Anuschka Fenner und
Röbbe Wünschiers

15.3 Unterrichtsmaterialien

Material 1: Puzzle zur Genomsequenzierung

Aufgabe 1

Schneide die Textfragmente (Abb. 15.12) aus. Sie entsprechen sozusagen den bei der Genomsequenzierung entstehenden DNA-Fragmenten.

Lege nun die sich überlappenden Fragmente untereinander, sodass der ursprüngliche Satz (das ursprüngliche „Genom“) rekonstruiert wird.

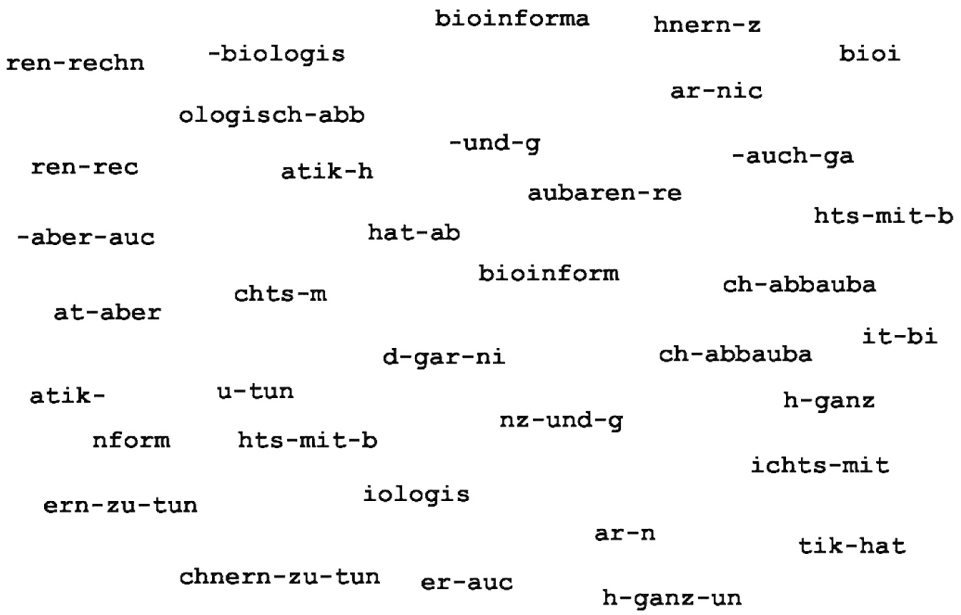


Abb. 15.12 Sequenzierungs-Puzzle

15.3.1 Unterrichtsmaterialien für den 1. Unterrichtsabschnitt

Material 2: Ähnlichkeitsvergleich von Menschenaffen

Aufgabe 2

Führe einen Ähnlichkeitsvergleich der vier Menschenaffen anhand der hier dargestellten Merkmale durch (Tab. 15.1). Erstelle drei Bäume nach dem sogenannten Parsimonie-Prinzip. Welches Lebewesen ist demnach am nächsten verwandt mit dem Menschen?

Tab. 15.1: Ausgewählte Daten zum Vergleich von Menschenaffen

	Merkmals-Nr.	Mensch (M)	Gorilla (G)	Orang-Utan (O)	Schim-panse (S)
Knöchelgang	1	–	+	–	+
Zahnbogen	2	parabolisch	U-förmig	U-förmig	U-förmig
Diastema („Affenlücke“)	3	–	+	+	+
Lage Hinter-hauptsloch	4	zentral	hinten	hinten	hinten
Zahnschmelz-dicke	5	dick	dünn	dick	dünn
Gehirnvolumen (cm^3)	6	1400	506	411	394
Chromosomen-zahl	7	46	48	48	48
Trächtigkeits-dauer (Tage)	8	228	258	264	228
Kindheitsphase (Jahre)	9	6	3	3,5	5

Material 3: Die Geschichte der Hominoiden-Taxonomie

verändert nach: Wikipedia 2010a

Die Geschichte der Hominoiden-Taxonomie erscheint verwirrend und komplex. Die Namen der Untergruppen haben ihre Bedeutung mit der Zeit verändert, da neue Belege durch Entdeckung neuer Fossilien und Vergleiche von Anatomie und DNA das Verständnis der Verwandtschaft unter den Hominoiden veränderte.

Carolus Linnaeus (Carl von Linné) platzierte 1758 die drei Gattungen *Homo*, *Simia* und *Lemur* in die Familie der Primaten. Seine Aufnahme der Menschen in die Gruppe der Primaten zusammen mit den Menschenaffen war für die Leute beunruhigend, welche eine nähere Verwandtschaft zwischen den Menschen und dem Rest des Tierreichs bestritten. Der lutherische Erzbischof beschuldigte ihn der Gottlosigkeit. In einem Brief an Johann Georg Gmelin vom 25. Februar 1747 schrieb Linnaeus: „*It is not pleasing to me that I must place humans among the primates, but man is intimately familiar with himself. Let's not quibble over words. It will be the same to me whatever name is applied. But I desperately seek from you and from the whole world a general difference between men and simians from the principles of Natural History. I certainly know of none. If only someone might tell me one! If I called man a simian or vice versa I would bring together all the theologians against me. Perhaps I ought to, in accordance with the law of Natural History.*“

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

Dementsprechend schlug Johann Friedrich Blumenbach in seiner ersten Edition des „Manual of natural history“ (1779) vor, die Primaten in Quadrumana (Vierhänder) und Bimana (Zweihänder) zu unterteilen. Diese Unterteilung wurde von anderen Naturalisten, vor allem von Georges Cuvier, übernommen. Manche haben diese Unterteilung auf die Ebene einer Ordnung angehoben.

Aber die vielen Affinitäten zwischen Menschen und anderen Primaten, vor allem den Großen Menschenaffen, offenbarten, dass diese Unterteilung wissenschaftlich keinen Sinn machte. Charles Darwin schrieb in „The descent of man“: *„The greater number of naturalists who have taken into consideration the whole structure of man, including his mental faculties, have followed Blumenbach and Cuvier, and have placed man in a separate order, under the title of the Bimana, and therefore on an equality with the orders of the Quadrumana, Carnivora, etc. Recently many of our best naturalists have recurred to the view first propounded by Linnaeus, so remarkable for his sagacity, and have placed man in the same order with the Quadrumana, under the title of the Primates. The justice of this conclusion will be admitted: for in the first place, we must bear in mind the comparative insignificance for classification of the great development of the brain in man, and that the strongly-marked differences between the skulls of man and the Quadrumana (lately insisted upon by Bischoff, Aeby, and others) apparently follow from their differently developed brains. In the second place, we must remember that nearly all the other and more important differences between man and the Quadrumana are manifestly adaptive in their nature, and relate chiefly to the erect position of man; such as the structure of his hand, foot, and pelvis, the curvature of his spine, and the position of his head.“*

Veränderungen in der Taxonomie

a Bis ca. 1960 wurden die Hominoiden (= Hominoidea, Menschenaffen und Mensch) gewöhnlich in zwei Familien eingeteilt: die Menschen und ihre ausgestorbenen Verwandten in die Hominidae, die anderen (Schimpansen, Gorillas, Orang-Utans, Gibbons) in die Pongidae.

b Dann wurden molekularbiologische Techniken auf die Taxonomie der Primaten angewendet. So nutzte beispielsweise Morris Goodman 1964 die Ergebnisse seiner immunbiologischen Studie der Serumproteine, um eine Unterteilung der Hominoiden in drei Familien vorzuschlagen: die Hominidae mit dem Menschen und seinen ausgestorbenen Verwandten, die Pongidae mit den nicht menschlichen Großen Menschenaffen (Schimpanse, Gorilla, Orang-Utan) und die Hylobatidae mit den niedrigeren Affen (*Hylobates* = Gibbons). Allerdings forderte die Trichotomie der Hominoiden-Familien die Wissenschaftler zu der Frage auf, welche der Familien sich zuerst von einem gemeinsamen Vorfahren der Hominoiden abgespalten hat.

c Im weiteren Verlauf bildeten die Gibbons in der Überfamilie der Hominoidea eine Außengruppe. Das heißt, dass der Rest der Hominoiden näher untereinander verwandt ist als mit den Gibbons. Dies führte dazu, die anderen Großen Menschenaffen in die Familie der Hominidae mit dem Menschen zusammen zu platzieren, wobei die Pongidae zu einer Unterfamilie degradiert wurden. Die Familie der Hominidae enthielt nun die beiden Unterfamilien Homininae und Ponginae. Wiederum warf diese Dreiteilung eine analoge Frage auf.

d Vergleiche der Menschen mit allen drei anderen Hominidae-Gattungen zeigten, dass die afrikanischen Menschenaffen und die Menschen näher miteinander verwandt sind als einer von diesen mit den Orang-Utans. Deshalb bilden die Orang-Utans hierzu eine Außengruppe. Die afrikanischen Menschenaffen wurden also in die Unterfamilie der Homininae gruppiert. Diese Klassifikation wurde von Goodman 1974 vorgeschlagen.

e Ein Versuch, die Trichotomie der Homininae aufzulösen, bildet der Vorschlag einiger Autoren, diese Unterfamilie in Triben, die Gorillini und Hominini, zu unterteilen.

f Allerdings brachte der DNA-Vergleich den überzeugenden Beweis, dass in der Unterfamilie der Homininae die Gorillas die Außengruppe darstellen. Das legt nahe, die Schimpansen mit den Menschen zusammen in die Hominini zu gruppieren. Wiederum schlug Goodman diese Klassifikation 1990 vor.

g Später führten DNA-Vergleiche dazu, die Gattung der Gibbons in vier Gattungen, die *Hylobates*, *Hoolock*, *Nomascus* und *Symphalangus*, zu teilen.

Aufgabe 3

Stelle die beschriebenen Veränderungen in der Taxonomie der Hominoiden schrittweise anhand von Skizzen dar.

Aufgabe 4

Beschreibe die Probleme bei der Entwicklung der Taxonomie und begründe diese anhand der Materialien.

Material 4: Chromosomen der Hominiden

Aufgabe 5

Betrachte Abbildung 15.13 und vergleiche die Chromosomenbanden-Muster von Mensch, Schimpanse, Gorilla und Orang-Utan. Kennzeichne in der Abbildung markante Abweichungen beziehungsweise Mutationen. (Kleinere Abweichungen an den Chromosomenenden können vernachlässigt werden.)

Erstelle nun eine Tabelle, in der du die Chromosomennummern und die einzelnen Lebewesen aufführst. Vergebe für Abweichungen beziehungsweise Mutationen bei einem Lebewesen im Vergleich zu den anderen eine „1“, bei einem gleichen Chromosomenmuster eine „0“.

Material 5: Prinzip eines Alignments

Beim Alignieren in der Bioinformatik werden Aminosäure- oder DNA-Sequenzen so ausgerichtet, dass möglichst gleiche beziehungsweise ähnliche Buchstaben (Symbole) untereinander stehen. (Buchstaben gelten als ähnlich, wenn die Aminosäuren, die sie repräsentieren, ähnliche physikochemische Eigenschaften haben.)

Hierbei muss die Reihenfolge der Buchstaben gleich bleiben und jedem Buchstabe der einen Sequenz ist entweder ein Buchstabe der anderen Sequenz oder eine Lücke (*gap*) zuzuordnen. Untereinander stehende Buchstaben können gleich sein, dann spricht man von einem „*match*“ (= Übereinstimmung), oder sie sind unterschiedlich, was als „*mismatch*“ (= Nichtübereinstimmung) bezeichnet wird (Tab. 15.2).

Mit einem Alignment kann eine funktionelle oder evolutionäre Ähnlichkeit untersucht werden. Es werden hierbei also homologe Positionen untereinander angeordnet.

Bei mehreren großen Sequenzen ist das gar nicht so einfach und es gibt mehrere Möglichkeiten, zwei Sequenzen zu alignieren. Um das „beste“ Alignment zu finden, werden die einzelnen Positionen bewertet und aufsummiert. Das Ergebnis bildet dann den sogenannten „Score“ eines Alignments.

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

Tab. 15.2: Bewertungen beim Alignieren

Bezeichnung	Score	untereinander stehende Buchstaben
match	+1	beide Buchstaben sind gleich
mismatch	-1	beide Buchstaben sind verschieden
gap	-2	ein Buchstabe und eine Lücke stehen untereinander

Beispiel: GAC / GC

GAC

G–C

Score = 1+(-2)+1 = 0

Aufgabe 6

Aligniere die folgenden beiden Sequenzpaare. Schreibe hierzu jeweils die beiden Sequenzen untereinander und finde mehrere Möglichkeiten für jedes Sequenzpaar.

- Sequenzpaar 1: CDGCD / CGC
- Sequenzpaar 2: ATGCGTCGGT / ATCCGCGTC

Aufgabe 7

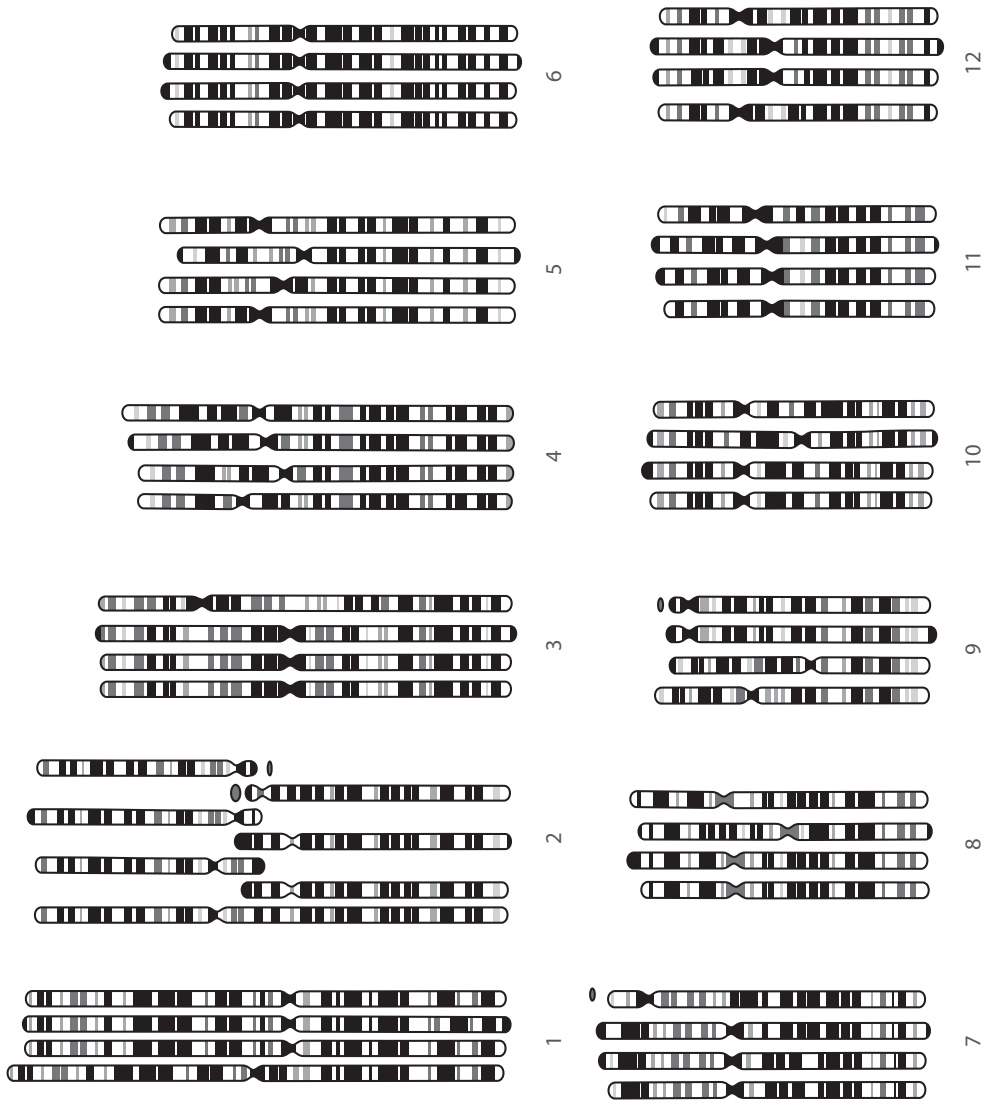
Finde jeweils das beste Alignment, indem du einen Score berechnest.

Material 6: Sequenzvergleiche und Stammbaumerstellung am Beispiel des Cytochrom b

1 Ermittlung der Sequenzen anhand einer Datenbank

DNA-Sequenzen und damit folgend auch Aminosäuresequenzen lassen sich in der NCBI-Datenbank folgendermaßen ermitteln:

- Website des NCBI (National Center for Biotechnology Information) im Internet aufrufen: *http://www.ncbi.nlm.nih.gov/*
- Klick auf „DNA & RNA“ oder „Sequence Analysis“
- Klick auf „GenBank“
- Nun die Nukleotid-Datenbank auswählen und die *Accession-Number** für verschiedene Lebewesen eingeben (Abb. 15.14):
  - J01415: Mensch (*Homo sapiens*)
  - NC_001643: Gemeiner Schimpanse (*Pan troglodytes*)



Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

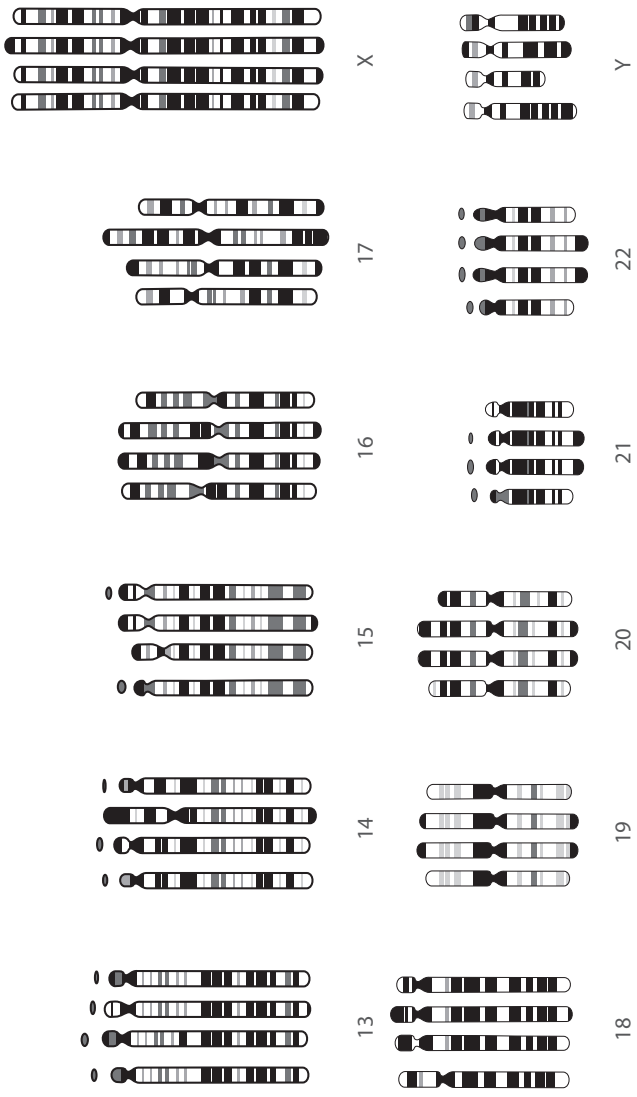


Abb. 15.13 Chromosomen der Hominiden (späte Prophase; nach Yunis und Prakash 1982). Es sind die Chromosomen von Mensch, Schimpanse, Gorilla und Orang-Utan dargestellt (von links nach rechts für jede Nummer). Nr. 2 – links Mensch, je zwei weitere Chromosomenstücke gehören zu den anderen Lebewesen.

- NC_001645: Westlicher Gorilla (*Gorilla gorilla*)
- X97707: Sumatra-Orang-Utan (*Pongo abelii*)

* Wenn eine neue Sequenz in die Datenbank aufgenommen wird, erhält sie einen eindeutigen Zugriffsschlüssel, der aus einem oder zwei Buchstaben und mindestens fünf Ziffern besteht. Diese *Accession-Number* wird nur einmal vergeben und begleitet die Sequenz unverändert.

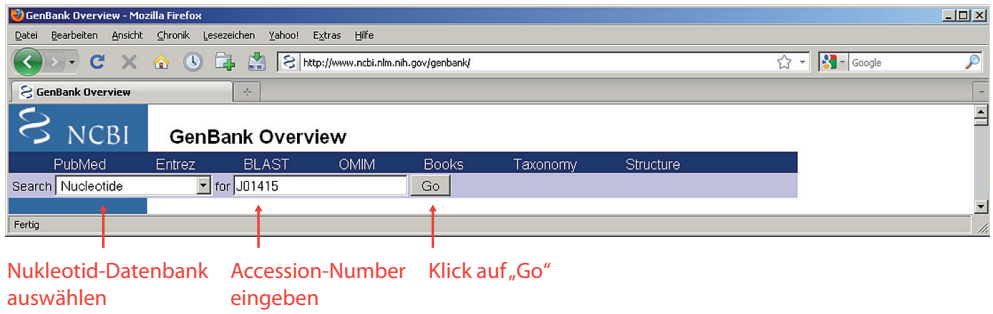


Abb. 15.14 Screenshot 1 – Überblick über die Website des National Center for Biotechnology Information (NCBI), notwendige Angaben

- Die Website stellt sich bei vorheriger Eingabe der *Accession-Number* für den Menschen wie in Abbildung 15.15 dar. Es werden detaillierte Angaben zur Sequenz (Sequenzlänge, Organismus, Autor usw.) und ganz unten die DNA-Sequenz selber angezeigt. Durch Scrollen nach unten lassen sich die Sequenzen einzelner Gene beziehungsweise Proteine (z. B. für Cytochrom b) ermitteln (Abb. 15.16).

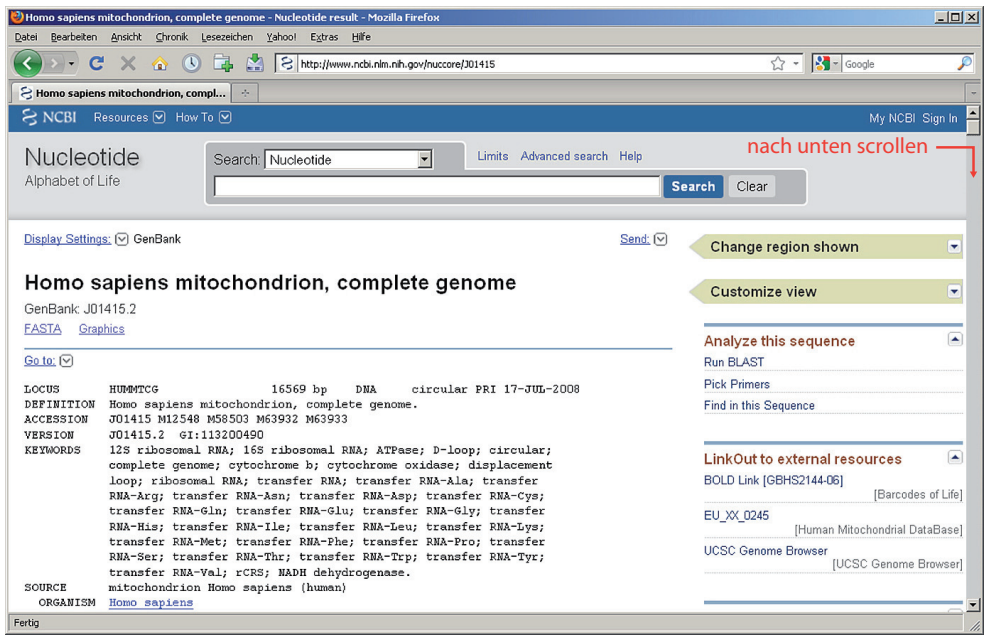


Abb. 15.15 Screenshot 2 - Detaillierte Angaben zur Sequenz der mitchondrialen DNA (mtDNA) des Menschen

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

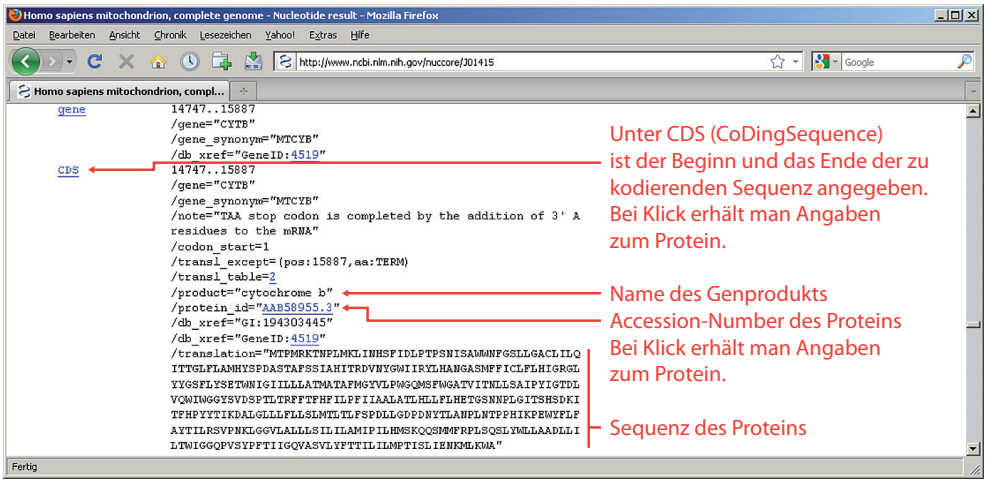


Abb. 15.16 Screenshot 3 – Angaben zur Cytochrom-b-Sequenz

- Nach Klick auf die *Accession-Number* des Proteins (Abb. 15.16) erhält man die entsprechende Aminosäuresequenz. Unter „Display Settings" das Format „FASTA" auswählen (Abb. 15.17).

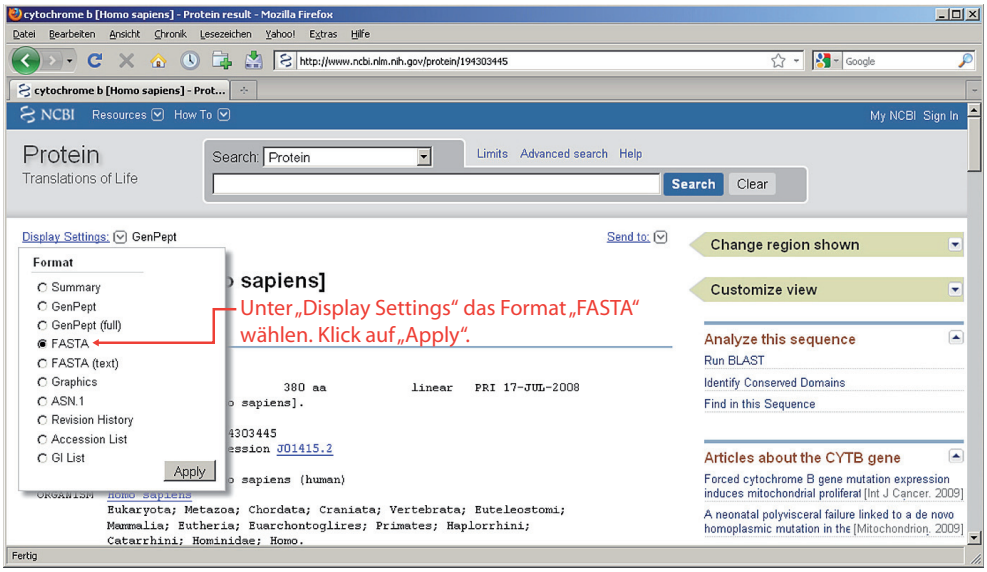


Abb. 15.17 Screenshot 4 – Weiteres Vorgehen zur Ermittlung der Cytochrom-b-Aminosäuresequenz

- Die Aminosäuresequenz kopieren (Abb. 15.18) und speichern. (Um Probleme beim Auswerten der Sequenzen zu vermeiden, diese immer in einen Text-Editor speichern. Ansonsten kann es später zu Fehlermeldungen kommen.

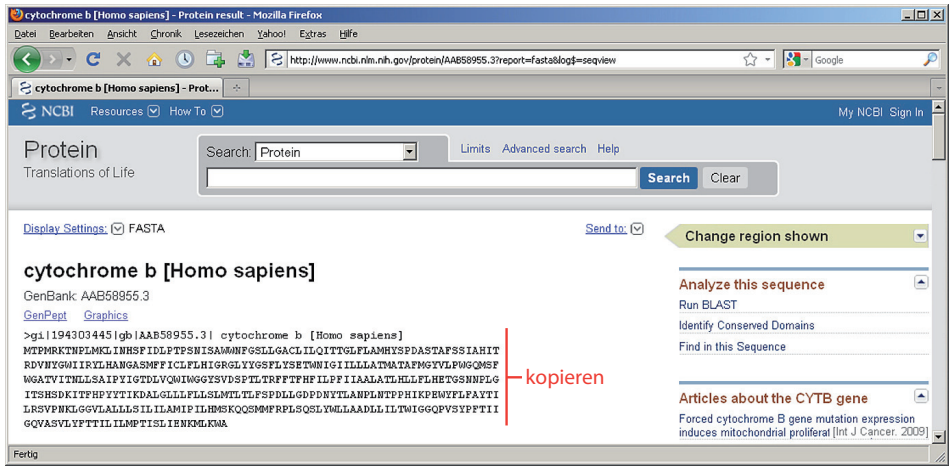


Abb. 15.18 Screenshot 5 – Aminosäuresequenz von Cytochrom b (Mensch)

- Nach der gleichen Vorgehensweise lässt sich auch die DNA-Sequenz für ein Gen (z. B. für Cytochrom b; Abb. 15.19) recherchieren.
  - Klick auf „CDS“ (Abb. 15.16)
  - Als Anzeigeformat „FASTA“ auswählen (Vorgehen Abb. 15.17).
  - DNA-Sequenz kopieren und speichern (Vorgehen Abb. 15.18).

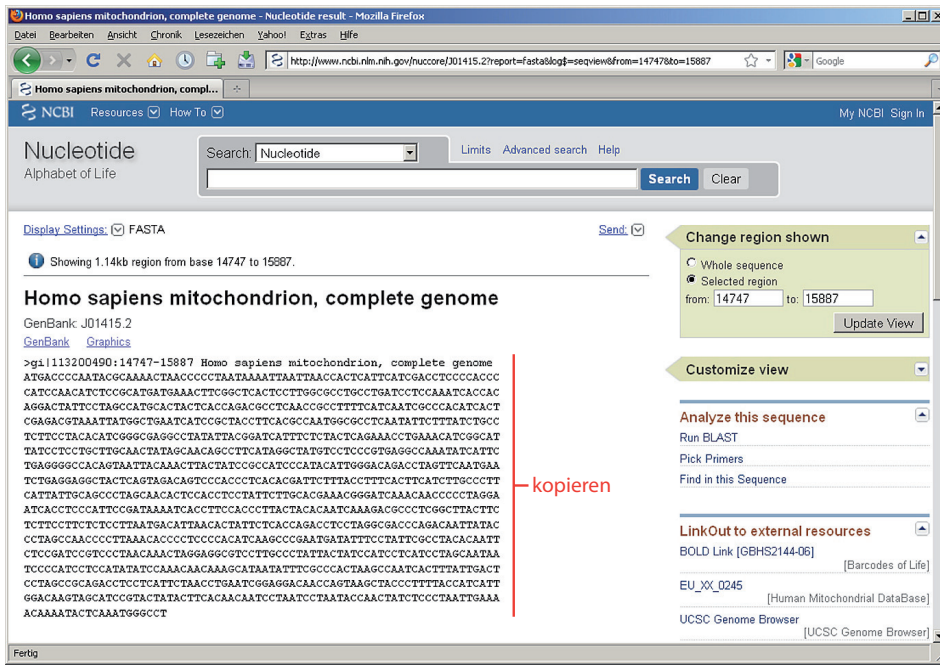


Abb. 15.19 Screenshot 6 – DNA-Sequenz von Cytochrom b (Sequenzpositionen 14747–15887; Mensch)

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

- Die Schritte zur Ermittlung der Aminosäure- und DNA-Sequenzen für ein Protein (z. B. Cytochrom b) für die weiteren drei angegebenen Organismen (Schimpanse, Westlicher Flachlandgorilla, Sumatra-Orang-Utan) wiederholen.

2 Durchführung eines paarweisen Sequenzvergleichs

Anhand der ermittelten Sequenzen lassen sich dann paarweise und multiple Alignments automatisch durchführen.

- Die Website des European Bioinformatics Institute (EBI) aufrufen: *http://www.ebi.ac.uk/*
- Die URL-Adresse erweitern (*http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa*) und unter „Global Alignment", „Needle (EMBOSS)" den Button „Protein" auswählen (Abb. 15.20).

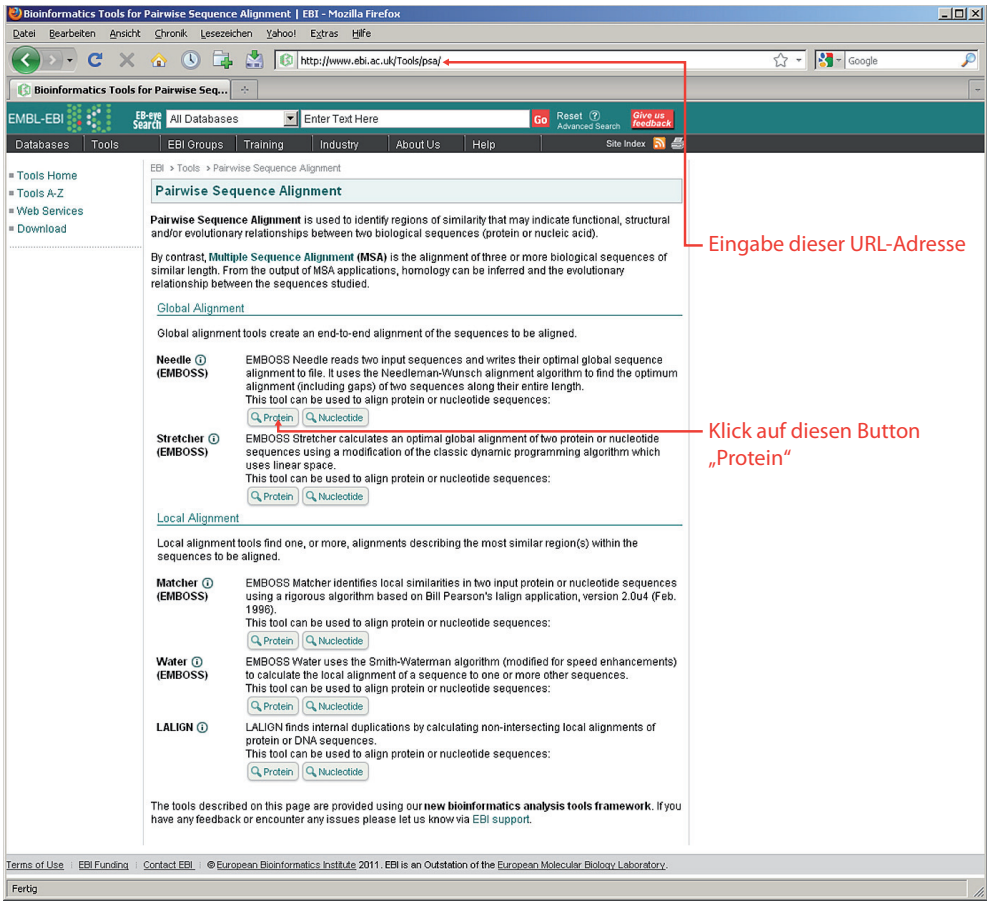


Abb. 15.20 Screenshot 7 – Website des European Bioinformatics Institute (EBI), Vorgehen für paarweises Alignieren von Aminosäuresequenzen

- Nun die zu vergleichenden Sequenzen einfügen (z. B. Aminosäuresequenzen für Mensch und Schimpanse) und das Tool starten (Abb. 15.21).

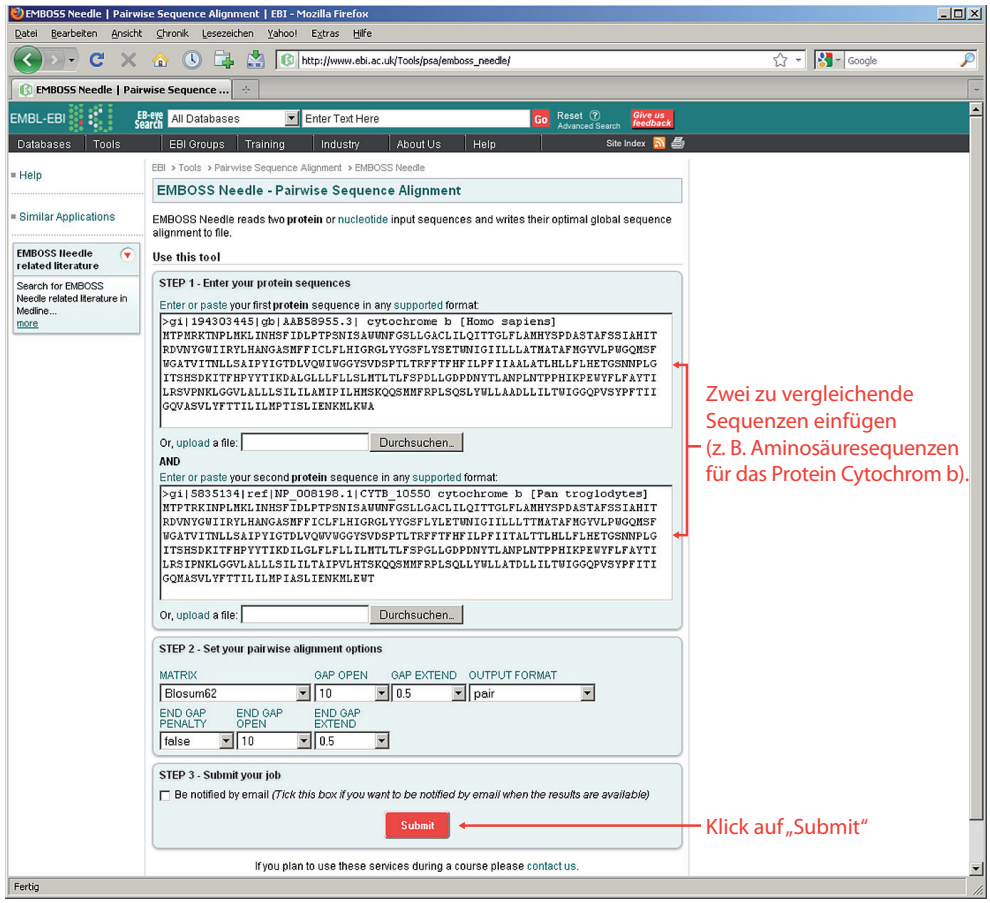


Abb. 15.21 Screenshot 8 – Eingabe der Cytochrom-b-Aminosäuresequenzen von Mensch und Schimpanse in das EBI-Softwaretool

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

- Die Sequenzen werden durch ein paarweises Alignment verglichen. Angaben hierzu sowie das Alignment selbst werden angezeigt (Abb. 15.22).

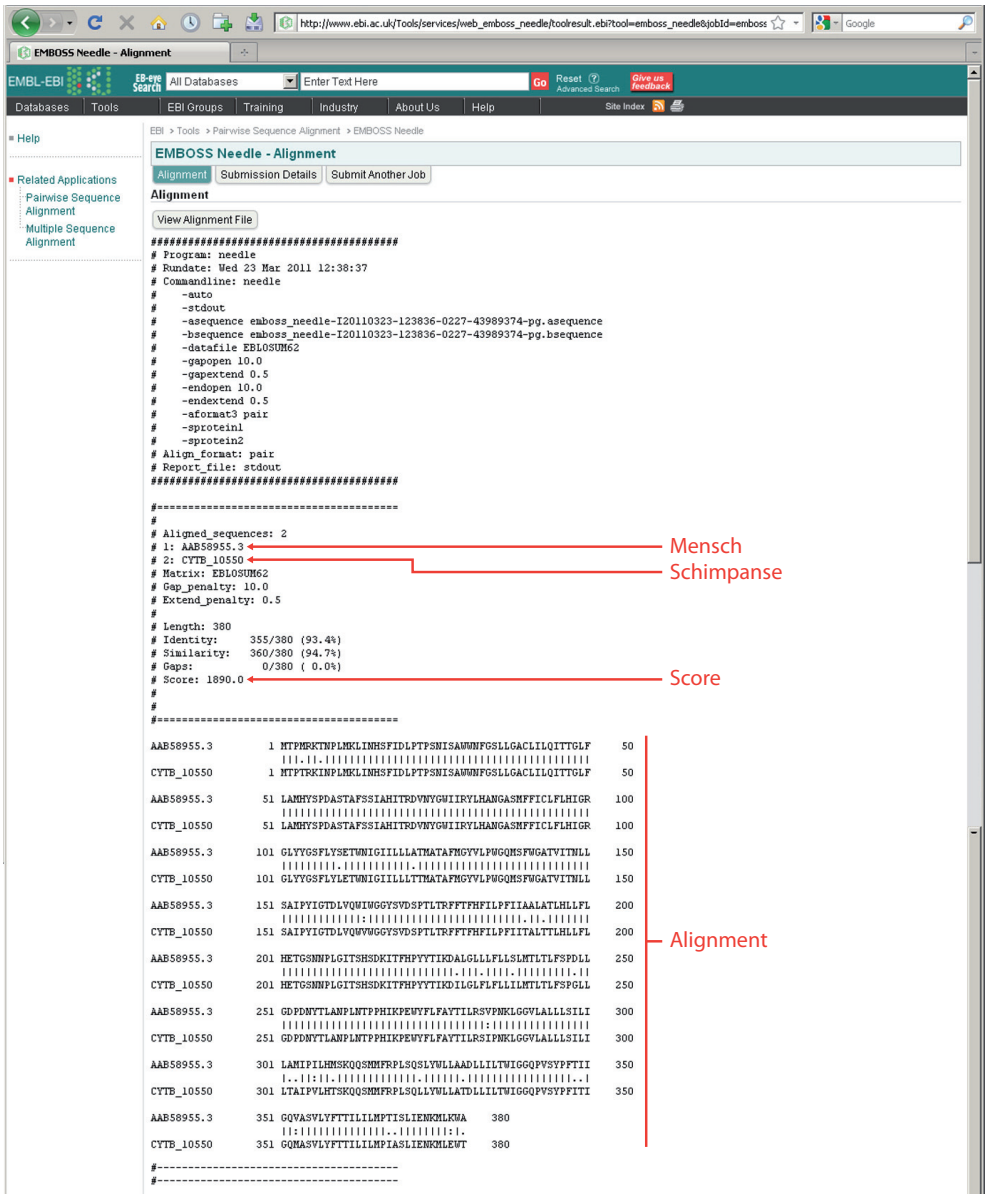


Abb. 15.22 Screenshot 9 – Ergebnis eines paarweisen Vergleichs (Alignment) der Cytochrom-b-Aminosäuresequenzen von Mensch und Schimpanse

Aufgabe 8

Vergleiche die Aminosäure- und DNA-Sequenzen für das Protein Cytochrom b für die vier Lebewesen Mensch, Schimpanse, Gorilla und Orang-Utan. Trage deine Ergebnisse in Tabelle 15.3 ein.

Tab. 15.3: Vergleich der Aminosäure- und DNA-Sequenzen des Cytochrom b von vier Lebewesen

		Anzahl Aminosäureunterschiede in der Aminosäuresequenz (Gesamtlänge: _____ Aminosäuren)			
Anzahl Basenunterschiede in der DNA-Sequenz (Gesamtlänge: ___ Basenpaare)		Mensch	Schimpanse	Gorilla	Orang-Utan
	Mensch				
	Schimpanse				
	Gorilla				
	Orang-Utan				

3 Erstellen eines Stammbaums anhand der ermittelten Sequenzunterschiede

Methoden zur Erstellung eines Stammbaums. Es gibt drei Methoden, nach denen Stammbäume erstellt werden.

Die erste ist die Maximum-Parsimonie-Methode, nach welcher angenommen wird, dass die Evolution auf dem Weg der geringsten Änderung verlaufen ist. Hiernach ist der „kürzeste" Stammbaum mit den wenigsten Evolutionsschritten (= Anzahl an Änderungen) der „beste" unter allen möglichen.

Die zweite Methode, die Likelihood-Methode, beruht auf Wahrscheinlichkeiten. Sie basiert auf einer Funktion, die die Wahrscheinlichkeit errechnet, mit der der Baum die beobachteten Daten produziert.

Die letzte Methode ist die Distanz-Methode. Hierbei werden Distanzen als Sequenzunterschiede bestimmt und diese zur Stammbaumerstellung benutzt.

UPGMA-Verfahren. Das sogenannte UPGMA-Verfahren (*unweighted pair group method with arithmetic mean*) gehört zu den Distanz-Methoden. Als Grundlage dient eine Tabelle, welche die paarweisen Sequenzunterschiede enthält. Nachfolgend wird in einem Beispiel ein Stammbaum Schritt für Schritt erstellt (Abb. 15.23):

1 Das Paar mit der geringsten Distanz (mit den geringsten Unterschieden) wird gesucht.
Hier ist der Sequenzunterschied zwischen A und B mit dem Wert 10 am kleinsten. Diese bilden ein Paar (AB) mit einem gemeinsamen Vorfahren. Die mittlere Distanz von A und B zu einem gemeinsamen Vorfahren = 5.

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

2 Nun werden schrittweise immer die Organismen zu Paaren zusammengefasst, die die nächste geringste Distanz aufweisen. Die Astlänge des Stammbaums zwischen dem vorherigen Paar und dem „neuen" Lebewesen wird anhand der Mittelwerte berechnet.
Der erste Mittelwert ergibt sich aus den Werten zwischen dem „neuen" Lebewesen und denen, die bereits zu Paaren zusammengefasst sind. In unserem Beispiel ist der Mittelwert der Sequenzunterschiede zwischen A und C sowie zwischen B und C = 16.
Jetzt wird C und die Gruppe AB zu ihrem gemeinsamen Vorfahren verbunden. Um die korrekte Distanz zu berechnen, wird die Zahl 16 durch die Zahl 2 geteilt.

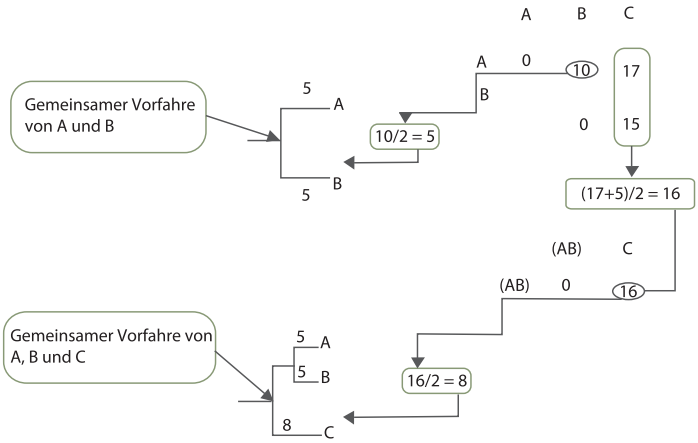


Abb. 15.23 Stammbaumerstellung mithilfe des UPGMA-Verfahrens

Aufgabe 9

Erstelle einen Stammbaum nach der UPGMA-Methode anhand deiner ermittelten Daten (Tab. 15.3, paarweise Unterschiede der Aminosäure- und DNA-Sequenzen) als Distanzen.

15.3.2 Unterrichtsmaterialien für den 2. Unterrichtsabschnitt

Material 7: Vergleich mitochondrialer DNA-Sequenzen (hypervariable Region I)

Die Auswahl der homologen Sequenzabschnitte erfolgte so, dass ein einfacher Vergleich, „per Hand", ermöglicht wird. Konkret heißt das, dass die eigentlichen Sequenzen länger sind und hier nur Ausschnitte bearbeitet werden.

1 Sequenzen ermitteln

- Website des NCBI (National Center for Biotechnology Information) im Internet aufrufen: *http://www.ncbi.nlm.nih.gov/*
- Nun die Sequenzen der mitochondrialen DNA mithilfe der *Accession-Number* ermitteln (Abb. 15.14 und Aufgabe 11).
- Auf den Pfeil neben „Change region shown" klicken, „Selected region" auswählen und die Sequenzpositionen in die Felder „from:" und „to:" eingeben (Abb. 15.24).
- Anschließend den Button „Update View" klicken und unter „Display Settings"→ „FASTA" auswählen (Abb. 15.17).

- Die Sequenzen kopieren (Abb. 15.19) und in einem Text-Editor speichern.

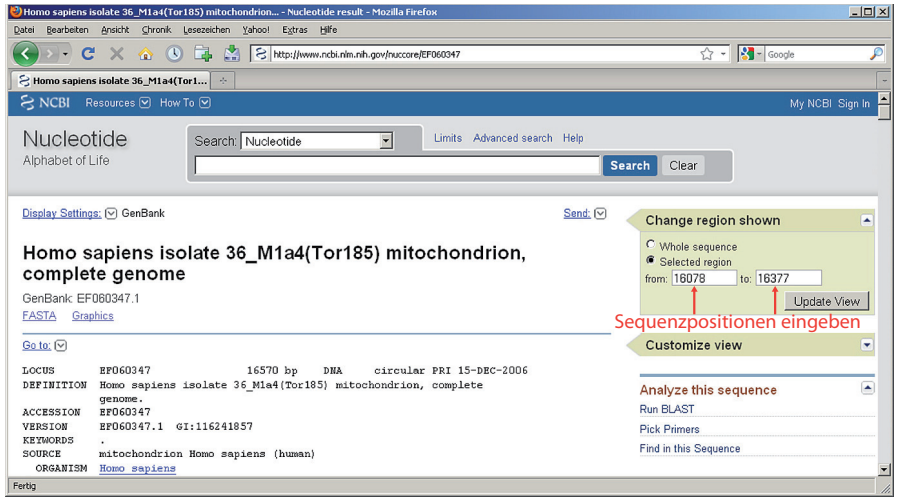


Abb. 15.24 Screenshot 10 – Vorgehen zur Ermittlung einer speziellen DNA-Sequenz durch Angabe der Sequenzpositionen

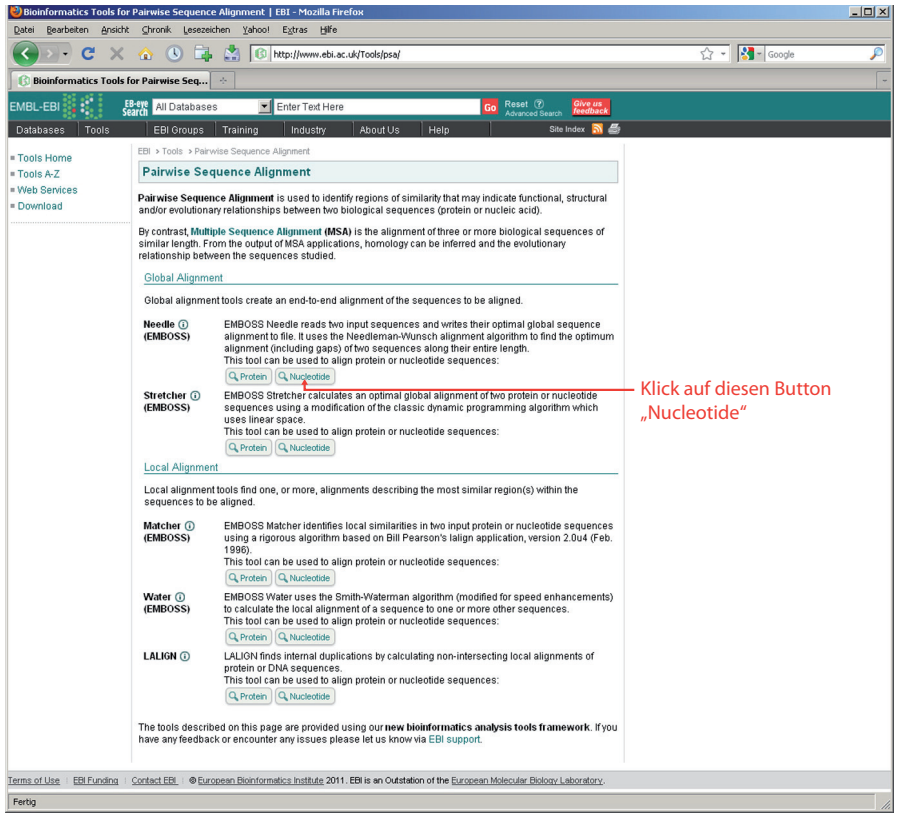


Abb. 15.25 Screenshot 11– Vorgehen für paarweises Alignieren von DNA-Sequenzen im EBI-Softwaretool

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

2 Sequenzen paarweise vergleichen

- Die Website des European Bioinformatics Institute (EBI) aufrufen: *http://www.ebi.ac.uk/*
- Die erweiterte URL-Adresse (*http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa*) eingeben und unter „Global Alignment", „Needle (EMBOSS)" nun den Button „Nucleotide" auswählen (Abb. 15.25).

Aufgabe 10

Ermittle die DNA-Sequenzen der unten aufgeführten Lebewesen, und zwar für die angegebenen Sequenzpositionen. Vergleiche die DNA-Sequenzen mithilfe des EBI-Softwaretools und trage deine Ergebnisse in die Tabellen ein. Berechne nun die Unterschiede in Prozent.

Aufgabe 11

Vergleiche deine Ergebnisse und überlege, ob der Neandertaler ein direkter Vorfahre des modernen Menschen ist (multiregionales Modell versus Out-of-Africa-Modell). Begründe deine Meinung.

Gruppe 1: Drei Menschen verschiedener Kontinente

- Somalia: EF060347, Sequenzpositionen 16078–16377
- Vietnam: DQ981474, Sequenzpositionen 16078–16377
- Deutschland: AF346983, Sequenzpositionen 16077–16376

Tab. 15.4: Gruppe 1: DNA-Sequenzvergleiche zwischen drei Menschen verschiedener Kontinente

Sequenzen		Sequenzlänge	Anzahl Unterschiede	Unterschied (%)
Somalia	Vietnam			
Somalia	Deutschland			
Vietnam	Deutschland			

Gruppe 2: Drei verschiedene Europäer

- Deutschland: AF346983, Sequenzpositionen 16077–16376
- Frankreich: AF346981, Sequenzpositionen 16078–16377
- Spanien: AF382011, Sequenzpositionen 16076–16375

Tab. 15.5: Gruppe 2: DNA-Sequenzvergleiche zwischen drei Europäern

Sequenzen		Sequenzlänge	Anzahl Unterschiede	Unterschied (%)
Deutschland	Frankreich			
Deutschland	Spanien			
Frankreich	Spanien			

Gruppe 3: Drei verschiedene Neandertaler

- Neandertaler 1 (Feldhofer Höhle, Deutschland): AY149291, Sequenzpositionen 55–355
- Neandertaler 2 (Okladnikov Höhle, Sibirien:): EU078680, Sequenzpositionen 43–343
- Neandertaler 3 (El Sidron, Spanien): DQ859014, Sequenzpositionen 1–301

Tab. 15.6: Gruppe 3: DNA-Sequenzvergleiche zwischen drei Neandertalern

Sequenzen		Sequenzlänge	Anzahl Unterschiede	Unterschied (%)
Neandertaler 1	Neandertaler 2			
Neandertaler 1	Neandertaler 3			
Neandertaler 2	Neandertaler 3			

Gruppe 4: Moderner sowie fossiler Europäer und Neandertaler

- Deutschland: AF346983, Sequenzpositionen 16077–16376
- Cro-Magnon (fossiler Europäer, 23000 Jahre alt): AY283027, Sequenzpositionen 54–353
- Neandertaler 1 (Feldhofer Höhle, Deutschland): AY149291, Sequenzpositionen 55–355

Tab. 15.7: Gruppe 4: DNA-Sequenzvergleiche zwischen eines modernen sowie fossilen Europäers und eines Neandertalers

Sequenzen		Sequenzlänge	Anzahl Unterschiede	Unterschied (%)
Deutschland	Cro-Magnon			
Deutschland	Neandertaler 1			
Cro-Magnon	Neandertaler 1			

Gruppe 5: Moderne Menschen verschiedener Kontinente, Neandertaler und Schimpanse

- Somalia: EF060347, Sequenzpositionen 16078–16377
- Vietnam: DQ981474, Sequenzpositionen 16078–16377
- Neandertaler 1 (Feldhofer Höhle, Deutschland): AY149291, Sequenzpositionen 55–355
- Neandertaler 2 (Okladnikov Höhle, Sibirien:): EU078680, Sequenzpositionen 43–343
- Schimpanse: DQ367612, Sequenzpositionen 63–360

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

Tab. 15.8: Gruppe 5: DNA-Sequenzvergleiche zwischen modernen Menschen verschiedener Kontinente, Neandertalern und einem Schimpansen

Sequenzen		Sequenzlänge	Anzahl Unterschiede	Unterschied (%)
Somalia	Neandertaler 1			
Vietnam	Neandertaler 2			
Vietnam	Schimpanse			
Neandertaler 1	Schimpanse			

Material 8: Erstellung eines Stammbaums und einer molekularen Uhr mithilfe von Sequenzvergleichen

Aufgabe 12

Trage in Tabelle 15.9 die aus den Sequenzvergleichen ermittelten prozentualen Unterschiede ein. Verwende für den Vergleich „moderne Menschen – Neandertaler" die Mittelwerte aus den Tabellen 15.7 und 15.8.

Tab. 15.9: Sequenzvergleiche der prozentualen Unterschiede aus den Tabellen 15.7 und 15.8

	Neandertaler	Schimpanse
moderne Menschen		
Neandertaler		

Aufgabe 13

Ergänze den Stammbaum (Abb. 15.26, Daten aus Tab. 15.9). Verfahre nach der UPGMA-Methode (Abb. 15.23).

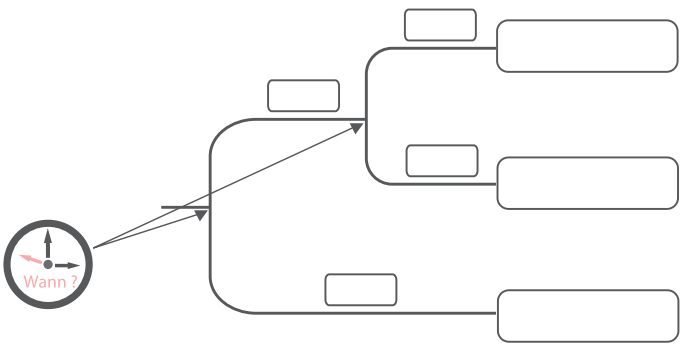


Abb. 15.26 Stammbaum für prozentualen Sequenzvergleich

Aufgabe 14

Berechnung einer molekularen Uhr: Archäologen benutzen eine Vielzahl unterschiedlicher Techniken, um das Alter von Fossilien zu bestimmen. Bei der Datierung von Menschenfossilien in Afrika haben Wissenschaftler herausgefunden, dass die ersten modernen Menschen vor ca. 200 000 Jahren dort auftraten. Diesen Wert und die mittlere Abweichung von modernen Menschen untereinander kann man benutzen, um eine „molekulare Uhr" zu bestimmen.

Berechne anhand deiner Daten aus Tabelle 15.4 die Zeit in Jahren, die es dauert, damit 1 % Unterschied zwischen den untersuchten mtDNA-Sequenzen (mtDNA = mitochondriale DNA) auftritt.

Aufgabe 15

Aufspaltung von *Homo sapiens* und *Homo neanderthalensis*: Fossilien des Neandertalers wurden in Europa und im Mittleren Osten entdeckt. Anhand der Radiokarbon-Methode wurde die dünne Besiedlung von Europa durch die Neandertaler auf eine Zeit vor etwa 28 000 Jahren datiert. Der Zeitpunkt des ersten Auftretens von *Homo neanderthalensis* beziehungsweise *Homo sapiens* in Europa kann so aber nicht genau bestimmt werden.

Betrachte deine Ergebnisse und gib an, vor wie vielen Jahren ein gemeinsamer Vorfahre der beiden Arten lebte.

Aufgabe 16

Gemeinsamer Vorfahre von Schimpanse und Menschenarten: Auf Fossilien basierend sind Wissenschaftler zu der Erkenntnis gelangt, dass sich die Entwicklungslinien, die zu Schimpansen und Menschenarten führten, vor etwa 8 Millionen Jahren getrennt haben.

Berechne anhand deiner Daten aus Tabelle 15.9 und mithilfe der molekularen Uhr (Aufgabe 14), wann ein gemeinsamer Vorfahre von Schimpansen und Menschenarten gelebt hat.

Würde die molekulare Uhr „schneller" oder „langsamer" gehen, wenn du die Zeit von 8 Millionen Jahren als Grundlage zur zeitlichen Bestimmung der Entstehung des modernen Menschen benutzt hättest?

Zusatzaufgabe

Neuste Untersuchungen haben anhand der Analyse der Genom-DNA des Neandertalers gezeigt, dass Neandertaler und moderne Menschen sich doch vermischen konnten.

Recherchiere Fakten hierzu im Internet und stelle die Ergebnisse dieser Analyse zusammen. Nimm anhand der Ergebnisse Stellung zu der Frage, ob der Neandertaler eine eigene Art darstellt. Erweitere das entsprechende Modell zur Entstehung des modernen Menschen unter Berücksichtigung dieser Erkenntnisse (Aufgabe 11).

Material 9: Simulation einer molekularen Uhr

verändert nach: Westerling 2008

Material pro Gruppe (3 Personen)

- Karten aus Fotokarton in 4 Farben (Kartengröße 3 x 4 cm in rot, blau, gelb, grün)
- 20-seitiger Würfel

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

- 4-seitiger Würfel
- Würfelbecher
- Unterlage mit Positionen

Vorbereitungen

- Legt die Karten in beliebiger Farbe in Reihe auf die 20 Positionen der Unterlage.
- Bildet darunter eine zweite Kartenreihe als identische Kopie der ersten (Tab. 15.10). Jede Kartenreihe modelliert eine DNA-Sequenz.
- Legt eine verantwortliche Person für jede Reihe und für das Notieren der Ergebnisse fest.

Tab. 15.10: Beispiel für die Anordnung der Karten

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		Unterschiede
1a																						
1b																						

Simulationsverlauf

Jede Runde entspricht einem Zeitabschnitt der molekularen Uhr (einem Mutationsereignis) und besteht aus folgenden Schritten:

- Würfelt das Mutationsereignis für die erste Reihe (a). Das Ergebnis des 20-seitigen Würfels gibt die Position, das Ergebnis des 4-seitigen Würfels die Farbe an.
  Hierbei gilt für den 4-seitigen Würfel: 1 = rot; 2 = gelb; 3 = blau; 4 = grün
  An der gewürfelten Position wird die Karte gegen eine Karte der gewürfelten Farbe ausgetauscht. Wird die gleiche Farbe gewürfelt, passiert nichts.
- Würfelt das Mutationsereignis für die zweite Reihe (b) und tauscht entsprechend die Karte aus.
- Zählt die Anzahl an Unterschieden zwischen beiden Reihen (Abweichungen zwischen den „DNA"-Sequenzen) und notiert diese in Form einer Tabelle.

Tab. 15.11: Mögliche Würfelergebnisse
Beispiel für die erste Reihe (1a). 20-seitiger Würfel: 10; 4-seitiger Würfel: 4
Beispiel für die zweite Reihe (1b). 20-seitiger Würfel: 13; 4-seitiger Würfel: 3
Unterschied nach dieser Runde: 1

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		Unterschiede
1a																						
1b																						1

- Die Würfelergebnisse bleiben bestehen. Nun wird weiter gewürfelt und die Karten entsprechend ausgetauscht. Die Unterschiede zwischen der ersten und zweiten Reihe werden pro Runde jeweils notiert.

Aufgabe 17

Führt 30 Runden der Simulation durch. Tragt in eine Tabelle die Anzahl der Unterschiede gegen die Runden (Mutationsereignisse) auf.

Aufgabe 18

Zeichnet mithilfe eurer Ergebnisse eine Kurve (X-Achse = Runde, Y-Achse = Unterschiede zwischen 1. und 2. Reihe) und erklärt den Kurvenverlauf.

Aufgabe 19

Folgert, für welchen Zeitabschnitt diese molekulare Uhr „richtig" geht.

Aufgabe 20

Erkläre mithilfe deines Wissens über molekulare Uhren nun Abbildung 15.27.

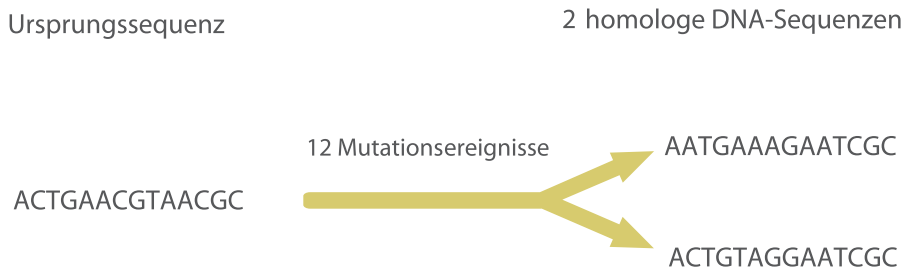


Abb. 15.27 Veränderung einer Ursprungssequenz nach 12 Mutationsereignissen

15.3.3 Unterrichtsmaterialien für den 3. Unterrichtsabschnitt

Material 10: Meine DNA – Extraktion von DNA aus Mundschleimhautzellen

nach: Krings et al. 1997, PBS Nova Teachers 2010

Versuchsmaterial

- kleiner Papp- oder Plastikbecher (Einweg)
- großes Schnappdeckelglas (oder großes Reagenzglas mit Stopfen)
- kleines Schnappdeckelglas (oder kleines Reagenzglas)
- 2 TL (10 ml) 0,9%ige Salzlösung (2 TL Salz in ¼ l Wasser gelöst)
- 1 TL (5 ml) 25%ige Spülmittellösung (1 Teil Seifenlösung und 3 Teile Wasser)
- 2 TL (19 ml) 95%iges Ethanol, eisgekühlt
- dünner Glas- oder Plastikstab

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

Durchführung

1. Stelle die Salz- und Spülmittellösung her.
2. Nimm 2 TL (10 ml) der Salzlösung in den Mund und bewege diese 30 Sekunden lang im Mund hin und her. Reibe die Salzlösung auch mit der Zunge am Gaumen. Hierdurch werden abgestorbene Mundschleimhautzellen abgelöst.
3. Spucke die Salzlösung in den Becher. Gib die Spucke in ein Schnappdeckelglas, welches 1 TL (5 ml) 25%ige Spülmittellösung enthält.
4. Verschließe das Glas und schwenke es für 2–3 Minuten behutsam auf der Seite hin und her. Du darfst dabei nicht heftig schütteln, ansonsten bricht das lange DNA-Molekül durch die wirkenden Scherkräfte.
5. Öffne das Glas und füge vorsichtig 1 TL eiskaltes Ethanol hinzu, indem du das Glas schräg hältst und die Lösung am Rand herunterlaufen lässt. Das Ethanol bildet dann eine Schicht auf der Lösung. Lass das Glas für mindestens 1 Minute ruhig stehen.
6. Versuche mit dem Stab die DNA aufzuwickeln, die sich an der Phasengrenze ansammelt. Vermische hierbei möglichst nicht die Schichten. (Manchmal bilden sich auch „nur“ Klumpen aufgrund kleiner Fragmente.)
7. Überführe die DNA in ein kleines Glas, welches das restliche Ethanol enthält. Die DNA stellt ein Gemisch aus genomischer und mitochondrialer DNA dar.

Material 11: Woher stammt die DNA?

„Meine“ mtDNA – „Einschicken“ der Probe

Da es nicht möglich ist, DNA im Unterricht zu sequenzieren, müssen wir uns zur Simulation eine „eigene“ Sequenz aus einer Datenbank aussuchen:

- Jeder Schüler lost zu Beginn der Untersuchung eine Nummer (z. B. 12).
- Die Website der Uppsala-Universität Schweden und hier die Datenbank „mtDB – Human Mitochondrial Genome Database“ im Internet aufrufen:
  http://www.genpat.uu.se/mtDB/
- Klick auf „Download mtDNA sequences“
- Jeder Schüler sucht sich eine beliebige Sequenz aus. Herkunft und Zugriffsnummer werden notiert (Abb. 15.28).
  Beispiel: *Accession-Number* AY882386; Herkunft Spanien

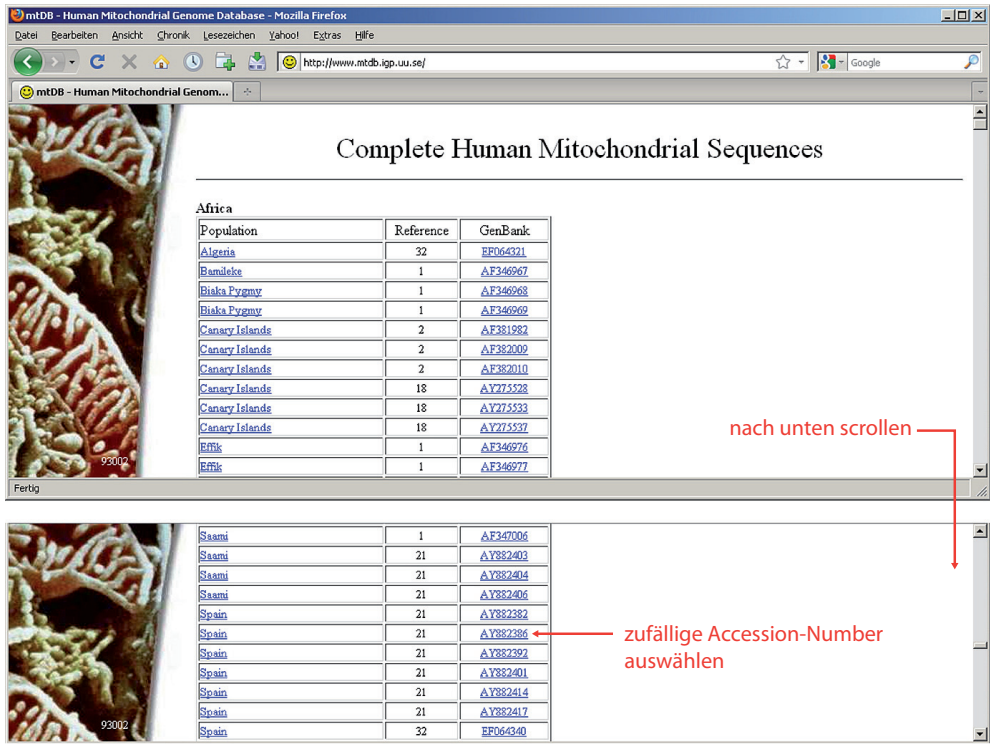


Abb. 15.28 Screenshot 12 – Auswahl einer *Accession*-Number aus der mtDNA-Datenbank der Uppsala-Universität Schweden

- Durch Klick auf die Zugriffsnummer wird man auf die Website des National Center for Biotechnology Information (NCBI) weitergeleitet. Dort wählt man als Anzeigeformat „FASTA" aus (Abb. 15.29). In den Beschreibungen der mtDNA kann man bereits die genaue Haplogruppe und das Herkunftsland erkennen.
- Nachdem die Sequenz im sogenannten FASTA-Format angezeigt wird, kopiert man diese und fügt sie in eine Datei eines Textverarbeitungsprogramms (z. B. Word) ein.
- Nun ändert man die ersten beiden beschreibenden Zeilen (nicht die Sequenz!), indem man die Information über die Sequenz durch die zugeloste Nummer ersetzt.
  - Hinweis: Das „>"-Zeichen muss zur Erkennung des FASTA-Formats stehen bleiben.
  - Die Datei wird unter der entsprechenden Nummer gespeichert und an die Lehrkraft „eingeschickt" (übermittelt). Die mtDNA wird also anonymisiert.

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

Beispiel

```
>gi|57903842|gb|AY882386.1| Homo sapiens isolate 8_U4a(Tor60)
mitochondrion, complete genome
GATCACAGGTCTATCACCCTATTAACCACTCACGGGAGCTCTCCATGCATTTGGTATTTTCGTCTGGGGG
GTGTGCACGCGATAGCATTGCGAGACGCTGGAGCCGGAGCACCCTATGTCGCAGTATCTGTCTTTGATTC
.....
```

wird zu

```
>12
GATCACAGGTCTATCACCCTATTAACCACTCACGGGAGCTCTCCATGCATTTGGTATTTTCGTCTGGGGG
GTGTGCACGCGATAGCATTGCGAGACGCTGGAGCCGGAGCACCCTATGTCGCAGTATCTGTCTTTGATTC
.....
```

beispielsweise speichern unter: „DNA_12.doc“

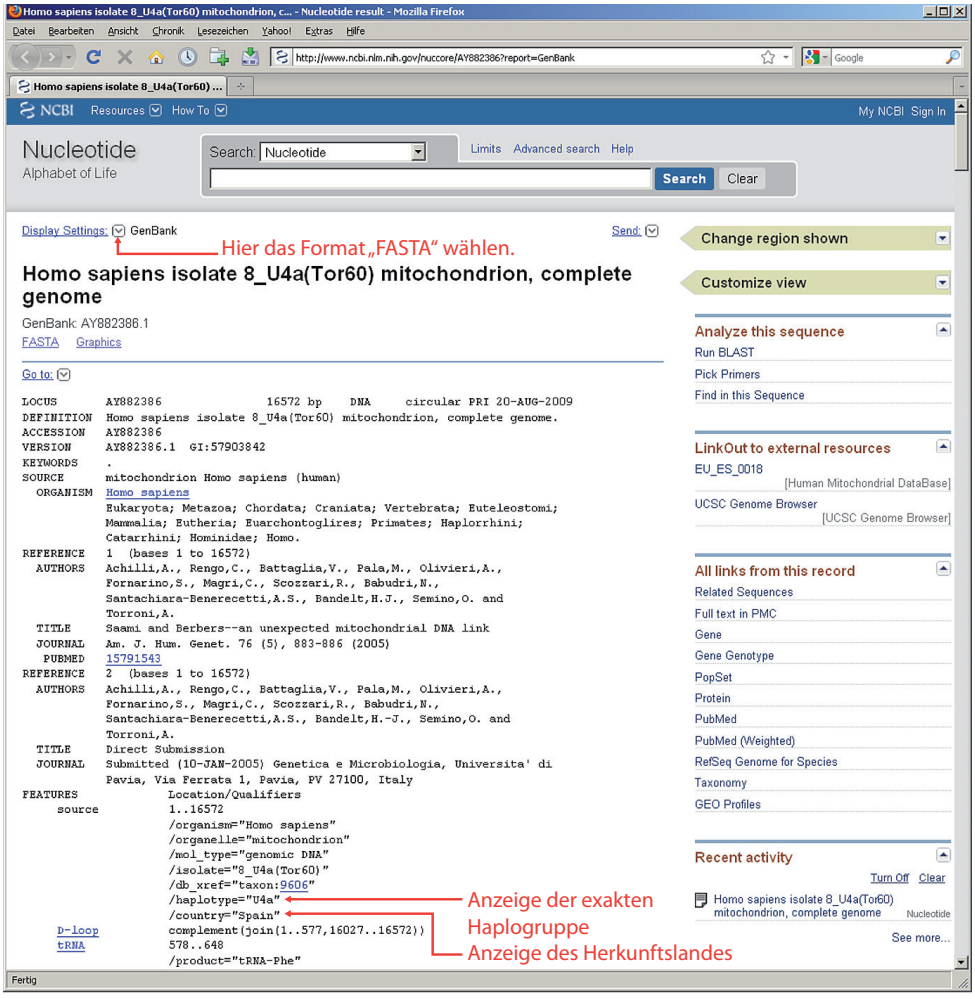


Abb. 15.29 Screenshot 13 – Auswahl des Anzeigeformats FASTA auf der Website des National Center for Biotechnology Information (NCBI)

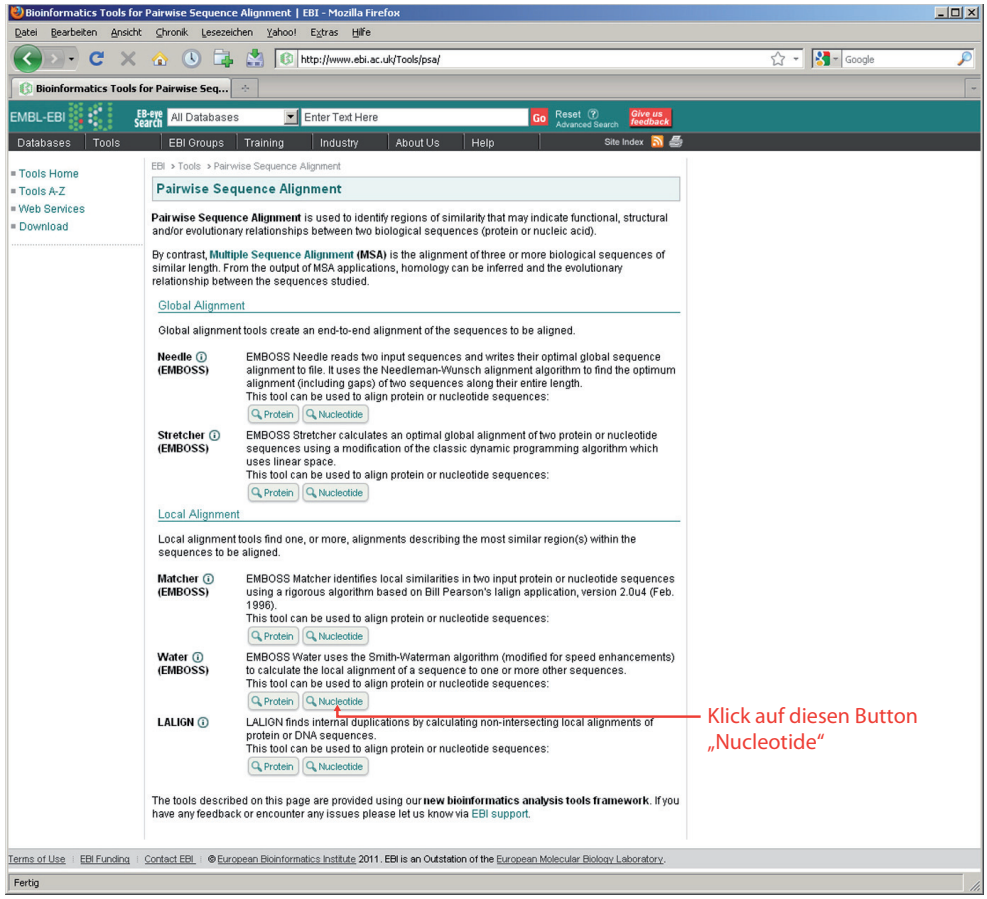


Abb. 15.30 Screenshot 14 – Vorgehen für paarweises Alignieren von DNA-Sequenzen im EBI-Softwaretool

DNA-Analyse

Die Aufgabe eines jeden Schülers ist es nun, eine unbekannte mtDNA zu analysieren.

- Lose erneut eine Nummer. Passend zu dieser zweiten Nummer erhältst du eine Datei mit entsprechender DNA-Sequenz.
- Die unbekannte DNA-Sequenz wird jetzt mit der Referenzsequenz (*revised Cambridge Reference Sequence* [rCRS], NC_012920) verglichen. Dieser Vergleich wird anhand eines paarweisen Alignments durchgeführt (Abb. 15.20–15.22).
- Die Datenbank des European Bioinformatics Institute (EBI) aufrufen: *http://www.ebi.ac.uk/*
- Die erweiterte URL-Adresse eingeben und dieses Mal unter „Local Alignment“, „Water (EMBOSS)“ den Button „Nucleotide“ auswählen (Abb. 15.30).
- Nun füge die beiden Sequenzen in das Softwaretool ein (Referenzsequenz, unbekannte DNA-Sequenz). Klicke auf „Submit“ (Abb. 15.31).

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

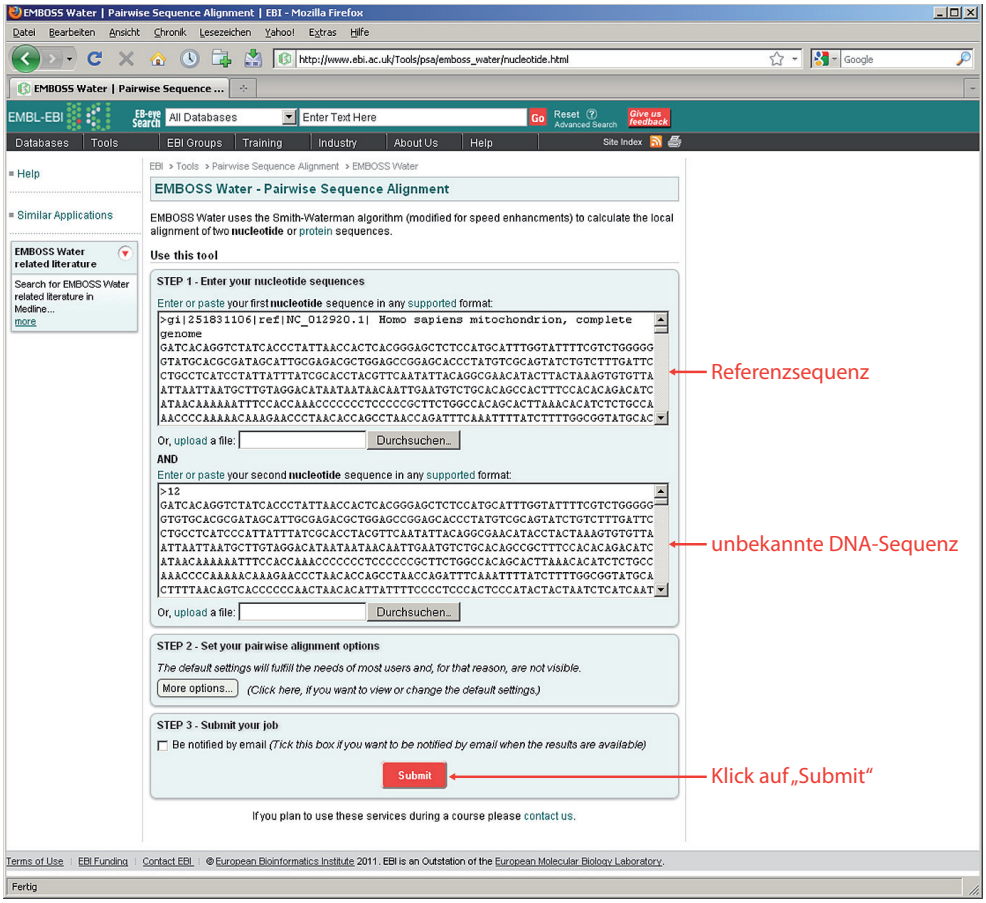


Abb. 15.31 Screenshot 15 – Eingabe der Referenzsequenz (rCRS) und der unbekannten mtDNA-Sequenz in das Softwaretool des European Bioinformatics Institute (EBI)

- Anhand der Abweichungen zur Referenzsequenz (rCRS) kann man die Haplogruppe ermitteln, zu der die unbekannte mitochondriale DNA (mtDNA) gehört. Hierfür geht man folgendermaßen vor (Abb. 15.32):
  - Kopiere das Alignment in ein extra Textdokument (Schrifttyp CourierNew, Größe 9, kaum Seitenrand).
  - Vergleiche nun schrittweise jede Abweichung der unbekannten Sequenz von der Referenzsequenz.
    Beispiel: In der Referenzsequenz wurde der DNA-Baustein „A“ gegen den Baustein „G“ ausgetauscht, und zwar an Position „73“. Damit lautet eine Abweichung zur Referenzsequenz „A73G.
  - Notiere alle Abweichungen.

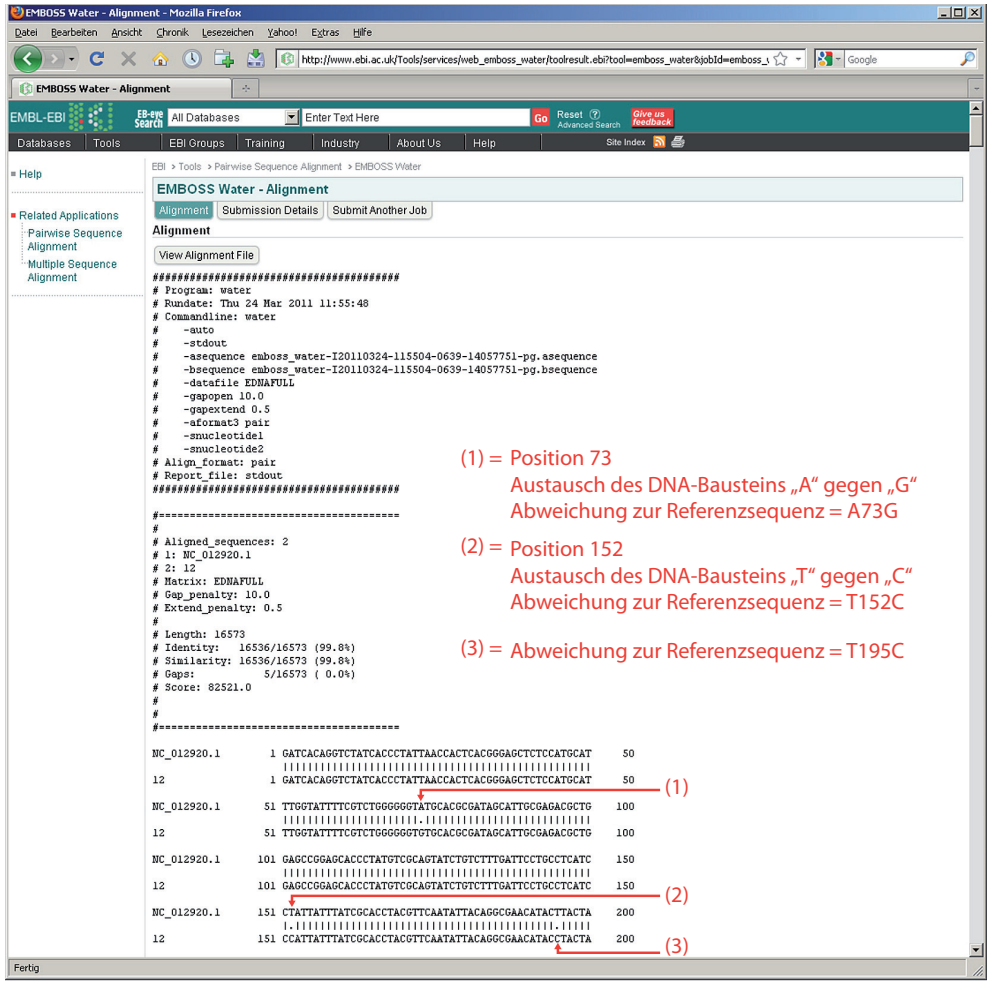


Abb. 15.32 Screenshot 16 – Alignment der Referenzsequenz und der unbekannten mtDNA-Sequenz, Vergleich der Abweichungen

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

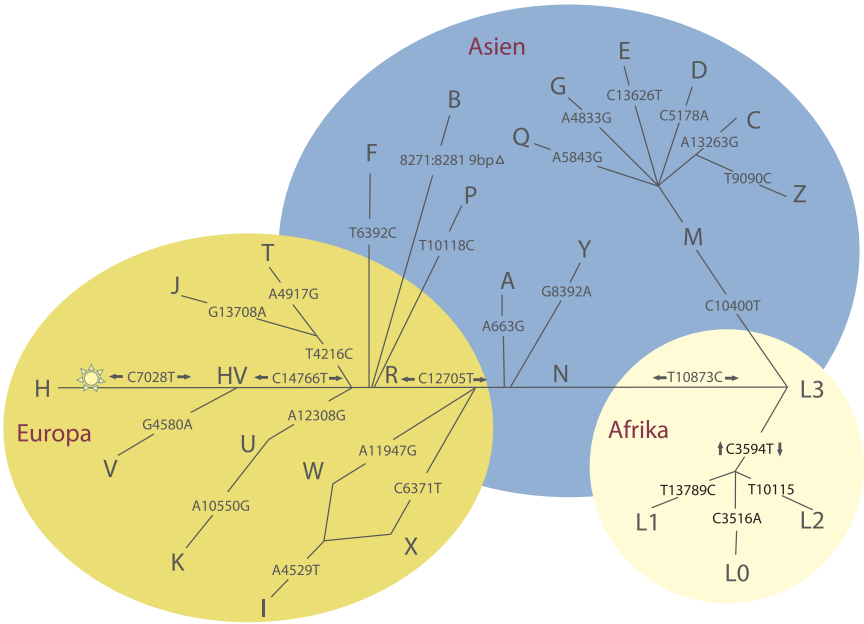


Abb. 15.33 Ermittlung der Haplogruppe der unbekannten mtDNA-Sequenz anhand eines „Stammbaums" menschlicher mtDNA und ihren Abweichungen zur Referenzsequenz (rCRS; nach MAMMAG Web 2010b)

- Eine Möglichkeit, die Haplogruppe der unbekannten mtDNA herauszufinden, bietet sich mit Abbildung 15.33. Allerdings können hier nur die Haplogruppen aus Europa, Afrika und Asien ermittelt werden. (Von hier aus haben sich aber Nachfahren in die ganze Welt ausgebreitet.) Die Referenzsequenz (in Abb. 15.33 mit einer Sonne markiert) weist die Haplogruppe H auf. Jede Haplogruppe hat eine **spezifische Kombination an Abweichungen** zu dieser Referenzsequenz. Schritt für Schritt müssen die Abweichungen an jeder „Abzweigung" (Haplogruppe) überprüft werden.
  - In unserem Beispiel der unbekannten mtDNA lauten die gesamten Abweichungen zur rCRS: A73G • T152C • T195C • A263G • 315insC • G499A • A750G • T961C • 965insC • 965insC • 965insC • A1438G • A1555G • A1811G • A2706G • A4562G • T4646C • A4769G • T5999C • A6047G • **C7028T** • C8818T • A8860G • C11332T • A11467G • G11719A • **A12308G** • G12372A • A12937G • C14620T • **C14766T** • A15326G • T15693C • C16134T • T16356C • T16519C
    („ins" bedeutet, dass es eine Insertion einer Base gibt (z. B. 315insC oder 315.1C)
  - Nur bei der Haplogruppe U kommen die Abweichungen C7028T, C14766T **und** A12308G vor.
  - anderes Beispiel: Eine mtDNA der Haplogruppe D weist unter anderem die folgenden Abweichungen (spezifische Kombination) auf: C7028T, C14766T, C12705T, T10873C C10400T **und** C5178A.
  - Nach dem gleichen Prinzip kann man auf der Website von genebase (2011) (*http://www.genebase.com/doc/mtdnaHaplogroupTree_Ref.pdf*) die etwas genaueren Haplogruppen einer unbekannten mtDNA ermitteln. Hier sind allerdings nur die Positionen der Abweichungen (und nicht die abweichenden Basen) angegeben, was völlig ausreicht.

Aufgabe 21

Analysiere deine unbekannte mtDNA wie beschrieben und finde ihre Haplogruppe heraus.

Ein Zertifikat entwerfen – „Ergebnisübermittlung“

Aufgabe 22

Recherchiere über „deine“ Haplogruppe im Internet.

Erstelle anhand deiner Ergebnisse ein ansprechend gestaltetes Zertifikat, welches mindestens folgende Informationen enthält: Probennummer (z.B. 12), Abweichungen zur Referenzsequenz, zugeordnete Haplogruppe, Informationen über die Haplogruppe, Weg der Haplogruppe aus Afrika (Karte). Anregungen hierzu findest du bei deiner Internetrecherche.

Das Zertifikat wird nun über die Lehrkraft an den „Einsender“ zurückgeschickt, welcher das Rätsel der Sequenz auflösen kann.

Vergleich der Ergebnisse

Aufgabe 23

Die Ergebnisse sollen miteinander verglichen und diskutiert werden. Hierbei solltet ihr auch Sinnhaftigkeit, Nutzen und Risiken von solchen mtDNA-Analysen und eine damit verbundene Datensammlung thematisieren.

Dreesmann D, Graf D, Witte K (2011) Evolutionsbiologie – Moderne Themen für den Unterricht.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg