaqMan-Reaktionen für die molekulargenetische Geschlechtsbestimmung.** Angegeben sind die für Etablierung der Reaktionen wichtigsten Parameter. Veränderungen zu vorherigen Versuchen sind jeweils in rot gekennzeichnet. Die Etablierungsreaktionen wurden jeweils mit Verdünnungsreihen einer weiblichen (9947 A) und einer männlichen (2800 M) Referenz-DNA durchgeführt. Die Etablierung fand im Rahmen einer an diese Arbeit angegliederte und vom Autor betreute Masterarbeit (IMMLER, 2013) statt.

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonz. TaqMan Puffer	Endkonz. MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. Primer (nM)	Endkonz. Sonden (nM)	Endkonz. BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen		Template	Ergebnis	Bemerkungen
Amelogenin	50	1x	1,5	100	200	0,05	95°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 Männl.: unverd., 1:10		Protokoll nach Alonso & Martín (2005)
							95°C, 15 sec 60°C, 1 min	50 x			
Amelogenin	25	1x	1,5	200	200	0,05	95°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 Männl.: unverd., 1:10		
							95°C, 15 sec 60°C, 1 min	50 x			
Amelogenin	25	1x	1,5	200	200	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 Männl.: unverd., 1:10	58°C hat sich als beste Annealingtemp. im getesteten Bereich herausgestellt	
							95°C, 10 min				
							95°C, 15 sec 55-60°C, 40 sec 72°C, 20 sec	50 x			
Amelogenin	25	1x	1,5	300	200	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 Männl.: unverd., 1:10		Ansätze mit 60°C Elongationstemp. sind insgesamt besser gelaufen
							95°C, 10 min				
							95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 72°C, 20 sec	50 x			
	25	1x	1,5	300	200	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 Männl.: unverd., 1:10		
							95°C, 10 min				
							95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x			
Amelogenin	25	1x	3	200	300	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:5, 1:10, 1:20,		Bestes Ergebnis mit 3mM MgCl <sub>2</sub>
							95°C, 10 min				

Fragment	Reaktionsvolumen (µl)	Endkonz. TaqMan Puffer	Endkonz. MgCl <sub>2</sub> (mM)	Endkonz. Primer (nM)	Endkonz. Sonden (nM)	Endkonz. BSA (µg/µl)	Cycling-Bedingungen		Template	Ergebnis	Bemerkungen
	25	1x	3	300	300	0,05	95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x	1:40 Männl.: unverd., 1:10		und Primer- und Sondenkonz. von je 300 nM
Amelogenin	25	1x	3	300	300	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:4, 1:16, 1:64, 1:128 Männl.: unverd., 1:10	Reaktionen mit 72°C Elongationstemp. zeigen deutlich schlechtere Reaktion als Ansätze bei 60°C Elongationstemp.	
							95°C, 10 min				
	95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 72°C, 20 sec	50 x									
	25	1x	3	300	300	0,05	37°C, 10 min 95°C, 10 min 95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x	Weibl.: unverd., 1:4, 1:16, 1:64, 1:128 Männl.: unverd., 1:10		
Amelogenin	25	1x	3,5	300	300	0,05	37°C, 10 min 95°C, 10 min 95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x	Weibl.: unverd., 1:4, 1:16, 1:64, 1:128 Männl.: unverd., 1:10	Rkt. läuft schlechter als mit niedrigerer MgCl <sub>2</sub> -Konz.	
Amelogenin	25	1x	3	300	300	0,05	37°C, 10 min 95°C, 10 min 95°C, 15 sec 58-60°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x	Weibl.: unverd., 1:4 Männl.: unverd., 1:10	Beste Kombination: 3mM MgCl <sub>2</sub> , 58°C Annealing	
	25	1x	2	300	300	0,05					
Amelogenin	25	1x	2,5	300	300	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:4, 1:16, 1:64, 1:128 Männl.: unverd., 1:10	Keine Kombination besser als: Primer 300 nM, MgCl <sub>2</sub> -Konz. 3 mM	
							95°C, 10 min				
	95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x									
	25	1x	2	350	300	0,05					
	25	1x	2,5	350	300	0,05					
	25	1x	400	300	300	0,05					
Amelogenin	25	1x	3	300	300	0,05	37°C, 10 min		Weibl.: unverd., 1:10, 1:40, 1:160, 1:640 Männl.: unverd., 1:10		
							95°C, 10 min				
							95°C, 15 sec 58°C, 40 sec 60°C, 20 sec	50 x			

## 8.4 ALLELFREQUENZEN FÜR DIE BERECHNUNG MÖGLICHER VERWANDTSCHAFTSVERHÄLTNISSE

**Tabelle A 5 Allelfrequenzen für die Berechnung möglicher Verwandtschaftsverhältnisse.** Die Frequenzen wurden der ALLST\*R Autosomal Database for short tandem repeats der Qualitytype GmbH entnommen; Quelle: <http://allstr.de>

<b>TH01</b>																
Allel	5	6	7	8	9	9.3	10	11								
Frequenz	0,0027	0,2234	0,1604	0,1131	0,1655	0,3174	0,0172	0,0003								
<b>D3S1358</b>																
Allel	11	11.2	12	13	14	15	16	17	18	19	20					
Frequenz	0,0011	0,0001	0,0004	0,0064	0,1162	0,2507	0,2401	0,2144	0,1573	0,0122	0,0013					
<b>D8S1179</b>																
Allel	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18					
Frequenz	0,0170	0,0110	0,0860	0,0780	0,1370	0,3210	0,2130	0,0950	0,0360	0,0050	0,0010					
<b>FGA</b>																
Allel	18	18.2	19	19.2	20	20.2	21	22	23	24	25	26	27	27.2	28	
Frequenz	0,0111	0,0003	0,0690	0,0003	0,1358	0,0006	0,1747	0,1957	0,1378	0,1314	0,0843	0,0295	0,0061	0,0006	0,0009	
<b>vWA</b>																
Allel	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21						
Frequenz	0,0003	0,0010	0,0851	0,1141	0,2208	0,2776	0,2071	0,0854	0,0080	0,0003						
<b>D18S51</b>																
Allel	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	26
Frequenz	0,0095	0,0191	0,1340	0,1296	0,1613	0,1478	0,1367	0,1121	0,0705	0,0400	0,0222	0,0099	0,0057	0,0015	0,0005	0,0001
<b>D21S11</b>																
Allel	26	27	28	29	29.2	30	30.2	31	31.2	32	32.2	33	33.2	34.2	35.2	
Frequenz	0,0060	0,0210	0,1760	0,2220	0,0010	0,2270	0,0480	0,0530	0,1080	0,0130	0,0780	0,0030	0,0400	0,0030	0,0010	

## 8.5 TABELLARISCHE AUFLISTUNGEN DER VERWENDETEN SCHUTZKLEIDUNG, GERÄTE, VERBRAUCHSMATERIALIEN UND CHEMIKALIEN

**Tabelle A 6 Tabellarische Auflistung der Schutzkleidung, die während der Bearbeitung der alten Proben in den Laboren getragen wurde.**

Material	Bezeichnung/Spezifikation	Hersteller
Armstulpen	Armstulpen, PP/PE	VWR International GmbH
Haarnetze	Haarschutzhauben, PP	VWR International GmbH
Haarnetze	Haarhauben, PP	Carl Roth GmbH & Co. KG
Handschuhe	Latex Rotiprotect puderfrei	Carl Roth GmbH & Co. KG
Handschuhe	neoProtect-Latex-Handschuhe, puderfrei	neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH
Mundschutz	Mundschutz Be Em Visma G	B. Braun Melsungen AG
Mundschutz mit Visier	BioClean Clearview	Nitritex Ltd.
Schutzanzüge	Tyvek Classic Xpert Cat III	E. I. du Pont de Nemours and Company
Überschuhe	Überschuhe, PP	VWR International GmbH
Überstiefel	Sekuroka-Überstiefel	Carl Roth GmbH & Co. KG

**Tabelle A 7 Tabellarische Auflistung aller in dieser Arbeit verwendeten Geräte.**

Gerät/ Material	Bezeichnung	Hersteller
Brutschrank	Brutschrank INE 600	Memmert GmbH & Co. KG
Crosslinker	Biolinker BLX-254	Vilber Lourmat Deutschland GmbH
Heizplatte	Hotplate Stirrer Model L-81	Kisker Biotech GmbH & Co. KG
Luftfilter	UV-Cleaner	Kisker Biotech GmbH & Co. KG
Mahlbecher mit Mahlkugel (Zirkoniumoxid)		Retsch GmbH
Mörser mit Pistill		W. Haldenwanger GmbH & Co. KG
PCR-Arbeitsplatz	PCR Chamber	Plas Labs, Inc.
PCR-Cycler	PxE 0.2 Thermal Cycler	Thermo Fisher Scientific Inc.
PCR-Cycler	peqSTAR 2X	Peqlab Biotechnologie GmbH
Pipetten (1000 µl, 100 µl, 20 µl, 10 µl)	Eppendorf Research	Eppendorf AG
Pipetten (1000 µl, 100 µl, 20 µl, 10 µl, 2 µl)	SL-Pette XE	Süd-Laborbedarf GmbH
qPCR-Cycler	CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System	Bio-Rad Laboratories GmbH
Rollenmischgerät	L005-SLN	Kisker Biotech GmbH & Co. KG
Schwingmühle	MM2	Retsch GmbH
Thermoschüttler	TS-100 ThermoShaker	Peqlab Biotechnologie GmbH
Tischzentrifuge	Perfect Spin 24 Plus	Peqlab Biotechnologie GmbH
Tischzentrifuge	Spectrafuge	neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH
Tischzentrifuge	Sigma 1-15 Microfuge	SciQuip Ltd.
Tischzentrifuge	Sigma 1-14 Microfuge	SciQuip Ltd.
Trennschleifer	Proxxon MM50/E +PX-28515	Proxxon GmbH
UV-Arbeitsplatz	UVC/T-M-AR PCR UV Cabinet	Kisker Biotech GmbH & Co. KG
UV-Arbeitsplatz	Ultraviolet Sterilizing PCR Workstation	Peqlab Biotechnologie GmbH
UV-Lampe	UV-Handlampe VL-115.C	Vilber Lourmat Deutschland GmbH
UV-Lampe	UV-Strahler NU-4 KL	Konrad Benda Laborgeräte
UV-Schränke	UV Cabinet H-NX-1/5	UV Technik GmbH
Vortexer	peqTWIST Vortex Mixer	Peqlab Biotechnologie GmbH
Vortexer	Lab Dancer	IKA-Werke GmbH & Co. KG
Vortexer	Vortex Genie 2	Scientific Industries, Inc.
Waage	440-33	Kern & Sohn GmbH
Zentrifuge	Universal 320	Hettich GmbH & Co. KG

**Tabelle A 8 Auflistung aller Verbrauchsmaterialien, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden.**

<b>Material</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>
Aluminiumfolie	Rotilabo-Aluminiumfolie	Carl Roth GmbH & Co. KG
Falcons, 15 ml	PP-Schraubverschlussröhrchen, 15 ml	Greiner Bio-One GmbH
Falcons, 50 ml	PP-Schraubverschlussröhrchen, 50 ml	Greiner Bio-One GmbH
PCR-Platten	96 Well PCR Platte, farblos, Semi Sub Skirt, High Profile	Biozym Scientific GmbH
Parafilm	Parafilm M	Pechiney Plastic Packaging Company
PCR-Deckel 8er-Streifen	PCR 8er-CapStrips, farblos, gewölbte Deckel	Biozym Scientific GmbH
PCR-Tubes 8er-Streifen	PCR 8er-SoftStrips, 0.2 ml, farblos, High Profile	Biozym Scientific GmbH
PCR-Tubes mit Einzeldeckeln, 8er-Streifen	PCR SingleCap 8er-SoftStrips, 0.2 ml, farblos	Biozym Scientific GmbH
Pipette, 10 ml	Serologische Pipette, 10 ml	Greiner Bio-One GmbH
Pipette, 25 ml	Serologische Pipette, 25 ml	Greiner Bio-One GmbH
Pipette, 50 ml	Serologische Pipette, 50 ml	Greiner Bio-One GmbH
Pipettenspitzen, 1000 µl	Standard UNIVERSAL 100 – 1000 µl	Carl Roth GmbH & Co. KG
Pipettenspitzen, 200 µl	Standard UNIVERSAL 1 – 200 µl	Carl Roth GmbH & Co. KG
Pipettenspitzen, 20 µl	Standard nano-cap 0,1 – 20 µl	Carl Roth GmbH & Co. KG
Pipettenspitzen, gesteckt, 1000 µl	SafeGuard Filterspitzen 1000 µl	Peqlab Biotechnologie GmbH
Pipettenspitzen, gesteckt, 100 µl	SafeGuard Filterspitzen 100 µl	Peqlab Biotechnologie GmbH
Pipettenspitzen, gesteckt, 20 µl	SafeGuard Filterspitzen 20 µl	Peqlab Biotechnologie GmbH
Pipettenspitzen, gesteckt, 10 µl	SafeGuard Filterspitzen 10 µl	Peqlab Biotechnologie GmbH
Probenröhrchen	T406-2 Cultube Sterile Culture Tubes	Simport Scientific Inc.
qPCR-Deckel 8er-Streifen	Optical Flat 8-Cap Strips	Bio-Rad Laboratories GmbH
qPCR-Tubes 8er-Streifen	Low-Profile 0.2 ml 8-Tube Strips without Caps	Bio-Rad Laboratories GmbH
Reaktionsgefäße 0,2 ml	Rotilabo PCR-Reaktionsgefäße 0,2 ml	Carl Roth GmbH & Co. KG
Reaktionsgefäße 1,5 ml (einzeln)	Biopur Safe-Lock 1,5	Eppendorf AG
Reaktionsgefäße 1,5 ml (lose)	Safe-Lock 1,5	Eppendorf AG
Reaktionsgefäße 2,0 ml (einzeln)	Biopur Safe-Lock 2,0	Eppendorf AG
Reaktionsgefäße 2,0 ml (lose)	Safe-Lock 2,0	Eppendorf AG
Zentrifugenkonzentratoren	Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Unit with Ultracel-30 membrane	EMD Millipore Corporation

**Tabelle A 9 Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien.**

Material	Bezeichnung/Spezifikation	Hersteller
AmpliTaQ Polymerase mit Gold-Buffer	AmpliTaQ Gold® DNA Polymerase with Gold Buffer and MgCl <sub>2</sub>	Applied Biosystems
Aufreinigungs-Kit	NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up Kit	Macherey-Nagel
Aufreinigungs-Kit	QIAquick® PCR Purification Kit	QIAGEN
Aufreinigungs-Säulen	NucleoSEQ® Spin columns	Macherey-Nagel
BSA	UltraPure BSA	Ambion, Life Technologies
Chlorreiniger	DanKlorix	Colgate Palmolive GmbH
DNA Away		Molecular Bio-Products, Inc.
dNTPs	dATP, dCTP, dGTP, dUTP; PCR-grade; je 100mM	Roche
dNTPs	dATP, dTTP, dCTP, dGTP, dUTP; ultra-pure; je 100mM	Bioline
EDTA	≥ 99 %, p.a., ACS	Carl Roth GmbH & Co. KG
Ethanol	Ethanol, ≥ 99,5 %, Ph.Eur., reinst	Carl Roth GmbH & Co. KG
Formamid	Hi-Di™ Formamid	Life Technologies Corp.
Größenstandard f. Fragmentlängenanalyse	GeneScan 500 LIZ® Size Standard	Life Technologies Corp.
HCl	Salzsäure, ROTIPURAN® 37 %, p. a., ACS, ISO	Carl Roth GmbH & Co. KG
Minifiler™	AmpF®STR® Minifiler™ PCR Amplification Kit	Applied Biosystems
Multiplex PCR-Mastermix	QIAGEN Multiplex PCR Kit	QIAGEN
NaOCl	12% Cl	Carl Roth GmbH & Co. KG
NaOH	50 %, reinst	Carl Roth GmbH & Co. KG
Proteinase K	PeqGold Proteinase K	Peqlab Biotechnologie GmbH
qPCR-Mastermix	Fast SYBR Green Mastermix (2x)	Life Technologies Corp.
SDS	for molecular biology, ≥ 98.5 %	Sigma-Aldrich Co. LLC.
Sequencing Buffer	BigDye Terminator Sequencing Buffer (5x)	Life Technologies Corp.
Sequencing Mix	BigDye Terminator Sequencing Mix v1.1 (2,5x)	Life Technologies Corp.
TaqMan-Kit	TaqMan® PCR Core Reagents Kit	Applied Biosystems
Tris	TRIS, PUFFERAN® ≥ 99,9 %, p. a.	Carl Roth GmbH & Co. KG
Uracil-N-Glykosylase	UNG AmpErase	Life Technologies Corp.
Uracil-N-Glykosylase	Uracil-DNA Glykosylase, heat-labile	Roche
Wasser	Ampuwa, für Injektionszwecke	Fresenius Kabi Deutschland GmbH
Wasser f. PCR		Mo Bio Laboratories, Inc.
Yfiler®	AmpF®STR® Yfiler® PCR Amplification Kit	Applied Biosystems

## 8.6 AUSFÜHRLICHE AUFLISTUNG DER ERHALTENEN ERGEBNISSE DER VERWANDTSCHAFTSUNTERSUCHUNGEN

### 8.6.1 Ergebnisse der Sequenzierungen der mitochondrialen HVR I

Die Ergebnisse der Sequenzierung der mitochondrialen DNA sind als einzelne Alignments für jedes Individuum in separaten PDF-Dateien gespeichert, die dieser Arbeit in Form einer Daten-CD beiliegen.

### 8.6.2 Ergebnisse der STR-Analysen

**Tabelle A 10 Ergebnisse der Analysen autosomaler STRs der Individuen aus Altenerding.** Aufgelistet sind die bestimmten Allele der einzelnen Reaktionen je Individuum sowie der jeweilige Extrakt, aus dem die Allele amplifiziert werden konnten. „-“ zeigt an, dass kein Allel amplifiziert wurde. Allele, die mit Fragezeichen in Klammern gesetzt wurden waren durch zu kleine Peaks repräsentiert, als dass sie sicher bestimmt werden konnten.

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
AE 96	2	-	-	-	-	2	7, 9.3	15	13, 16	X
	2	-	-	17, 18	-	1	7, 9.3	15, 18	13, 16	X
	1	-	29, 30	18	-	2	7, 9.3	15, 18	13, 16	X
	3	19, 20	29, 30	(17), 18	12, 16					
	3	19, 20	29, 30	(17), 18	12, 16					
AE 97	2	-	-	17, 18	-	2	6, 7	14	13	X
	2	-	29, 30	17, 18	16, 17	1	6, 7	14, 18	13	X
	1	19, 22	29, 30	17, 18	16, 17	2	6, 7	14, 18	13	X
	3	19, 22	29, 30	17, 18	16, 17					
	3	19, 22	29, 30	17, 18	16, 17					
AE 127	2	-	-	17	13	2	6, 9.3	17, 18	14	X
	2	-	-	17	-	1	6, 9.3	17, 18	14	X
	1	-	29, 32.2	17	(8?), 13	2	6, 9.3	17, 18	14	X
	3	22, 25	31.2	17 (16?)	13					
	3	22	32.2	17	13					
AE 128 I	2	-	-	17	-	2	6, 9.3	17	14, 15	XY
	2	-	-	17	-	1	6, 9.3	17	14, 15	XY
	1	21	33.2	16, 17	12, 13	1	6, 9.3	17	14, 15	XY
AE 128 II	2	-	-	14, 17	-	2	9.3	16, 18	13, 14	X
	2	-	-	14, 17	-	1	9.3	16, 18	13, 14	X
	1	-	32.2, (38.2?)	14, 17	13	1	9.3	16, 18	13, 14	X
	3	21, 23	32.2	14, 17	13, 17					

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
	3	21, 23	32.2	14, 17	13, 17					
AE 349	2	-	-	-	-	2	8, 9.3	14, 15	13, 15	X
	2	-	28, 31.2	16, 19	15, (18?)	1	8, 9.3	14, 15	13, 15	X
	1	-	28, 31.2	16, 19	10, 15	1	8, 9.3	14, 15	13, 15	X
	3	20, 22	28, 31.2	16, 19	15, 18					
	3	20, 22	28, 31.2	16, 19	15, 18					
AE 350	2	-	-	-	-	2	6, 9.3	-	13	X
	2	-	-	16, 17	(8?)	1	6, 9.3	15, 17	13	X
	1	-	-	16, 17	10	1	6, 9.3	15	13	X
	3	-	28, 30	(16), 17	14					
	3	22?	28, 30	16, 17	14, 15					
AE 468	2	-	-	-	-	2	(4?), 8	11, 17	11, 16	X
	2	-	31	14, 16	12	1	8	11, 17	16	-
	1	-	-	(12?), 14, 16	12	1	9.3	-	11	-
	3	20	30	14, 16	12, 15					
	3	-	30	12, 14	19					
AE 469	2	-	-	17, 18	-	2	6, 9.3	16, 17	15	XY
	2	-	-	17, 18	(12?)	1	6, 9.3	16	14, 15	XY
	1	23	28	17, 18	15	1	6, 9.3	17	14, 15	Y
	3	23	28, 30	17, 18	12, 15					
	3	(22), 23	30	17, 18	12, 15					
AE 887	2	-	29	18, 19	(15?)	2	6, 9	16, 17	10, 13	XY
	2	-	-	-	-	1	6, 9	16, 17	10, 13	XY
	1	-	-	(17?)	-	1	6, 9	16, 17	10, 13	XY
	3	20, 22	29, 30	18, 19	15, 18					
	3	20, 22	29, 30	18, 19	15, 18					
AE 888	2	-	-	-	-	2	8, 9	18	10	Y
	2	-	-	16, 18	-	1	8, 9	16, 18	10	XY
	1	-	29	16, 18	14	1	8, 9	16, 18	10	-
	3	20, 24	29	16, 18	14, 18					
	3	20, 24	29	16, 18	14, 18					
AE 1004	2	-	-	-	-	2	9.3	17, 18	-	X
	2	-	-	-	-	1	9.3	16, 18	14	-
	1	-	-	(19?)	-	1	6, 9.3	16	14	X

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
	3	21?	28, 29	18?, 19	14.2?, 17					
	3	21, 24	29	18?, 19	17					
AE 1005	2	-	-	-	-	2	6, 10	-	-	Y
	2	-	-	16	-	1	-	-	-	X
	1	-	(38.2?)	-	(21.2?)	1	-	15, 17	-	-
	3	-	34.2?	19, 20	10.2?, 12					
	3	-	-	19, 20	-					
AE 1154	2	-	-	18, 19	-	2	6, 8	15, 16	13	XY
	2	-	-	18, 19	-	1	6, 8	15, 16	13	XY
	1	-	-	18, 19	-	1	6, 8	15, 16	13	XY
	3	19, 20	30	18, 19	13, 14					
	3	19, 20	(29), 30	18, 19	13, 14					
AE 1155	2	-	-	17	-	2	8, 9	14, 15	10	X
	2	-	-	17	-	1	8, 9	14	10	-
	1	-	32	15, 17	(8.3?)	1	8, 9	-	10, 13	-
	3	-	-	14/15	14, 16					
	3	24	-	18	16					
AE 1175	2	-	-	-	-	2	8, 9.3	-	11, 13	X
	2	-	-	14, 17	-	1	8, 9.3	16, 17	11, 13	X
	1	-	28	14, 17	(6.3?)	1	8, 9.3	16, 17	11, 13	X
	3	21, 25	28, 32.2	14, 17	15, 16					
	3	21, 25	28, 32.2	14, 17	15, 16					
AE 1176	2	-	-	17	-	2	9	19	13	-
	2	-	-	17	-	1	9, 9.3	16, 19	13	XY
	1	-	-	17	-	1	9, 9.3	-	13	X
	3	15/16?	-	17	16, 17?					
	3	15?	-	17	13, 16, 17					
AE 1184	2	-	-	14	-	2	7	-	-	Y
	2	-	-	-	-	1	7, 8	-	15	X
	1	-	-	-	-	1	7, 8	15	12, 15	Y
	3	-	-	-	Vor 8?					
	3	-	28, 29?	18	14, 18					
AE 1185	2	-	-	-	-	2	8, 9.3	18	13	X
	2	-	-	11	-	1	-	15, 18	-	X
	1	-	-	14	-	1	-	-	12	-

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
AE 1223	3	-	-	14?	-					
	3	-	-	14	-					
	2	-	-	-	-	2	6, 9.3	16, 17	10, 15	X
	2	-	-	17, 18	-	1	6, 9.3	16, 17	10, 15	X
	1	-	-	-	-	1	6, 9.3	17	10	X
	3	20, 24	29, 31	17, 18	12, 14					
AE 1241	3	20, 24	29, 31	17, 18	12, 14					
	2	-	-	-	-	2	6, 9	15, 17	-	X
	2	-	-	18	-	1	6, 9	15, 16	13, 17	X
	1	-	-	18	-	1	6, 9	15, 16	13, 17	X
	3	19	30, 31.2	(17), 18	12, 18					
3	19	30, 31.2	17, 18	12, 18						

**Tabelle A 11 Ergebnisse der Analyse autosomaler STRs der Alzheimer Individuen.** Aufgeführt sind die nach jeder Amplifikation bestimmten Allele und die jeweiligen Extrakte, aus denen die Ergebnisse gewonnen wurden. „-“ zeigt an, dass an dieser Stelle kein Allel amplifiziert werden konnte. Allele, die mit Fragezeichen in Klammern gesetzt wurden, waren durch Peaks repräsentiert, die zu klein für eine sichere Ansprache waren. Bei Individuum A77 zeigte ein Reaktion (grau hinterlegt) eine komplett andere Allelzusammensetzung als die übrigen Reaktionen. Da das Profil dieser Reaktion weder der eines anderen Individuums in der Untersuchung noch der des Bearbeiters entsprach, wurde die Reaktion von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
A 56	2	-	-	-	-	1	8, 9	14	12, 13	X
	1	-	-	17, 18	-	2	8, 9	14, 16	(19?)	X
	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-
A 57	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	2	-	-	10, 15	-
	2	-	-	16, 18	-	2	6, 8	17	13	X
A 58	2	-	-	16	-	1	7, 8	15, 17	11, 14	XY
	1	-	-	-	-	2	7, 8	-	-	-
	2	-	-	-	-	2	7, 8	-	-	-
A 59	2	-	-	-	-	1	6, 8	15	10, 13	XY
	1	-	-	16, 17	-	2	6, 8	11, 16	10, 13	X
	2	-	-	(20?)	-	2	6, 8	15	(9?), 10, (18?)	Y
A 60	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	1	-	32.2	-	-	2	-	-	-	-

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
A 76	2	-	-	17, 18	-	2	8, 9.3	16, 19	13, 14	XY
	2	-	-	-	-	1	8, 9.3	15	13, 14	X
	1	-	-	17	(12.2?)	2	8, 9.3	15	13, 14	X
A 77	2	-	-	17	-	2	8, 9.3	15	13, 14	X
	2	-	-	-	-	1	9, 9.3	14	12	-
	1	-	-	17, 18	-	2	9, 9.3	14	12, 13	X
A 78	2	-	-	-	-	2	8	15, 16	10	X
	2	-	-	-	-	1	-	-	13	-
	1	-	-	14	-	2	-	12, 14	13	X
A 82	2	-	-	-	-	2	7	12	10	-
	2	-	-	-	-	1	6, 8	14	13, 15	X
	1	(20?)	-	16	-	2	6	16	-	-
A 119	2	-	-	-	14, 18	2	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	1	-	-	13	-
	1	-	-	14	-	2	6	14, 17	12, 13	-
A 120	2	-	-	12	-	2	6	15, 17	12, 13	X
	1	-	-	-	-	1	6, 9.3	16, 17	-	X
	1	-	-	14	-	1	-	15	-	-
A 126	2	-	-	-	-	1	6	14, (18?)	13	X
	2	-	-	-	-	1	6, 8	14, 15	12	X
	1	-	-	14, (16?)	-	2	6, 8	-	-	-
	2	-	-	-	-	2	6, 8	14, 15	(7), 13	X

**Tabelle A 12 Auflistung der bestimmaren Allele der Individuen aus Oberschneiding.** Aufgelistet sind jeweils die Allele, die bestimmt werden konnten und die Extrakte, aus denen die Allele amplifiziert werden konnten. „-“ bedeutet, dass an dieser Stelle kein Allel amplifiziert werden konnte. Allele, die mit Fragezeichen in Klammern stehen, waren für eine sichere Ansprache durch zu kleine Peaks repräsentiert.

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
OS 1	2	-	-	-	-	1	6, 7	16	11	X
	1	-	-	-	-	2	6	-	-	-
	2	-	-	-	-	2	6, 7	-	-	-
OS 2	2	-	-	-	-	1	6, 7	14, 16, 17	11, 14	X
	1	-	-	11	-	2	7	14, 17	11, 14	X
	2	-	-	-	-	2	6, 7	-	11	XY

OS 3	2	-	-	-	-	1	6, 9	-	-	-
	1	-	-	16, (20.2?)	-	2	6	-	-	-
	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-

**Tabelle A 13 | Ergebnisse der Bestimmung der autosomalen STRs der Individuen aus den Tuffplattengräbern.** Aufgeführt sind die aus den jeweiligen Extrakten bestimmbaren Allele. „-“ bedeutet, dass an dieser Stelle kein Allel amplifiziert werden konnte. Allele, die mit Fragezeichen in Klammern stehen, waren für eine sichere Ansprache durch zu kleine Peaks repräsentiert.

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
SD 200	1	17, 25	(29.2, 32.2)	14, 16	16	1	8, 9.3	14, 17	13?	X
	2	24, 25	-	16, 18	15, 16	1	8	14, 16	12, 13	X
	1	25	-	16, 18	16	2	8, 9.3	14, 16?, 17	12?, 13	X
SD 208	1	22, 24	31.2, (33.2)	16, 18	18, 20	1	6, 9.3	14, 17	12, 13	XY
	2	22, 24	-	16, 18	18, 20	2	6?, 9.3	14	-	(XY?)
	1	22, 24	31.2, 33.2	16, 18	18, 20	1	6, 9.3	14, 17	12, 13?	XY
SD 212	1	22, 25	29, 31.2	17, 18	16, 20	1	6, 8	14, 15	12	XY
	2	22, 25	(29.2?), 31.2	17, 18	16, 20	1	6, 8	14, 15	12	X (Y)
	1	22, 25	29, 31.2	(17), 18	16, 20	2	6, 8	14, 15	12	X
SD 217	1	21, 22	28, 32.2	15, 18	17, 18	1	9, 9.3	16, 18	14	XY
	2	21, 22	28, 32.2	15, 18	17, 18	1	9, 9.3	18	6?, 15?	XY
	1	21, 22	28, 32.2	15, 18	17, 18	2	9, 9.3	12, 16, 18	8, 14, 15	XY
HE 9	1	21, 24	29, 31.2	15, 16	16, 17	1	7, 9.3	17	(7?), 9	XY
	2	24	(29, 31.2?)	15, 16	(16), 17	1	7, 9.3	17	12, 14	XY
	1	21, 24	29, 31.2	16	16, 17	2	7, 9.3	17	12	XY
HE 10/1	1	21, 22	29, (31?)	17, 18	13, 15	1	6, 9.3	17	10, 11	XY
	2	22	29, 31	17, 18	13, 15	1	6, 9.3	(12/13), 14, 17	15, 16	XY
	1	21, 22	29, 31	13, 15	12?, 15	2	6, 9.3	(10?), (16?), 17	15	XY
HE 10/3	1	22	29, 31	16, 17	12	1	6, 8	16	15, 16?	XY
	2	21, 22	31	16, 17	12	2	6?, 8	16	15, 16	XY
	1	21, 22	29, 31	16, 17, 18?	12	1	6, 8	16	15, 16	XY
HE 10/4	1	20??, 23?	-	16, 17	15, 17	1	7, 9.3	(17?)	12?	XY
	2	21, 23	(33.2)	16, 17	15, 17	1	7, 9.3	17	12	XY
	1	21, 23	29	16, 17	15, 17	2	7, 9.3	10?, 17	12	X (Y)
WB 20/1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-

Individuum	Extrakt	Set 1				Set 2				
		FGA	D21S11	vWA	D18S51	Extrakt	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelogenin
WB 20/2	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	1	23, 24	30, 31	18	13, 18	1	6, 8	15, 17	13, 14	X
WB 20/3	2	(21?), 23	-	16, 18	13, 18	2	6, 8	15	(13)	XY
	1	26	30	16, 18	13, 18	1	6, 8	15/16, 17	7?, 13	XY
	1	24	-	14, 18	15?, 18	1	(5?), 9.3	16, 18	(9, 10?)	-
WB 20/4		Kein Extrakt mehr					Kein Extrakt mehr			
	1	21, 23	27, 30	16, 17	14, 18	1	6, 9.3	16	13	XY
	2	21, 23	27	(16), 17	14, 18	1	6, 9.3	16	13	XY
WB 20/5	1	21, 23	27, 30	17	14, 18	2	6, 9.3	16	(13)	Y
	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-
WB 20/6	1	-	-	18?	-	2	-	-	13?	-
	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-
WB 32	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-
	1	23	34.2	-	14	1	6	(10?), 16	10	Y
	1	23	-	14, 17	17	2	6, 8	16	10, 12??	X
WB 34/1	2	-	-	14, 17	14	1	6?	10, 16	10, 12	Y
	1	-	-	16, 18	14, 18	1	(5.3?), 9.3	16	10?	X
	2	(20?), 22	-	16	14, 18	2	6, 9.3	14, 15	10	Y
WB 34/2	1	-	-	18	14	1	6	16	10	-
	1	19?, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	2	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
	2	19?, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	2	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
WB 34/A	2	(19), 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	2	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
	1	19?, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	1	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
	2	19?, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	2	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
WB 34/B	1	19?, 20	29, 32.2	16, 18	17, 19	1	8, 9.3	15, 16	10, 13	XY
	1	23, 25	28, 29	17, 18	16, 21	1	6, 9.3	15, 16	13, 15	X
	2	23, 25	28, 29	16, 18	16, 21	2	6, 9.3	15, 16	13, 15	X
WB 34/C	1	23, 25	28, 29	17, 18	16, 21	1	6?, 9.3	15, 16	13, (15)	X
	1	(23?), 24	29	17, 18	12, 15	1	9, 9.3	16, 18	13, 15	XY
	1	24	29	17, 18	12, 15	1	9, 9.3	12, 16	13, 15?	XY
	2	21	29, 32.2?	17, 18	13, 16	2	7, 9.3	11?, 14, 15	12	XY



Individuum	Extraktion	DYS 19	DYS 385	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	Y GATA H4
	2	-	-	-	-	-	-	-	(13?)	14	-	-	-	-	-	-	-
OS 1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OS 2	1	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	15	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OS 3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	(11?)
	2	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SD 208	1	14, (15)	14	12	29	22	10	11	(12), 13	16	10	11	21	14	16	22	11
	1	-	-	12	-	-	10	-	13	16	-	-	-	-	16	22	-
	2	-	-	12	-	-	10	-	13	16	-	-	-	-	16	22	-
SD 212	1	-	-	13	-	24	-	(9)	(12), 13	14	11	-	20	(17)	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	(15?)	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	13	-	-	10?	-	13	15,10?	-	-	-	-	19	25?	-
SD 217	1	-	16	13	((31))	22	10	12	(13), 14	14	10	(11)	21	(14)	16	22	12
	1	-	13	12	-	(25?)	12	-	13	15	-	11	-	14	16	(21?)	12
	2	-	13,17	12	-	-	12	-	13	15	10	10, 11?	-	14	16	21	12
HE 9	1	(14)	11, 14	12	(29)	23	11	(13)	(12, 13)	15	12	(12)	19	16	16	23	(12)
	1	-	11, 14	13	-	23	11	(13)	13	15	12	(12)	19	16	17	23	(12)
	2	-	-	-	-	-	-	-	13	15	-	-	-	-	-	-	-
HE 10/1	1	((15))	14	12	(29)	23	(7), 10	(9)	(12), 13	16	(10)	(11)	(20)	14	15	22	11
	1	-	-	12	-	-	-	-	13	16	-	-	-	-	15	-	-
HE 10/3	1	-	11, 14	12	(29)	23	10	-	(12, 13)	16	(10)	11	-	(14)	(15)	-	11



Individuum	Extraktion	DYS 19	DYS 385	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	Y GATA H4
WB 34/C	1	-	11, 14	13	-	-	11	13	(12), 13	15	12	(11)	17	(15)	16	23	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	19	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(12)
WB 34/D	1	-	11, 14	13	-	24	(8), 10	13	(12), 13	(14), 15	12	(11)	20	(15)	19	23	-
	1	14	11, 14	13	(30)	24	10	(13)	13	15	12	11	20	15	19	23	12
	1	-	-	13	-	-	10	-	13	15	-	-	-	-	19	23	-

### 8.6.3 Ergebnisse der Typisierungen der Bearbeiter

**Tabelle A 15 | Polymorphismen der mitochondrialen HVR I der Bearbeiter.** Es sind die jeweils bestimmten Mutationen im Vergleich zur rCRS (ANDREWS ET AL., 1999) gelistet. Die Haplogruppen wurden mit Hilfe des mtDNAMANagers bestimmt.

Bearbeiter	Polymorphismen	Haplogruppe
1	16179T 16189C 16192T 16270T 16398A	U5b
2	16192T 16256T 16270T	U5a
3	16356C	H1b
4	16093C	H

**Tabelle A 16 | STR-Profile der Bearbeiter.** Aufgeführt sind die STR-Profile aller Bearbeiter, die mit den in dieser Arbeit behandelten Proben in Kontakt gekommen sind. Bearbeiter, die nur mit den Proben aus dem Teilprojekt der genetischen Geschlechtsbestimmung in Kontakt waren, wurden nur mit Hilfe des Minifilers typisiert, Bearbeiter, die nur in die Bearbeitung der Mehrfachgräber involviert waren, wurden nur mit den selbst etablierten STR-Sets typisiert. „-“ kennzeichnet Marker, die für den jeweiligen Bearbeiter nicht bestimmt wurden.

Bearbeiter	FGA	D21S11	vWA	D18S51	TH01	D3S1358	D8S1179	Amelo	D13S317	D7S820	D2S1338	D16S539	CSF1PO
1	20,24	29,30,31	17,18	13,15	6,8	17,18	14,16	XY	8,14	9,11	18,25	11,12	10,11
2	20,22	29,30	14,17	14,19	9.3,9.3	16,18	14,14	XY	-	-	-	-	-
3	19,21	31,32.2	-	19,21	-	-	-	XY	9,11	8,10	16,18	11,11	10,10
4	21,24	28,29,29.2	-	12,13	-	-	-	XX	9,11	11,11	18,20	12,12	11,12

**Tabelle A 17 | Y-STR-Profile der männlichen Bearbeiter der Proben.** Dargestellt sind die bestimmten Allele der jeweiligen Y-chromosomalen Marker. Die Bestimmung erfolgte mit dem Yfiler.

Bearbeiter	DYS 19	DYS 385	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	Y GATA H4
1	15	13,17	13	31	23	10	12	12	14	10	9	20	14	15	21	11
2	15	13,14	14	28	23	9	11	13	16	10	11	20	14	14	21	10
3	14	12,14	13	29	24	11	13	13	15	12	11	19	16	18	23	12

### 8.6.4 Ergebnisse der Berechnungen verwandtschaftlicher Verhältnisse mit Familias

Für die Berechnungen wurden die Standardeinstellungen für Familias 3 (EGELAND ET AL., 2000, KLING ET AL., 2014B) benutzt. Alle *likelihood ratios* (LR) sind gegen die Nullhypothese ( $H_0$ ), die besagt, dass die Individuen nicht verwandt sind, skaliert. Der Wert der LR für  $H_0$  ist standardmäßig auf 1 gesetzt. Für alle gezeigten Tabellen gilt, dass die Summe der *posterior probability* (PP) aller getesteten Hypothesen 1 ergibt. Als wahrscheinlichste Hypothese muss diejenige mit der höchsten LR bzw. der höchsten PP gelten. In den nachfolgenden Tabellen sind jeweils die getesteten Hypothesen mit dem zugehörigen Verwandtschaftskoeffizienten sowie die LR und PP.

**Tabelle A 18 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen der Individuen AE 96 und AE 97.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
$H_0$	0	1	0,005
Mutter - Kind	0,5	120,11	0,562
Tante - Kind	0,25	17,37	0,081
Großmutter - Kind	0,25	17,37	0,081
Geschwister	0,5	35,53	0,166
Halbgeschwister	0,25	17,37	0,081
Cousins	0,125	4,97	0,023

**Tabelle A 19 | Berechnung der verwandtschaftlichen Verhältnisse der Individuen AE 127 und AE 128II.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,006
Mutter - Kind	0,5	0	0
Tante - Kind	0,25	32,81	0,210
Großmutter - Kind	0,25	32,81	0,210
Geschwister	0,5	46,21	0,296
Halbgeschwister	0,25	32,81	0,210
Cousins	0,125	10,71	0,069

**Tabelle A 20 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen AE 349 und AE 350.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,178
Mutter - Kind	0,5	0	0
Tante - Kind	0,25	1,10	0,196
Großmutter - Kind	0,25	1,10	0,196
Geschwister	0,5	0,16	0,029
Halbgeschwister	0,25	1,10	0,196
Cousins	0,125	1,15	0,205

**Tabelle A 21 | Berechnete Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen AE 468 und AE 469.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,335
Vater - Kind	0,5	0	0
Großvater - Kind	0,25	0,51	0,172
Halbgeschwister	0,25	0,51	0,172
Cousins	0,125	0,96	0,322

**Tabelle A 22 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen AE 887 und AE 888.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,005
Vater - Kind	0,5	162,42	0,830
Halbgeschwister	0,25	25,30	0,129
Cousins	0,125	6,87	0,035

**Tabelle A 23 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen AE 1004 und AE 1005.** Aufgrund der schlechten Erhaltung dieser beiden Proben, konnte nur ein Marker bei beiden Individuen reproduziert werden. Die Berechnung basiert daher auf nur diesem Marker.

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,162
Geschwister	0,5	1,71	0,278
Halbgeschwister	0,25	1,96	0,319
Cousins	0,125	1,48	0,241

**Tabelle A 24 | Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehungen der Individuen AE 1154 und AE 1155.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,584
Vater - Kind	0,5	0	0
Großvater - Kind	0,25	0,10	0,059
Onkel - Kind	0,25	0,10	0,059
Halbgeschwister	0,25	0,10	0,059
Cousins	0,125	0,41	0,241

**Tabelle A 25 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen AE 1175 und AE 1176.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,303
Halbgeschwister	0,25	1,13	0,343
Cousins	0,125	1,17	0,355

**Tabelle A 26 | Berechnete Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen AE 1184 und AE 1185.** Bei diesen beiden Individuen war es nicht möglich, einen Marker bei beiden Individuen zu reproduzieren und so eine Überschneidung der beiden STR-Profile herzustellen. Daher kann keinem der getesteten Verhältnisse eine höhere oder niedrigere LR oder PP als der von H<sub>0</sub> zugeordnet werden. Aussagen über eine mögliche Verwandtschaft sind somit mit Hilfe autosomaler STRs nicht zu treffen.

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,25
Geschwister	0,5	1	0,25
Halbgeschwister	0,25	1	0,25
Cousins	0,125	1	0,25

**Tabelle A 27 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen AE 1223 und AE 1241.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,438
Halbgeschwister	0,25	0,30	0,132
Cousins	0,125	0,68	0,299
Tante - Nichte	0,25	0,30	0,132

**Tabelle A 28 | Berechnung der verwandtschaftlichen Verhältnisse der Individuen A 56 und A 58.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,26
Halbgeschwister	0,25	1,61	0,41
Cousins	0,125	1,30	0,33

**Tabelle A 29 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen A 56 und A 59.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,36
Halbgeschwister	0,25	0,80	0,29
Cousins	0,125	0,98	0,35

**Tabelle A 30 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Verhältnisse zwischen den Individuen A 56 und A 76.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,36
Halbgeschwister	0,25	0,80	0,29
Cousins	0,125	0,98	0,35

**Tabelle A 31 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 56 und A 77.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,03
Geschwister	0,5	23,30	0,69
Halbgeschwister	0,25	6,03	0,18
Cousins	0,125	3,27	0,10

**Tabelle A 32 | Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 56 und A 78.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,44
Halbgeschwister	0,25	0,5	0,22
Cousins	0,125	0,75	0,33

**Tabelle A 33 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen A 56 und A 82.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,44
Halbgeschwister	0,25	0,5	0,22
Cousins	0,125	0,75	0,33

**Tabelle A 34 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 58 und A 59.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,26
Halbgeschwister	0,25	1,61	0,41
Cousins	0,125	1,30	0,33

**Tabelle A 35 | Berechnung des verwandtschaftlichen Verhältnisses der Individuen A 76 und A 77.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,57
Halbgeschwister	0,25	0,22	0,13
Cousins	0,125	0,53	0,30

**Tabelle A 36 | Wahrscheinlichkeiten der getesteten verwandtschaftlichen Verhältnisse für die Individuen A 76 und A 78.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,32
Halbgeschwister	0,25	0,64	0,20
Tante - Kind	0,25	0,64	0,20
Cousins	0,125	0,85	0,27

**Tabelle A 37 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen A 76 und A 82.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,36
Halbgeschwister	0,25	0,5	0,18
Tante - Kind	0,25	0,5	0,18
Cousins	0,125	0,75	0,27

**Tabelle A 38 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 77 und A 78.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,43
Vater - Kind	0,5	0	0
Großvater - Kind	0,25	0,25	0,11
Halbgeschwister	0,25	0,25	0,11
Onkel - Kind	0,25	0,25	0,11
Cousins	0,125	0,56	0,24

**Tabelle A 39 | Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 77 und A 82.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,31
Vater - Kind	0,5	0	0
Großvater - Kind	0,25	0,5	0,15
Halbgeschwister	0,25	0,5	0,15
Onkel - Kind	0,25	0,5	0,15
Cousins	0,125	0,75	0,23

**Tabelle A 40 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 78 und A 82.** Bei diesen beiden Individuen war es nicht möglich durch Reproduktion sichere Überschneidungen der beiden STR-Profile zu generieren. Daher ist hier kein verwandtschaftliches wahrscheinlicher oder unwahrscheinlicher als H<sub>0</sub>.

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,25
Geschwister	0,5	1	0,25
Halbgeschwister	0,25	1	0,25
Cousins	0,125	1	0,25

**Tabelle A 41 | Wahrscheinlichkeiten der getesteten verwandtschaftlichen Verhältnisse zwischen den Individuen A 119 und A 120.** Die Berechnung basiert nur auf dem Marker TH01, da dieser Marker als einziger bei beiden Individuen reproduziert werden konnte.

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,05
Mutter-Kind	0,5	4,48	0,22
Geschwister	0,5	7,50	0,37
Halbgeschwister	0,25	2,74	0,13
Tante-Nichte	0,25	2,74	0,13
Cousins	0,125	1,87	0,09

**Tabelle A 42 | Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehung zwischen den Individuen A 119 und A 126.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,25
Mutter-Kind	0,5	0	0
Geschwister	0,5	0,34	0,09
Halbgeschwister	0,25	0,81	0,21
Tante-Nichte	0,25	0,81	0,21
Cousins	0,125	0,98	0,25

**Tabelle A 43 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen A 120 und A 126.** Die Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehung basiert nur auf dem Marker TH01, da dieser Marker als einziger bei beiden Individuen reproduziert werden konnte.

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,11
Mutter-Kind	0,5	2,24	0,24
Geschwister	0,5	1,37	0,15
Halbgeschwister	0,25	1,62	0,18
Tante-Nichte	0,25	1,62	0,18
Cousins	0,125	1,31	0,14

**Tabelle A 44 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen HE 9 und HE 10/4.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,002
Vater-Sohn	0,5	288,84	0,682
Halbgeschwister	0,25	41,17	0,097
Onkel-Neffe	0,25	41,17	0,097
Cousins	0,125	9,87	0,023
Großvater-Enkel	0,25	41,17	0,097

**Tabelle A 45 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen HE 10/1 und HE 10/3.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,045
Geschwister	0,5	7,41	0,335
Vater-Sohn	0,5	0	0
Halbgeschwister	0,25	5,00	0,226
Cousins	0,125	3,68	0,167
Großvater-Enkel	0,25	5,00	0,226

**Tabelle A 46 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen HE 10/1 und HE 10/4.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,150
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	1,97	0,295
Cousins	0,125	1,72	0,259
Großvater-Enkel	0,25	1,97	0,295

**Tabelle A 47 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen HE 10/3 und HE 10/4.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,598
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,12	0,069
Cousins	0,125	0,44	0,264
Großvater-Enkel	0,25	0,12	0,069

**Tabelle A 48 | Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem Individuum HE 10/4 und dem Geschwisterpaar HE 10/1 und HE 10/3.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,162
Vater-Söhne	0,5	0	0
Onkel-Neffen	0,25	2,00	0,325
Großvater-Enkel	0,25	3,16	0,513

**Tabelle A 49 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten Verwandtschaften der Individuen WB 20/2 und WB 20/4.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,067
Großvater-Enkel	0,25	9,79	0,649
Cousins	0,125	4,30	0,285

**Tabelle A 50 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 32.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,459
Geschwister	0,5	0,02	0,010
Halbgeschwister	0,25	0,20	0,093
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	0,20	0,093
Großmutter-Enkel	0,25	0,20	0,093
Cousins	0,125	0,55	0,253

**Tabelle A 51 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 34/1**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,096
Geschwister	0,5	1,70	0,163
Halbgeschwister	0,25	2,01	0,193
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	2,01	0,193
Großvater-Enkel	0,25	2,01	0,193
Cousins	0,125	1,69	0,162

**Tabelle A 52 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 34/A.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,202
Geschwister	0,5	0,27	0,055
Halbgeschwister	0,25	0,86	0,173
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,86	0,173
Großvater-Enkel	0,25	0,86	0,173
Cousins	0,125	1,11	0,225

**Tabelle A 53 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 34/B.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,351
Geschwister	0,5	0,03	0,012
Halbgeschwister	0,25	0,37	0,131
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	0,37	0,131
Großmutter-Enkel	0,25	0,37	0,131
Cousins	0,125	0,69	0,244

**Tabelle A 54 | Berechnung der Wahrscheinlichkeiten für die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 34/C1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,488
Geschwister	0,5	0,01	0,007
Halbgeschwister	0,25	0,18	0,086
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	0,18	0,086
Großmutter-Enkel	0,25	0,18	0,086
Cousins	0,125	0,51	0,247

**Tabelle A 55 | Wahrscheinlichkeitsberechnung für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,462
Geschwister	0,5	0,01	0,006
Halbgeschwister	0,25	0,20	0,093
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	0,20	0,093
Großmutter-Enkel	0,25	0,20	0,093
Cousins	0,125	0,55	0,253

**Tabelle A 56 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/2 und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,100
Geschwister	0,5	1,27	0,128
Halbgeschwister	0,25	2,01	0,201
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	2,01	0,201
Großmutter-Enkel	0,25	2,01	0,201
Cousins	0,125	1,69	0,169

**Tabelle A 57 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/4 und WB 32.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,048
Geschwister	0,5	3,30	0,158
Halbgeschwister	0,25	4,60	0,220
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	4,60	0,220
Großvater-Enkel	0,25	4,60	0,220
Cousins	0,125	2,84	0,138

**Tabelle A 58 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen WB 20/4 und WB 34/1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,054
Geschwister	0,5	8,35	0,455
Halbgeschwister	0,25	2,36	0,129
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	2,36	0,129
Großvater-Enkel	0,25	2,36	0,129
Cousins	0,125	1,92	0,105

**Tabelle A 59 | Berechnung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/4 und WB 34/A.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,432
Geschwister	0,5	0,01	0,005
Halbgeschwister	0,25	0,23	0,102
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,23	0,102
Großvater-Enkel	0,25	0,23	0,102
Cousins	0,125	0,60	0,258

**Tabelle A 60 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/4 und WB 34/B.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,191
Geschwister	0,5	0,20	0,038
Halbgeschwister	0,25	0,96	0,183
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	0,96	0,183
Großmutter-Enkel	0,25	0,96	0,183
Cousins	0,125	1,17	0,224

**Tabelle A 61 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/4 und WB 34/C1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,538
Geschwister	0,5	0,01	0,004
Halbgeschwister	0,25	0,14	0,073
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,14	0,073
Großvater-Enkel	0,25	0,14	0,073
Cousins	0,125	0,44	0,239

**Tabelle A 62 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/4 und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,575
Geschwister	0,5	0,00	0,002
Halbgeschwister	0,25	0,10	0,059
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,10	0,059
Großvater-Enkel	0,25	0,10	0,059
Cousins	0,125	0,43	0,246

**Tabelle A 63 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 20/4 und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,091
Geschwister	0,5	2,70	0,245
Halbgeschwister	0,25	1,82	0,166
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	1,82	0,166
Großvater-Enkel	0,25	1,82	0,166
Cousins	0,125	1,83	0,167

**Tabelle A 64 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 32 und WB 34/1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,080
Geschwister	0,5	1,08	0,086
Halbgeschwister	0,25	2,76	0,220
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	2,76	0,220
Großvater-Enkel	0,25	2,76	0,220
Cousins	0,125	2,16	0,173

**Tabelle A 65 | Berechnete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 32 und WB 34/A.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,338
Geschwister	0,5	0,03	0,012
Halbgeschwister	0,25	0,38	0,127
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,38	0,127
Großvater-Enkel	0,25	0,38	0,127
Cousins	0,125	0,79	0,268

**Tabelle A 66 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 32 und WB 34/B.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,084
Geschwister	0,5	0,64	0,054
Halbgeschwister	0,25	2,74	0,231
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	2,74	0,231
Großvater-Enkel	0,25	2,74	0,231
Cousins	0,125	2,02	0,170

**Tabelle A 67 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 32 und WB 34/C1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,562
Geschwister	0,5	0,01	0,006
Halbgeschwister	0,25	0,12	0,067
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,12	0,067
Großvater-Enkel	0,25	0,12	0,067
Cousins	0,125	0,41	0,231

**Tabelle A 68 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen WB 32 und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,394
Geschwister	0,5	0,02	0,009
Halbgeschwister	0,25	0,28	0,109
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,28	0,109
Großvater-Enkel	0,25	0,28	0,109
Cousins	0,125	0,68	0,270

**Tabelle A 69 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 32 und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,102
Geschwister	0,5	0,35	0,036
Halbgeschwister	0,25	2,13	0,217
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	2,13	0,217
Großvater-Enkel	0,25	2,13	0,217
Cousins	0,125	2,06	0,211

**Tabelle A 70 | Berechnete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/1 und WB 34/A.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,078
Geschwister	0,5	2,11	0,165
Halbgeschwister	0,25	2,54	0,198
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	2,54	0,198
Großvater-Enkel	0,25	2,54	0,198
Cousins	0,125	2,09	0,163

**Tabelle A 71 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/1 und WB 34/B.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,324
Geschwister	0,5	0,16	0,051
Halbgeschwister	0,25	0,40	0,130
Vater-Tochter	0,5	0	0
Onkel-Nichte	0,25	0,40	0,130
Großvater-Enkelin	0,25	0,40	0,130
Cousins	0,125	0,73	0,235

**Tabelle A 72 | Berechnete Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Verhältnisse zwischen den Individuen WB 34/1 und WB 34/C1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,428
Geschwister	0,5	0,03	0,015
Halbgeschwister	0,25	0,25	0,106
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,25	0,106
Großvater-Enkel	0,25	0,25	0,106
Cousins	0,125	0,56	0,240

**Tabelle A 73 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/1 und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,428
Geschwister	0,5	0,03	0,015
Halbgeschwister	0,25	0,25	0,106
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,25	0,106
Großvater-Enkel	0,25	0,25	0,106
Cousins	0,125	0,56	0,240

**Tabelle A 74 | Berechnete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/1 und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,001
Geschwister	0,5	6.787,85	0,942
Halbgeschwister	0,25	46,72	0,006
Vater-Sohn	0,5	264,44	0,037
Onkel-Neffe	0,25	46,72	0,006
Großvater-Enkel	0,25	46,72	0,006
Cousins	0,125	12,12	0,002

**Tabelle A 75 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen der Individuen WB 34/A und WB 34/B.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,356
Geschwister	0,5	0,06	0,021
Halbgeschwister	0,25	0,35	0,126
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,35	0,126
Großvater-Enkel	0,25	0,35	0,126
Cousins	0,125	0,69	0,245

**Tabelle A 76 | Berechnete Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/A und WB 34/C1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,358
Geschwister	0,5	0,03	0,011
Halbgeschwister	0,25	0,36	0,128
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,36	0,128
Großvater-Enkel	0,25	0,36	0,128
Cousins	0,125	0,69	0,249

**Tabelle A 77 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/A und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,355
Geschwister	0,5	0,06	0,022
Halbgeschwister	0,25	0,33	0,120
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,33	0,120
Großvater-Enkel	0,25	0,33	0,120
Cousins	0,125	0,77	0,273

**Tabelle A 78 | Berechnete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/A und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,095
Geschwister	0,5	1,77	0,168
Halbgeschwister	0,25	1,93	0,183
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	1,93	0,183
Großvater-Enkel	0,25	1,93	0,183
Cousins	0,125	1,97	0,187

**Tabelle A 79 | Wahrscheinlichkeiten für die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/B und WB 34/C1.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,136
Geschwister	0,5	1,17	0,159
Halbgeschwister	0,25	1,25	0,170
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	1,25	0,170
Großvater-Enkel	0,25	1,25	0,170
Cousins	0,125	1,43	0,195

**Tabelle A 80 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/B und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,285
Geschwister	0,5	0,10	0,028
Halbgeschwister	0,25	0,52	0,149
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,52	0,149
Großvater-Enkel	0,25	0,52	0,149
Cousins	0,125	0,85	0,241

**Tabelle A 81 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/B und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,145
Geschwister	0,5	0,92	0,133
Halbgeschwister	0,25	1,21	0,175
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	1,21	0,175
Großvater-Enkel	0,25	1,21	0,175
Cousins	0,125	1,36	0,197

**Tabelle A 82 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/C1 und WB 34/C2.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,390
Geschwister	0,5	0,05	0,019
Halbgeschwister	0,25	0,28	0,110
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,28	0,110
Großvater-Enkel	0,25	0,28	0,110
Cousins	0,125	0,67	0,261

**Tabelle A 83 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/C1 und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,556
Geschwister	0,5	0,01	0,005
Halbgeschwister	0,25	0,12	0,069
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,12	0,069
Großvater-Enkel	0,25	0,12	0,069
Cousins	0,125	0,42	0,234

**Tabelle A 84 | Berechnete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen WB 34/C2 und WB 34/D.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,557
Geschwister	0,5	0,01	0,004
Halbgeschwister	0,25	0,12	0,069
Vater-Sohn	0,5	0	0
Onkel-Neffe	0,25	0,12	0,069
Großvater-Enkel	0,25	0,12	0,069
Cousins	0,125	0,42	0,234

**Tabelle A 85 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen SD 200 und SD 208.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,09
Geschwister	0,5	5,09	0,48
Mutter-Sohn	0,5	0	0
Tante-Neffe	0,25	1,45	0,14
Großmutter-Enkel	0,25	1,45	0,14
Cousins	0,125	1,57	0,15

**Tabelle A 86 | Getestete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen SD 200 und SD 212.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,002
Geschwister	0,5	21,28	0,036
Vater-Tochter	0,5	454,85	0,767
Onkel-Nichte	0,25	52,40	0,088
Großvater-Enkelin	0,25	52,40	0,088
Cousins	0,125	10,90	0,018

**Tabelle A 87 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen SD 200 und SD 217.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,695
Onkel-Nichte	0,25	0,06	0,043
Großvater-Enkelin	0,25	0,06	0,043
Cousins	0,125	0,32	0,219

**Tabelle A 88 | Wahrscheinlichkeiten für die getesteten verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen SD 208 und SD 212.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,002
Geschwister	0,5	13,99	0,029
Vater-Sohn	0,5	353,47	0,737
Onkel-Neffe	0,25	49,59	0,103
Großvater-Enkel	0,25	49,59	0,103
Cousins	0,125	11,75	0,025

**Tabelle A 89 | Berechnete verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Individuen SD 208 und SD 217.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,421
Onkel-Neffe	0,25	0,32	0,134
Großvater-Enkel	0,25	0,32	0,134
Cousins	0,125	0,74	0,310

**Tabelle A 90 | Analyse der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Individuen SD 212 und SD 217.**

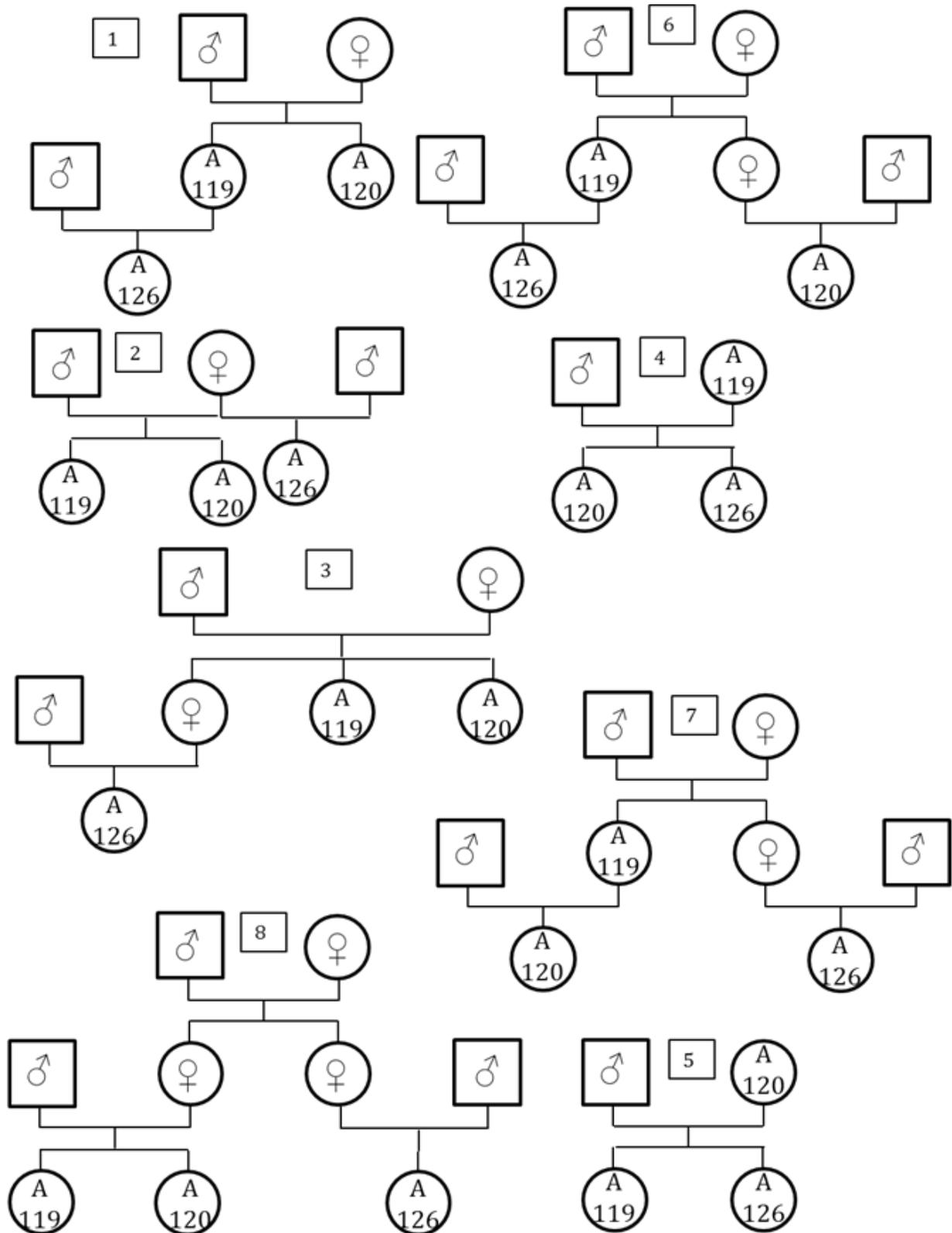
Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,743
Onkel-Neffe	0,25	0,04	0,029
Großvater-Enkel	0,25	0,04	0,029
Cousins	0,125	0,27	0,200

**Tabelle A 91 | Wahrscheinlichkeit für die vermutete Vater-Kind-Beziehung zwischen Individuum SD 212 und dem Geschwisterpaar SD 200 und SD 208.**

Hypothese	Verwandtschaftskoeffizient	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	0	1	0,001
Vater-Kinder		1.344.019,56	0,999

#### 8.6.4 Getestete Stammbäume für Aschheim und Herrsching

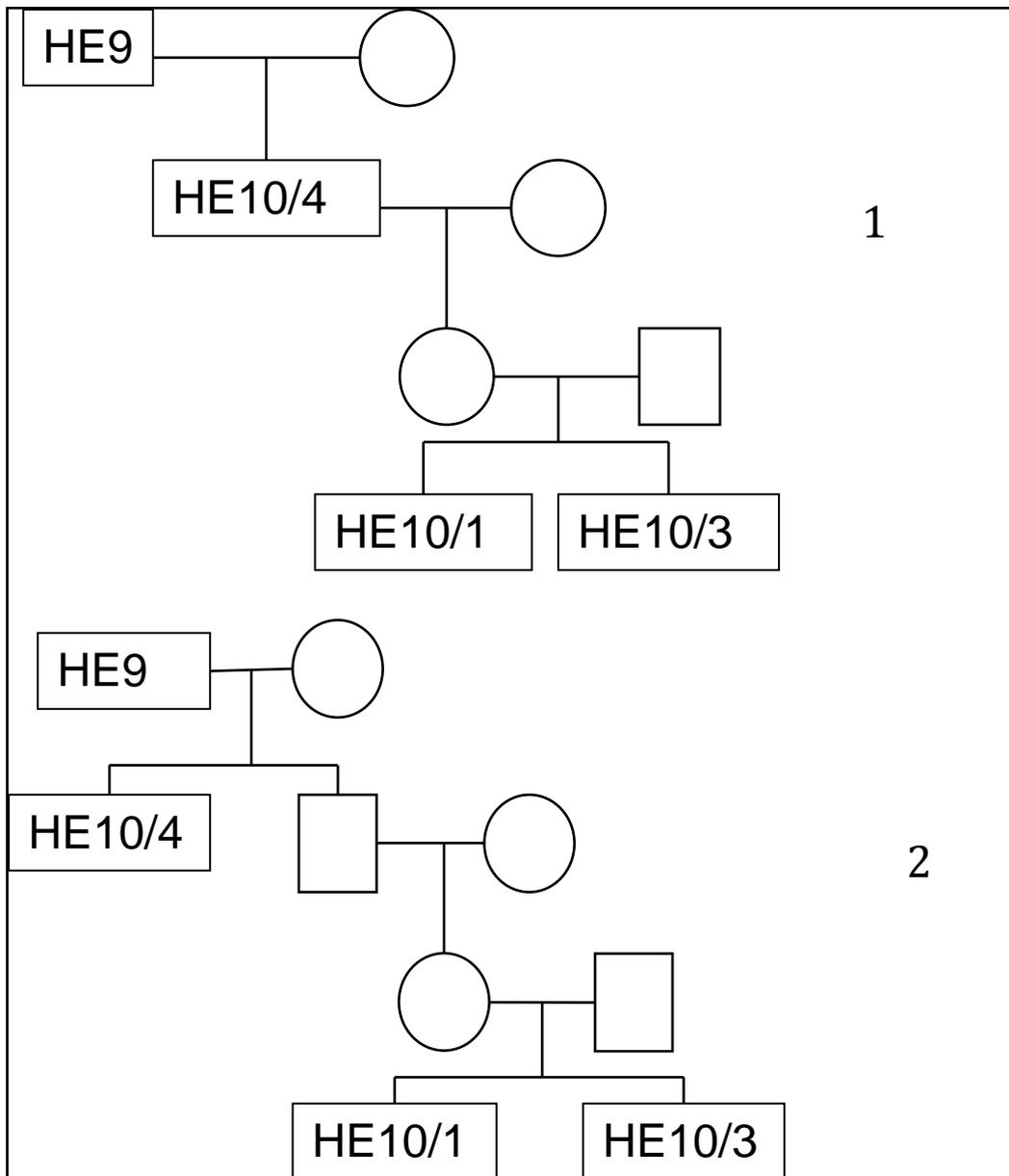
Im Folgenden sind die für die Aschheimer Dreifachbestattung und die beiden Bestattungen aus Herrsching getesteten Stammbäume mit den zugehörigen tabellarischen Auflistungen der Wahrscheinlichkeiten aufgeführt.



**Abbildung A 1 | Getestete Stammbäume für die Individuen aus der Aschheimer Dreifachbestattung.** Die entsprechend berechneten Wahrscheinlichkeiten für die jeweiligen Stammbäume sind in Tabelle A 92 zu finden. Kreise symbolisieren Frauen, Rechtecke symbolisieren Männer.

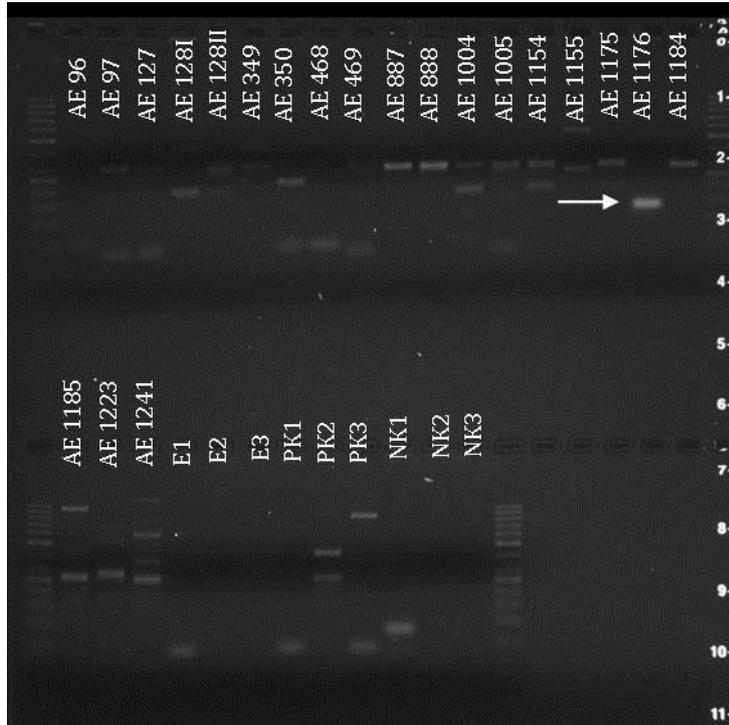
**Tabelle A 92 | Getestete verwandtschaftliche Verhältnisse für die Individuen aus der Dreifachbestattung A 119/ A 120/ A 126 aus Aschheim.** Die entsprechenden Abbildungen zu den Stammbäumen finden sich in Abbildung A 1.

Hypothese	Likelihood Ratio	Posterior Probability
H <sub>0</sub>	1	0,03
Stammbaum 1	0	0
Stammbaum 2	6,49	0,21
Stammbaum 3	6,49	0,21
Stammbaum 4	0	0
Stammbaum 5	5,01	0,17
Stammbaum 6	0	0
Stammbaum 7	3,62	0,16
Stammbaum 8	7,68	0,25

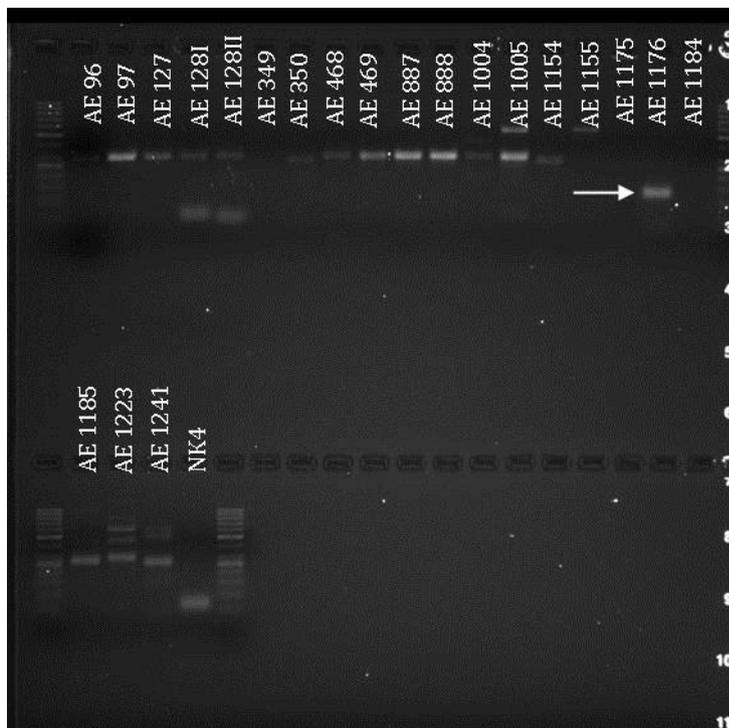


**Abbildung A 2 | Getestete Stammbäume für die verwandtschaftlichen Beziehungen der Individuen aus den Herrschinger Gräbern 9 und 10.** Stammbaum 1 ist mit einer LR von 961,65 (PP: 0,531) wahrscheinlicher als Stammbaum 2 mit einer LR von 847,44 (PP: 0,468). Kreise symbolisieren Frauen, Rechtecke symbolisieren Männer.

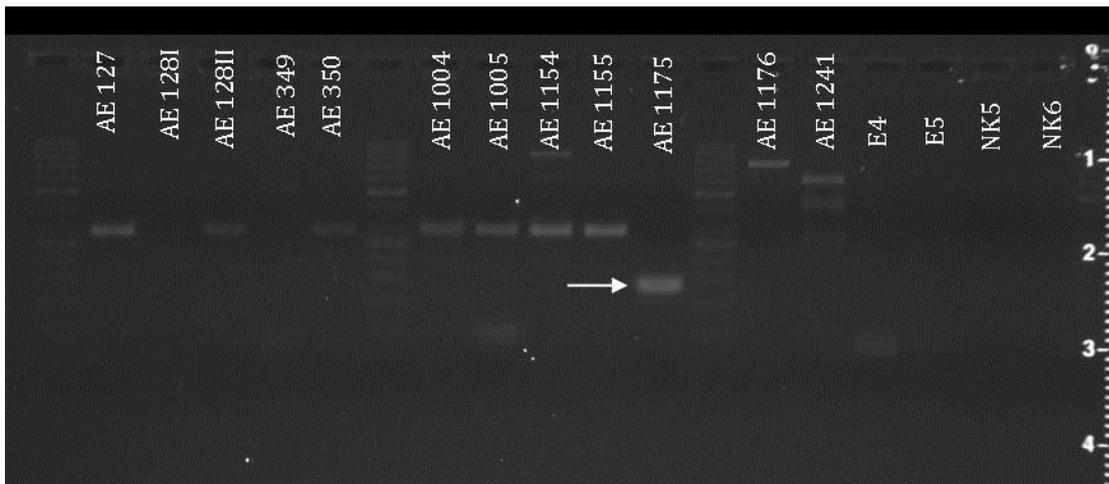
## 8.7 ERGEBNISSE DER SCREENING-PCRS ZUM NACHWEIS VON *Y. PESTIS*



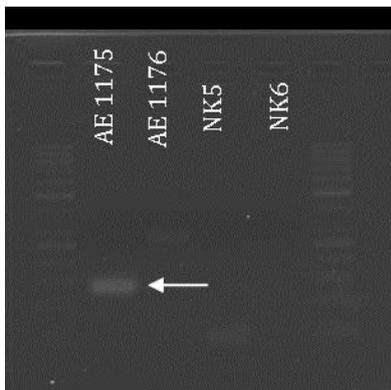
**Abbildung A 3 | Ergebnis der ersten *pla*-spezifischen PCR der ersten Probe der Individuen aus Altenerding.** Lediglich die Probe aus AE 1176 zeigt ein positives Ergebnis (Pfeil). Die Positivkontrollen (positiv getestete Proben aus Seifert et al. 2013) lieferten negative Ergebnisse, da diese vermutlich schon zu lange gelagert wurden. Leiter: GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder (ThermoFisher; Abbildung A 7).



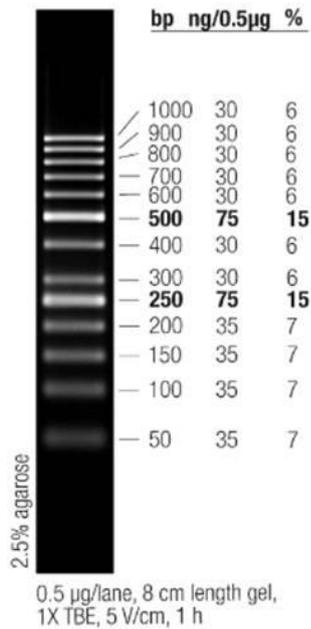
**Abbildung A 4 | Ergebnis der zweiten *pla*-spezifischen PCR der ersten Probe der Individuen aus Altenerding.** Das positive Ergebnis von AE 1176 aus der ersten Runde konnte bestätigt werden (Pfeil). Leiter: GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder (ThermoFisher; Abbildung A 7).



**Abbildung A 5 | Ergebnis der ersten pla-spezifischen PCR der zweiten Probe der Individuen aus Altenerding.** In dieser PCR-Runde wurden lediglich die Individuen aus dem 6. Jahrhundert n. Chr. getestet. Die zweite Probe von AE 1175 zeigte ein positives Resultat (Pfeil), wogegen die zweite Probe von AE 1176 keine Reaktion zeigte. Leiter: GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder (ThermoFisher; Abbildung A 7).



**Abbildung A 6 | Ergebnis der zweiten pla-spezifischen PCR der zweiten Probe der Individuen aus Altenerding.** In dieser Runde wurden lediglich die Proben von AE 1175 und AE 1176 mitgeführt, um eine Verwechslung der beiden Proben in der vorherigen Runde und damit eine falsch-negative Reaktion von AE 1176 auszuschließen. Auch hier zeigte lediglich die Probe von AE 1175 ein positives Ergebnis (Pfeil). Leiter: GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder (ThermoFisher; Abbildung A 7).



**Abbildung A 7 | GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder.** Abbildung verändert nach [https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0013016\\_GeneRuler\\_50bp\\_DNALadder\\_50ug\\_UG.pdf](https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0013016_GeneRuler_50bp_DNALadder_50ug_UG.pdf) (letzter Zugriff: Februar 2016).

## 8.8 IUB NUCLEOTIDE CODES

In der folgenden Tabelle sind die IUB Nucleotide Codes für die Benennung von Mehrfachbasen in einer Nukleotidsequenz zusammengestellt.

**Tabelle A 93 | IUB Nucleotide Codes für die Benennung von Mehrfachbasen in einer Nukleotidsequenz.**

Code	Definition
A	Adenin
C	Cytosin
G	Guanin
T	Thymin
U	Uracil
R	Purin (A oder G)
Y	Pyrimidin (T oder C)
K	Keto (G oder T)
M	Amino (A oder C)
S	Strong (G oder C)
W	Weak (A oder T)
B	Not A (C oder G oder T)
D	Not C (A oder G oder T)
H	Not G (A oder C oder T)
V	Not T (A oder C oder G)
N	Any (A oder C oder G oder T)

## 9 LEBENSLAUF

Name: Andreas Rott  
 Geburtsdatum: 14.10.1985  
 Geburtsort: Fürstenfeldbruck  
 Staatsangehörigkeit: deutsch

### Ausbildung

2005 Abitur, Gymnasium Gröbenzell  
 2006-2011 Studium der Biologie, Ludwig-Maximilians-Universität München  
 2011 Diplom in Biologie
 

- Anthropologie und Humangenetik (Hauptfach)
- Zellbiologie (Nebenfach)
- Molekulare Infektionsbiologie (Nebenfach)
- Diplomarbeit „Migration und Ökologie in einem mittelalterlichen Fernhandelszentrum untersucht anhand stabiler Isotope (Sr, O). Aufstieg und Niedergang des mittelalterlichen Schleswig.“

 Seit 2011 Promotion zum Dr. rer. nat., Ludwig-Maximilians-Universität München

### Auszeichnung

Abiturientenpreis: Karl-von-Frisch-Preis des vdbiol für sehr gute Leistungen im Fach Biologie

### Zivildienst

Juli 2005 Johanniter, Puchheim  
 August 2005 – März 2006 Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der LMU, München

### Berufserfahrung

#### **Seit Juli 2014**

Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München im Rahmen des von der VW-Stiftung geförderten Projektes „Deformierte Schädel – Spuren weiblicher Mobilität und multikultureller Gemeinschaften am Anfang Europas?“. In diesem Rahmen Forschungsaufenthalt an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Anthropologie, AG Paläogenetik, Prof. Burger von **August 2014 – Juli 2015**.

#### **Mai 2014 – Juni 2014**

Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Vor- und Frühgeschichte der LMU München im Rahmen des DFG- Projektes „Ein außergewöhnliches Grab der Frühbronzezeit mit Zinnperlen aus Bayerisch-Schwaben“.

#### **April 2014**

Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München im Rahmen des DFG-Projektes „Degradation von Knochenmaterial: Validierung von stabilen Isotopendaten leichter Elemente gewonnen aus nichtreinem Knochenmaterial“.

#### **Mai 2013 – März 2014**

Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München als Elternzeitvertretung für Dr. Michaela Harbeck (Koordination des aDNA-Labors des ArchaeoBioCenter<sup>LMU</sup>, Betreuung von Masterarbeiten, Abrechnung für DFG-Projekt)

**August 2012 – Mai 2013**

Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München im Rahmen des DFG-Projektes „Degradation von Knochenmaterial: Validierung von stabilen Isotopendaten leichter Elemente gewonnen aus nichtrezentem Knochenmaterial“.

**Juni 2012 – Juli 2012**

Wissenschaftliche Hilfskraft an der Staatssammlung für Anthropologie und Paläoanatomie München

**Februar 2012 – Mai 2012**

Wissenschaftliche Hilfskraft im Labor der Arbeitsgruppe Anthropologie und Umweltgeschichte, Prof. Grupe, Biozentrum der LMU, Department Biologie I.

**Mitgliedschaften**

Seit 2011 Mitglied der Gesellschaft für Anthropologie (GfA)  
Seit 2011 Doktorand im strukturierten Doktorandenprogramm des Archaeobiocenters<sup>LMU</sup>

**Publikationen****Beiträge**

Andreas Rott, Nils Turner, Ulrike Scholz, Kristin von Heyking, Franziska Immler, Joris Peters, Jochen Haberstroh & Michaela Harbeck (2017) **Early medieval stone-lined graves in southern Germany: analysis of an emerging noble class**. American Journal of Physical Anthropology 162: 794-809.

Michal Feldman, Michaela Harbeck, Marcel Keller, Maria A. Spyrou, Andreas Rott, Bernd Trautmann, Holger C. Scholz, Bernd Pfüffgen, Joris Peters, Michael McCormick, Kirsten Bos, Alexander Herbig & Johannes Krause (2016): **A high-coverage Yersinia pestis genome from a 6th-century Justinianic Plague victim**. Molecular Biology and Evolution 33: 2911-2923.

Marcel Keller, Birgit Regner-Kamlah, Andreas Rott, Nadja Hoke, & Joachim Wahl (im Druck): **Gräber und Menschenknochen im Michelsberger Erdwerk von Bruchsal „Aue“: Archäologie – Anthropologie – Paläogenetik – Archäometrie**. Fundberichte aus Baden-Württemberg 36.

Marcel Keller, Andreas Rott, Nadja Hoke, Heiner Schwarzberg, Birgit Regner-Kamlah, Michaela Harbeck & Joachim Wahl (2015): **United in death – related by blood? Genetic and archaeometric analyses of skeletal remains from the Neolithic earthwork Bruchsal-Aue**. American Journal of Physical Anthropology 157:458-471.

Tobias Gärtner, Brigitte Haas-Gebhard, Michaela Harbeck, Franziska Immler & Andreas Rott (2014): **Frühmittelalterliche Frauen in Waffen? Divergenzen zwischen der archäologischen und anthropologischen Geschlechtsansprache**. Bayerische Vorgeschichtsblätter 79:219-240.

Andreas Rott & Michaela Harbeck (2014): **Untersuchung der verwandtschaftlichen Beziehung der Individuen der Ergoldinger Mehrfachbestattung 187**. In: Koch, H. (Hrsg.), Frühmittelalterliche Adelsgräber aus Ergolding. Büchenbach: Verlag Dr. Faustus.

Gisela Grupe, Andreas Rott, Claus von Carnap-Bornheim & Frank Söllner: **Isotope Studies at Viking Haithabu and Environs**. Eingereicht.

**Vorträge**

Andreas Rott, Nils Turner, Marcel Keller, Gisela Grupe & Michaela Harbeck: **Early medieval multiple burials – families united in death?** “Evolutionary and modern challenges to Homo sapiens – An anthropological inquiry”, 11th Meeting of the Society of Anthropology, 15. – 18.09.2015, München.

Andreas Rott, Marcel Keller & Michaela Harbeck: **Das Reihengräberfeld von Altenerding-Klettham. Verwandtschaftliche Beziehungen in Mehrfachbestattungen und Pestnachweis.** „Erding im ersten Jahrtausend. Neues aus dem altbekannten Reihengräberfeld von Altenerding/ Klettham“, 2. Archäologisches Sommersymposium im Museum Erding, 10.07.2015, Museum Erding, Erding.

Andreas Rott, Marcel Keller & Michaela Harbeck: **Von Mehrfachbestattungen und Pest. Neue Forschungen zur Anthropologie im Reihengräberfeld von Altenerding-Klettham.** 104. Kolloquium der AG Frühgeschichtliche Archäologie des Mannheimer Altertumsvereins von 1859/ Tagung 2015 der AG Spätantike und Frühmittelalter „Reihengräber – nutzen wir doch die Quellenfülle!“. 17.-20.02.2015, Reiss-Engelhorn-Museen, Mannheim.

Michaela Harbeck, Marcel Keller & Andreas Rott: **Von Mehrfachbestattungen und Pest. Neue Forschungen zur Anthropologie im Reihengräberfeld von Altenerding-Klettham.** 1. Archäologisches Sommer-Symposium im Museum Erding. 19.07.2014, Erding.

Gisela Grupe, Michaela Harbeck, Andreas Rott: **Small burial sites on the early Baiuvarian territory: Representative of social elites?** 19<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association of Archaeologists. 04. – 08.09.2013, Pilsen, Tschechische Republik.

Andreas Rott, Annika Wisnowsky, Ramona Schleuder & Michaela Harbeck: **Möglichkeiten und Grenzen molekularer Verwandtschaftsanalysen am Beispiel frühmittelalterlicher Bestattungsplätze.** Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Ur- und Frühgeschichte „Archäologie und Paläogenetik“. 09. – 12.05.2013, Erlangen.

Marina Vohberger & Andreas Rott: **Du bist, wo du isst. Der Einfluss der Ernährung auf die <sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr-Isotopie.** APPA Workshop 03./ 04.11.2012, Tübingen. (geteilter Vortrag mit Dr. Marina Vohberger)

Andreas Rott, Marina Vohberger, Joris Peters, Claus von Carnap-Bornheim, Frank Söllner & Gisela Grupe: **Migration in der mittelalterlichen Fernhandelssiedlung Schleswig nachgewiesen anhand stabiler Strontium- und Sauerstoffisotope.** Fachschaftskolloquium der Fachschaft für Vor- und Frühgeschichtliche Archäologie und Provinzialrömische Archäologie der LMU München, 21./ 22. April 2012.

Andreas Rott, Marina Vohberger, Joris Peters, Claus von Carnap-Bornheim & Gisela Grupe: **Migration, diet, economy and changing environments at Viking Haithabu and medieval Schleswig: Isotopic evidence, isotopic mixing muddles, and possible solutions.** 9. internationaler Kongress der Gesellschaft für Anthropologie “Der angepasste Mensch. Biological and cultural markers of environmental pressure”. 12. – 16.09.2011, Schleswig.

Gisela Grupe & Andreas Rott: **Diet, economy and changing environments at Viking Haithabu and medieval Schleswig: Isotopic evidence, isotopic mixing muddles and possible solutions.** APPA Workshop “Sickness, Hunger, War and Religion from the Perspective of Archaeology, History and Anthropology” 04./ 05.03.2011, München. (geteilter Vortrag mit Prof. Dr. Gisela Grupe)

**Poster**

Franziska Immler, Andreas Rott, Gisela Grupe, Michaela Harbeck, Brigitte Haas-Gebhard, & Tobias Gärtner: **Women and arms in the Early Medieval times: Morphological and molecular biological sex determination in archaeological/anthropological diverging cases**. 10. internationaler Kongress der Gesellschaft für Anthropologie "Biological Anthropology: Prospects and Perspectives". 02. – 06.09.2013, Bozen, Italien. (Auszeichnung mit dem Posterpreis der GfA).

Marcel Keller, Andreas Rott, Nadja Hoke, Gisela Grupe, Michaela Harbeck & Joachim Wahl: **United in death – related by blood? Genetic and archaeometric analyses of skeletal remains from the Neolithic earthwork Bruchsal-Aue**. 10. internationaler Kongress der Gesellschaft für Anthropologie "Biological Anthropology: Prospects and Perspectives". 02. – 06.09.2013, Bozen, Italien.

Gisela Grupe, Andreas Rott & Frank Söllner: **Provenance studies in archaeology by  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratios in mineralized tissues – potential and pitfalls using the example of Viking Haithabu and medieval Schleswig**. Internationaler Kongress FRAGILE EARTH: Geological Processes from Global to Local Scales, Associated Hazards & Resources. 04. – 07.09.2011, München.

Andreas Rott, Marina Vohberger, Joris Peters, Claus von Carnap-Bornheim, Olaf Nehlich & Gisela Grupe: **Ecological and Economic Changes in Viking Haithabu and Medieval Schleswig - what stable Isotopes tell**. Kolloquium des ArchaeoBioCenters der LMU "Interdisziplinarität als Chance. Vom Studium bis zur Forschungspraxis." 08./ 09.07.2011, München

## 10 DANKSAGUNG

Zu allererst möchte ich mich bei Herrn **PD Dr. Albert Zink** bedanken, der sich bereit erklärt hat, das Erstgutachten für die vorliegende Arbeit zu übernehmen und mich vor allem in der Endphase der vorliegenden Arbeit mit Rat und Tat unterstützt hat.

Weiterer Dank gebührt Herrn **Prof. Dr. Bernd Päffgen**, der das Zweitgutachten für meine Arbeit übernommen hat und diese Arbeit bereits in der Planungsphase maßgeblich unterstützt hat.

Nicht zuletzt seinem Einsatz ist es zu verdanken, dass die Stadt Erding sich bereit erklärt hat, einen Teil der in dieser Arbeit vorgenommenen Analysen im Rahmen des Projekts „Erding im 1. Jahrtausend“ finanziell zu unterstützen.

**Allen weiteren Gutachtern** der Prüfungskommission danke ich ebenfalls für ihre Mühen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Frau **Dr. Michaela Harbeck** bedanken, die das Konzept der vorliegenden Arbeit mit mir erarbeitet hat und mir stets eine wichtige Ansprechpartnerin in methodischen wie auch inhaltlichen Fragen war.

Frau **Prof. Dr. Gisela Grupe** danke ich für die Möglichkeit, die Laborräume der Arbeitsgruppe Historische Anthropologie und Umweltgeschichte für einen Teil der Analysen nutzen zu dürfen. Ebenso danke ich dem ArchaeoBioCenter<sup>LMU</sup> für die Bereitstellung der Räumlichkeiten für die aDNA-Analyse.

Herrn **Dr. Andreas Brachmann** und seinem Team vom Sequenzierservice der LMU danke ich für die Beratung und Unterstützung bei der Etablierung der miniSTR- und TaqMan-Reaktionen.

Darüber hinaus danke ich Herrn **Dr. Jochen Haberstroh** und Frau **Dr. Ulrike Scholz**, die stets ein offenes Ohr hatten, wann immer ich Fragen zur Archäologie der Tuffplattengräber hatte.

Ein weiterer Dank geht an die Mitglieder der AG Historische Anthropologie und Umweltgeschichte. Hier möchte ich zunächst **Franziska Immler, Marcel Keller, Nils Turner** und **Dr. Ingrid Wiechmann** für die stets gute Zusammenarbeit bedanken. Darüber hinaus danke ich **Dr. Marina Vohberger, Nadja Hoke, Dr. Nadine Carlichi-Witjes, Anita Toncala, Dominika Wycisk** und **Sebastian Gruber** für die stete Diskussionsbereitschaft zu jeglicher Thematik. Sie alle haben zu einer angenehmen Arbeitsatmosphäre beigetragen.

Für finanzielle Unterstützung jeweils einiger der durchgeführten Analysen danke ich der Stadt Erding, dem Bayerischen Landesamt für Denkmalpflege sowie „Die Freunde der bayerischen Vor- und Frühgeschichte e.V.“.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei **meiner Familie** bedanken, die mich in jeder Phase dieser Arbeit stets vorbehaltlos unterstützt hat und ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

## **11 ERKLÄRUNG**

Die vorliegende Dissertation wurde von PD Dr. Albert Zink betreut.

Hiermit erkläre ich, dass die Dissertation weder ganz noch in wesentlichen Teilen einer anderen Prüfungskommission vorgelegt worden ist und dass ich weder anderweitig erfolglos eine Dissertation eingereicht, noch mich ohne Erfolg einer Doktorprüfung unterzogen habe.

### **Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere hiermit von Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt habe.

Andreas Rott

München, 08.12.2016