Vanessa D.I. Pfeiffer,
Christine Glöggler,
Stephanie Hahn und
Sven Gemballa

16.3 Unterrichtsmaterialien

Material 1: Alignieren von Nukleotidsequenzen für die Verwandtschaftsanalyse

Für eine Verwandtschaftsanalyse vergleicht man unter anderem Nukleotidsequenzen miteinander. Für einen solchen Vergleich müssen zuvor allerdings die entsprechenden DNA-Abschnitte aligniert werden.

Aufgabe 1

Erstelle mit farbigen Büroklammern Modelle für die in Tabelle 16.6 gezeigten DNA-Teilstränge des Hämoglobins von Mensch, Schimpanse, Gorilla und eines hypothetischen Vorfahren (fossile, ausgestorbene Art). Verwende für jede Base eine andere Farbe und markiere die Richtung von Base 1 nach Base 20.

Tab. 16.6: Ausschnitt aus der für das Protein Hämoglobin kodierenden DNA von Mensch, Schimpanse, Gorilla und einem hypothetischen gemeinsamen Vorfahren.

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Mensch	A	G	G	C	A	T	A	A	A	C	C	A	A	C	C	G	A	T	T	A			
Schimpanse	A	G	G	C	C	C	C	T	T	C	C	A	A	C	C	G	A	T	T	A			
Gorilla	A	G	G	C	C	C	C	T	T	C	C	A	A	C	C	A	G	G	C	C			
hypothetischer Vorfahr	A	G	G	A	A	C	C	C	G	C	T	C	C	C	A	A	C	C	A	G	G	C	C

Aufgabe 2

a Lies den folgenden Text und beschreibe den Vorgang des Alignierens in eigenen Worten.

Was ist ein Alignment? Bei einem Alignment werden die Basensequenzen verschiedener Arten möglichst passgenau übereinandergelegt. Die Reihenfolge der Basensequenz darf dabei nicht verändert werden. Eine Ausgangssituation für ein Alignment ist in Tabelle 16.6 dargestellt. Da Gene nicht nur durch Punkt-, sondern auch durch Rastermutationen verändert werden, ist an manchen Stellen das Einfügen von Lücken notwendig, um eine höchstmögliche Passgenauigkeit zu erzielen. Die Kunst, ein gutes Alignment zu erstellen, besteht darin, diese Lücken an den richtigen, d.h. in den evolutionsbiologisch wahrscheinlichsten Stellen einzufügen. Diese werden bei proteinkodierender DNA durch die Übersetzung des Stranges in Aminosäuren und deren Bedeutung für die Funktionalität des Proteins ermittelt. Damit sich das Leseraster nicht verschiebt und ein völlig verändertes Protein resultiert, treten Lücken meist als Vielfaches des Triplettrasters auf. Im folgenden Beispiel-Alignment (Tab. 16.7) kennzeichnet das Symbol * eine Punktmutation und der Unterstrich _ eine Deletion oder Insertion.

Tab. 16.7: Beispiel-Alignment mit Punktmutationen (*) und Deletionen oder Insertion (_)

	Basensequenzen											
Art 1	A	T	C	G	G	A				T	A	C
Art 2	A	T	T	G	G	C	A	G	A	T	A	C
Mutation			*			*	_	_	_			

b Erstelle nun mithilfe der Büroklammer-Sequenzen aus Aufgabe 1 ein Alignment für die DNA-Teilstränge des Hämoglobins von Mensch, Schimpanse, Gorilla und des hypothetischen Vorfahren. Ermittle die wahrscheinlichen Deletionen.

Aufgabe 3

a Lies den folgenden Text und beschreibe das Parsimonie-Prinzip in eigenen Worten.

Parsimonie-Prinzip. Mithilfe der alignierten Sequenzen kann man nach dem sogenannten Parsimonie-Prinzip (engl. *parsimony* = Sparsamkeit) einen Stammbaum erstellen. Laut Parsimonie-Prinzip ist derjenige Stammbaum der wahrscheinlichste, bei dem die Summe der Merkmalsänderungen beziehungsweise Substitutionen von einer Art zur anderen möglichst klein ist.

b Vergleiche die alignierten Sequenzen aus Aufgabe 2b mit dem in Tabelle 16.8 vorgegebenen Raster. Erstelle unter Verwendung des Parsimonie-Prinzips einen Stammbaum.

Tab. 16.8: Zu erstellende Übersicht über die Anzahl der richtig beziehungsweise falsch gepaarten Basen des Alignments zum Vergleich der einzelnen Sequenzen. Deletionen sollen bei der Auszählung nicht berücksichtigt werden.

	Anzahl nicht übereinstimmender Basen	**Anzahl übereinstimmender Basen**
DNA Mensch verglichen mit		
DNA Schimpanse		
DNA Gorilla		
DNA gemeinsamer Vorfahr verglichen mit		
DNA Mensch		
DNA Schimpanse		
DNA Gorilla		

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

Material 2: Von der Gensequenz zum Stammbaum

Bei den unten stehenden Aufgaben sollen Gensequenzen ermittelt, verglichen (aligniert) und anschließend eine Verwandtschaftsanalyse durchgeführt werden, d. h. ein Stammbaum selbst erstellt werden.

Aufgabe 4

Verwende die Datenbank GenBank, um die Mitochondrien-DNA von Makake, Gibbon, Mensch, Schimpanse, Gorilla und Orang-Utan zu suchen (Signaturen siehe Tab. 16.9). Lade die Sequenzen unter Verwendung der „Clipboard-Funktion" als eine FASTA-Datei auf deinen Computer.

Tab. 16.9: Übersicht über diverse Signaturen bei GenBank für die Mitochondrien-DNA von verschiedenen Arten

Gattung	wissenschaftlicher Artname	Signatur bei GenBank
Makake	*Macaca sylvanus*	AJ309865
Gibbon	*Hylobates lar*	NC_002082
Mensch	*Homo sapiens*	D38112
Schimpanse	*Pan troglodytes*	D38113
Gorilla	*Gorilla gorilla gorilla*	X93347
Orang-Utan	*Pongo pygmaeus*	D38115

Gehe folgendermaßenvor: Sequenzen laden mit GenBank

- GenBank ist eine öffentlich zugängliche Gendatenbank, die Gensequenzen von mehr als 260000 Organismen wie Bücher in einer Bibliothek gespeichert hat.
  Unter *http://www.ncbi.nlm.nih.gov/* kann man Gensequenzen zu bestimmten Organismen suchen und herunterladen.
- Entsprechend den Büchern in einer Bibliothek ist bei GenBank jeder Sequenz eine Signatur zugeordnet. Tabelle 16.9 gibt einen Überblick über die Signaturen, die bei GenBank für die Mitochondrien-DNA der verschiedenen Affenarten und den Menschen stehen. Wähle „*Search: Nucleotide*" und gib die Signatur der gewünschten Art ein. Du wirst dann zu einem Link mit der passenden Sequenz weitergeleitet.
- Mit „*Display Settings: Summary*" und „*Send to: Clipboard*" kopierst du den gefundenen Link in eine persönliche Ablage. Setze die Suche nach den anderen Signaturen auf derselben Seite fort und kopiere die Ergebnisse ebenso in die persönliche Zwischenablage.
- Wähle die Karteikarte „*Clipboard*" und setze bei allen Dateien, die du zusammenfassen möchtest, ein Häkchen. Mit „*Display Settings: FASTA*" und „*Send: File*" speicherst du die DNA-Sequenzen als eine FASTA-Datei.

Aufgabe 5

Aligniere die Sequenzen der FASTA-Datei mithilfe von ClustalX.

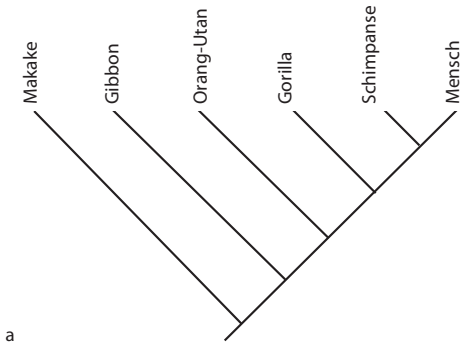
Gehe dabei folgendermaßen vor: Alignieren mit ClustalX

- Öffne das Programm ClustalX und wähle im Menü über „*File → load sequences*“ die zuvor angelegte FASTA-Datei. Diese erscheint nun im Arbeitsfenster.
- Bei der Mode-Einstellung wähle „*Multiple Alignment Mode*“ und bei Font „*10*“. Da das Alignieren der gesamten Sequenzen zu viel Zeit in Anspruch nehmen würde, markiere nur die ersten 1000 Basen der Sequenzen. Klicke dafür auf die erste Basenspalte und ziehe bei gedrücktem rechten Mauszeiger die Markierung nach rechts bis zur Basenspalte 1000. Das Alignieren startest du im Menü mit „*Alignment → realign selected residue range*“.
- Öffne im Menü mit „*File → save sequences as*“ ein neues Fenster und speichere das Alignment der ersten 1000 Stellen unter „*use range information*“ als nexus-Datei ab.

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

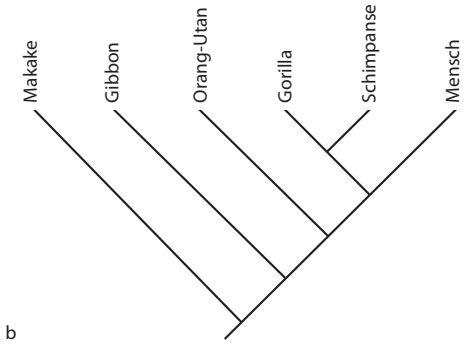
Aufgabe 6

Stammbaumhypothese 1



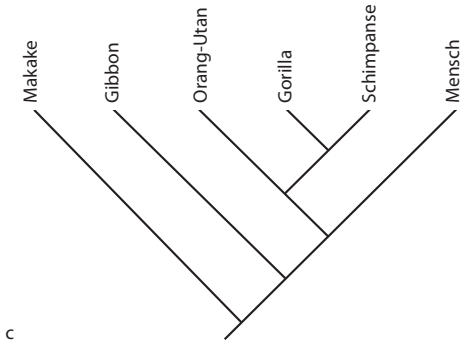
Die nach dem Parsimonie-Prinzip durch das Programm MacClade ermittelte *treelength* für Stammbaumhypothese 1 beträgt:

Stammbaumhypothese 2



Die nach dem Parsimonie-Prinzip durch das Programm MacClade ermittelte *treelength* für Stammbaumhypothese 2 beträgt:

Stammbaumhypothese 3



Die nach dem Parsimonie-Prinzip durch das Programm MacClade ermittelte *treelength* für Stammbaumhypothese 3 beträgt:

Abb. 16.11 Links die drei unterschiedlichen Hypothesen zur Verwandtschaft der großen Menschenaffen. Auf der rechten Seite können die mit MacClade ermittelten *treelengths* eingetragen werden.

a Vergleiche die in Abbildung 16.11 dargestellten Stammbaumhypothesen, indem du mit dem Programm MacClade die zugehörigen *treelengths* ermittelst.

b Beurteile die drei Hypothesen nach dem Parsimonie-Prinzip und treffe eine begründete Entscheidung bezüglich des nächsten Verwandten des Menschen.

Gehe folgendermaßen vor: Verwandtschaftsanalyse mit MacClade

- Öffne im Programm MacClade die vorbereitete nexus-Datei. Die Sequenzen erscheinen als Matrix.
- Über „*Windows* → *tree window*“ und der Wahl „*Default Ladder*“ im erscheinenden Fenster erhältst du einen Vorschlag für einen Stammbaum.
- Aktiviere in der Werkzeugpalette von MacClade durch Anklicken das Werkzeug <Move Branch> (Symbol „Pfeil“). Nun kannst du durch Anklicken und Halten der Maustaste die einzelnen Äste des Stammbaums verschieben und so neue Stammbäume generieren, um deren *treelength* („Stammbaumlänge“) zu vergleichen.

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