

Populationsgenetische mitochondriale DNA-Daten

Forensische und medizinische Nutzung

In der Forensik wie in der medizinischen Genetik ist die mitochondriale DNA (mtDNA) im Allgemeinen ein nachrangiger genetischer Marker, da die Identifizierung von Individuen durch das bekannte DNA-Fingerprinting auf Kern-DNA beruht und die meisten Krankheiten, die eine vorwiegend genetische Komponente haben, ihre Ursache in Mutationen der Kern-DNA haben. Diese Nebenläufigkeit hat dazu geführt, dass mtDNA oft nicht mit einer profunden Kenntnis der Gesamtdatenlage und mit einer angemessenen Methodik analysiert wurde bzw. wird [1, 6, 22]. Andererseits ist gerade für die Nutzung der mtDNA als Informationsquelle die Datenbasis viel umfangreicher als für irgendeinen Genabschnitt der Kern-DNA. Das spezifische Kennzeichen von mtDNA ist ihre Evolution entlang einer Phylogenie, denn mtDNA, die eigenständige Erbinformation der Mitochondrien in den Zellen, wird in mütterlicher Linie vererbt. Die beiden geschlossenen DNA-Stränge werden langläufig als Ring symbolisiert, dessen Positionen von 1–16569 durchnummeriert sind (Infobox 1). Positionsnummern und Nukleotidangaben beziehen sich dabei stets auf die korrigierte Version (rCRS) der erstmals sequenzierten menschlichen mtDNA-Sequenz (■ Infobox 1). Für weitere Informationen verweisen wir auf die Kapitel 1 und 2 (von Patrick Chinnery) im Buch von Bandelt et al. [4].

Die für anthropologische, forensische oder medizinische Untersuchungen verfügbare Datenbasis umfasst die Gesamtheit aller vollständig oder teilweise be-

kannten mtDNA-Sequenzen von Individuen, evtl. verbunden mit weiteren Informationen über deren Herkunft oder Gesundheitszustand. Viele nützliche Informationen und Links, insbesondere zu medizinischen Aspekten der mtDNA-Variation, finden sich auf der Webseite von MITOMAP (Infobox 1). Fast alle mtDNA-Sequenzen, die in GenBank abgelegt sind und die zumindest die gesamte kodierende Region abdecken, sind grob nach Haplogruppen sortiert auf der Webseite von Ian Logan (■ Infobox 1) zu finden, mit Auflistung der Mutationen relativ zur rCRS.

In Hinblick auf potenzielle praktische oder wissenschaftliche Anwendungen sind Ad-hoc-Gruppierungen der vorhandenen mtDNA-Daten sinnvoll, die oft mit der technischen Bezeichnung „Population“ versehen wurden. Eine „Population“ ist eine Zusammenfassung von Individuen, die gewisse Charakteristika eint, die der jeweiligen Studie angemessen sein müssen. In der Praxis werden diese Charakteristika oft nicht explizit genannt oder es wird bisweilen suggeriert, dass diese von rein biologischer bzw. biogeografischer Natur seien. In Wirklichkeit fließen aber immer wieder politische Kategorien (durch den Bezug auf Nationalstaaten) oder gar rassistische Aspekte [16] mit ein. So entbehrt z. B. die in der Medizin tradierte Verwendung der Kennzeichnung von Menschen, die aus Europa, dem Nahen oder Mittleren Osten stammen, als „kaukasisch“ oder „kaukasoid“ jeglicher wissenschaftlicher Grundlage [20].

Forensische Nutzung

Die mtDNA kommt meist bei der forensischen Analyse solcher Proben zum Einsatz, die keine ausreichende Menge an Kern-DNA enthalten, um eine erfolgreiche STR („short tandem repeats“)-Analyse durchzuführen. Dazu gehören v. a. Haarschäfte und Haarproben mit telogenem Bulbusanteil, Knochen und Zähne oder in manchen Fällen auch klassische Blut- und Speichelspuren. Durch die Prüfung einer Verwandtschaft entlang der mütterlichen Erblinie kann die mtDNA-Analyse in Identifikationsfällen entscheidende Erkenntnisse liefern. Im forensischen Kontext liegt der Schwerpunkt einer mtDNA-Analyse dabei zunächst auf

Infobox 1: Internetlinks

- EMPOP, forensische mtDNA-Datenbank: <http://www.empop.org>
- mtDB: <http://www.genpat.uu.se/mtDB/>
- Koreanischer Datenbankversuch: <http://mtmanager.yonsei.ac.kr/>
- MITOMAP-Startseite: <http://www.mitomap.org/>
- MITOMAP, „disease“: <http://www.mitomap.org/disease.html>
- MITOMAP, Positionsnummern und Nukleotidangaben: <http://www.mitomap.org/mitomapgenome.pdf>
- MITOMAP, mtDNA-Sequenz: <http://www.mitomap.org/mitoseq.html>
- Ian Logan, mtDNA-Sequenzen, nach Haplogruppen sortiert: <http://www.ianlogan.co.uk/mtDNA.htm>
- Ian Logan, Haplogruppe T2, http://www.ianlogan.co.uk/discussion/hap_T2.htm

der Prüfung des Vorliegens einer Ausschlusskonstellation. Wenn aufgrund der mtDNA-Ergebnisse zweier Proben eine mütterliche Verwandtschaft nicht ausgeschlossen werden kann, wird die Häufigkeit der beiden Profile in mtDNA-Datenbanken ermittelt, um die Übereinstimmung statistisch zu bewerten.

DNA-Datenbanken sowie populationsgenetische Datensammlungen sind durch eine relativ hohe Fehlerquote gekennzeichnet, da die Komplexität der mtDNA-Analytik eine Reihe von Fehlerquellen birgt [1]. Hierzu gehören sowohl menschliches Versagen (Vertauschungen, Übertragungsfehler) als auch geräte- bzw. chemiespezifische Charakteristika, die von automatischen Analyseprogrammen entweder gar nicht oder falsch erkannt werden. In gezielten Studien wurde eine hohe Fehlerquote von 10–30% ermittelt (s. diesbezügliche Zitate in Kapitel 6 von [4]). Da diese Studien auf einer relativ geringen Probenanzahl beruhen, ist in der Praxis durch die zunehmende Komplexität großer Populationsstudien sogar eine noch höhere Fehlerrate zu erwarten.

Fehlerhafte Datensätze in Datenbanken verringern die relative Häufigkeit einer abgefragten mtDNA-Sequenz und erhöhen somit fälschlicherweise die statistische Signifikanz einer Übereinstimmung zwischen 2 Proben (z. B. der mtDNA-Sequenz eines Beschuldigten mit einer mtDNA-Spur vom Tatort). Im forensischen Kontext kann dies zur Überschätzung des Hinweiswerts für die Spurenverursachung und damit zur Benachteiligung des Angeklagten führen, was nicht mit den Grundlagen einer zivilisierten Rechtssprechung vereinbar ist.

Ein Beispiel für einen frühen, aber leider gescheiterten Versuch, hier Abhilfe zu schaffen, war die „Zentraleuropäische Datenbank für nicht codierende mitochondriale DNA-Sequenzen von 17 Universitätsinstituten Deutschlands, Österreichs, der Schweiz, Tschechiens und Polens für wissenschaftliche und kriminalistische Recherchen (D-Loop-BASE)“, die Anfang 2004 schließlich stillgelegt wurde [1]. Demgegenüber ist die SWGDAM (Scientific Working Group on DNA Analysis Methods) Datenbank, die vom FBI verwaltet wird, weiterhin existent. Selbst nach mehrfachen Versuchen zur Beseitigung

von Dokumentationsfehlern ist sie aber immer noch fehlerhaft und überhaupt schwierig zu korrigieren, da einige Originaldatensätze dem FBI-Labor nicht mehr zur Verfügung stehen. Rekombinante Sequenzen, die durch Probenvertauschung entstanden waren, können ohnehin nicht korrigiert werden [20, 21], wenn das biologische Ausgangsmaterial bzw. die extrahierte DNA dafür nicht mehr zur Verfügung steht. Trotz dieser und anderer notorischer Probleme (wie der pauschalen und rassistischen Unterteilung in „Caucasian“, „Hispanic“ und „African American“ [20]) scheint diese Datenbank in den USA immer noch im Gebrauch zu sein und wird sogar anderen Ländern angediehen – darunter einige Dritte-Welt-, Schwellen- und Tigerstaaten, wie der aktuelle koreanische Datenbankversuch (■ **Infobox 1**) zeigt.

Mit dem internationalen Forschungsprojekt EMPOP wurde ab 1999 ein neuer Weg in der hochqualitativen forensischen mtDNA-Analyse beschritten. Zur Reduzierung der Fehlerraten wurden u. a. neue Laborstrategien für die populationsgenetische [9] und spurenkundliche mtDNA-Untersuchung [12] etabliert sowie mathematische Methoden zur Fehlererkennung entwickelt [2] und in der neuen forensischen mtDNA-Datenbank EMPOP (Infobox 1) umgesetzt [19]. Die direkte Verknüpfung forensischer Datensätze mit Labororiginaldaten erlaubt jederzeit Kontroll- und Korrekturmaßnahmen, um die Qualität der EMPOP-Daten zu sichern und zu maximieren.

In der forensischen und medizinischen Genetik bestehen mtDNA-Daten meist in positionsbezogenen Mutationsangaben relativ zur rCRS, was implizit eine vorherige Alignierung der beteiligten mtDNA-Sequenzen voraussetzt. Da die Position von Insertionen und Deletionen in homopolymeren Sequenzläufen aber nicht eindeutig bestimmt werden kann, gibt es mehrere Möglichkeiten, eine derartige Sequenz zu anderen Sequenzen zu alignieren und somit zu annotieren (benennen). Sind abgefragte Sequenzen und Datenbankeinträge unterschiedlich annotiert, kann es hierdurch im forensischen Kontext – wie bei der oben beschriebenen künstlichen Verringerung von Profilhäufigkeiten durch fehlerhafte mtDNA-Sequenzen – zu einer Fehleinschätzung zum Nachteil des

medgen 2008 · 20:302–307
DOI 10.1007/s11825-008-0118-7
© Springer Medizin Verlag 2008

H.-J. Bandelt · W. Parson
**Populationsgenetische
mitochondriale DNA-Daten.
Forensische und
medizinische Nutzung**

Zusammenfassung

Der populationsgenetische Aspekt der Nutzung mitochondrialer DNA in der Forensik und medizinischen Genetik bezieht sich implizit auf die gesamte Datengrundlage und die mtDNA-Phylogenie, von der in Hinblick auf die zu untersuchenden Fragestellungen gezielt Teile ausgesondert werden. Wir heben besonders jene Aspekte hervor, die in der Vergangenheit bei vielen Untersuchungen nicht adäquat berücksichtigt wurden.

Schlüsselwörter

Mitochondrien · Mitochondriale DNA (mtDNA) · mtDNA-Phylogenie · Haplogruppe · Pathogene Mutation

**Population genetics
mitochondrial DNA data.
Forensic and medical use**

Abstract

The population genetics aspect of using mitochondrial DNA (mtDNA) in forensic and medical genetics implicitly concerns the entire database and mtDNA phylogeny, from which parts are targeted according to the questions to be dealt with. We emphasize those aspects that were not adequately considered in many previous studies.

Keywords

Mitochondria · Mitochondrial DNA (mtDNA) · mtDNA phylogeny · Haplogroup · Pathogenic mutation

Verdächtigen kommen. Die von SWGDAM seinerzeit formulierten Empfehlungen (die so genannten „Wilson-Regeln“) zur konsistenten Annotierung von Insertionen und Deletionen in längenvariablen Bereichen der mtDNA wurden in der Praxis nie auch nur annähernd umgesetzt, auch nicht in der FBI-eigenen mtDNA-Datenbank. Der Grund für diese Zurückhaltung besteht darin, dass die auf dem Parsimonitätsprinzip beruhende starre Alignierung zur Referenzsequenz rCRS zu Sprüngen von bis zu 3 Mutationen innerhalb ein und desselben Haplotyps bei weiter von der rCRS entfernten Sequenzen führen kann [3] und damit erst recht eine Fehleinschätzung der Häufigkeit eines mtDNA-Haplotyps produzieren würde (s. Beispiel weiter unten). Die Wilson-Regeln wurden jedoch in der SWGDAM-Datenbank auf jene Sequenzen angewandt, für die sie auf den ersten Blick zielführend schienen. Nachdem die entsprechenden Annotierungen auch von anderen übernommen wurden (z. B. Korea, **Infobox 1**), kam es zu einer Vermischung der Annotierungen und damit zur Inkonsistenz der Datenbankstrukturen. Im Ergebnis führt dies bei der Abfrage dieser Datenbanken zu einer immanenten Frequenzunterschätzung.

Im Gegensatz zur rCRS-basierten stellt die phylogenetische Annotierung von Längenvarianten, wie sie in EMPOP praktiziert wird, eine stabile Methode dar, die eine unbefangene Frequenzabschätzung in der forensischen Praxis ermöglicht [3]. Die hohe Mutationsrate der mtDNA-Kontrollregion kann jedoch auch die phylogenetische Annotierung von mtDNA-Sequenzen erschweren und in seltenen Fällen zu mehrdeutigen Ergebnissen führen. Deshalb empfiehlt sich ergänzend eine Datenbankrecherche, in der die abgefragten und die in der Datenbank befindlichen mtDNA-Daten in positionsfreie Nukleotidsequenzen (im FASTA-Format) umgewandelt und direkt miteinander verglichen werden. Dadurch werden eine Unterschätzung der Häufigkeit von mtDNA-Datensätzen aufgrund von Annotierungsunterschieden ausgeschlossen und eine unverzerrte forensische Beurteilung der Häufigkeit einer mtDNA-Sequenz gewährleistet.

Ein eindrucksvolles Beispiel für unterschiedliche Ergebnisse einer Datenbankrecherche in Abhängigkeit von der Annotierung ist die SWGDAM-Sequenz `THA.ASN.000057 C16147T A16183C C16184A T16189C T16217C A16235G C16294T`. Die Abfrage dieses HVS-I-Motivs in der SWGDAM-Datenbank ergibt neben einem perfekten Treffer, nämlich `THA.ASN.000057` selbst, noch 4 Sequenzen mit je 1 Unterschied und 2 Sequenzen mit je 2 Unterschieden. Die strikte Befolgung der Wilson-Parsimonitätsregel („rule 1“) würde allerdings die Eingabe der Notation `C16147T 16182+C C16189del T16217C A16235G C16294T` erfordern, die dann jedoch keinen Treffer und auch keine Nachbartreffer mit bis zu 3 Unterschieden liefert. Die Befolgung der Regeln würde also die Frequenz in der SWGDAM-Datenbank zum Nachteil eines betroffenen Angeklagten unterschätzen. Die Abfrage der Sequenz im oben geschilderten positionsfreien Format würde hingegen bei beiden Schreibweisen das identische Rechercheergebnis liefern.

Die klassische forensische Anwendung einer mtDNA-Datenbank-Recherche ist die Ermittlung der Populationshäufigkeit einer mtDNA-Sequenz, die im Labor im Rahmen einer Fallbearbeitung ermittelt wurde und mit der mtDNA-Sequenz einer Referenzprobe übereinstimmt. Bei kriminalistischen Untersuchungen werden so meist Tatortspuren mit dem Tatverdächtigen oder dem Opfer verglichen, je nachdem, wie die Beweisführung aussieht. Dies erlaubt die Beurteilung des Beweiswertes der Ergebnisse für die Spurenverursachung und damit für den Kriminalfall an sich. Oft wird über die mtDNA-Analyse aber auch die ethnische Herkunft einer Probe für ermittlungstechnische Maßnahmen geprüft, wie dies am Beispiel der Untersuchungen der mutmaßlichen Überreste von Günther Messner der Fall war [18]. Die an der Diamirflanke des Nanga Parbat in etwa 4300 m Höhe aufgefundene Fibula würde bei positiver Identifikation Reinhold Messners Darstellung bekräftigen, dass sein Bruder dort durch eine Eislawine verunglückte und nicht – wie von ehemaligen Bergsteigerkollegen vorgeworfen – bereits beim Aufstieg über die damals unbestiegene, technisch schwierigere Rupalwand

zurückgelassen wurde. Die Analyse der durch die Witterungsbedingungen stark in Mitleidenschaft gezogenen Fibula ergab den Haplotyp `A16233G C16256T T16311C A16343G C16355T A73G C150T A263G 309+C 315+C A523del C524del`, der der mitochondrialen Haplogruppe U₃ zugehört. Noch vor der Untersuchung der Vergleichsproben der Brüder Reinhold und Hubert Messner kann das mtDNA-Ergebnis auf Plausibilität überprüft werden, nämlich, ob diese mtDNA-Sequenz von einem Europäer stammen kann oder ob eine Herkunft von einem anderen Kontinent wahrscheinlich ist. Die Haplogruppe U₃ ist typischerweise in Mitteleuropa zu finden [13] und wurde insbesondere in Österreich, Deutschland und Italien mit einer Häufigkeit von bis zu 4% beobachtet [8, 9, 23]. Man findet diese Haplogruppe aber z. B. auch im Nahen Osten und im indischen Subkontinent. Die mtDNA-Analyse ergab für die beiden Brüder einen identischen U₃-Haplotyp, der bislang in keiner der forensischen Datenbanken abgelegt wurde (SWGDAM mit etwa 5000 Datensätzen, EMPOP 2.0 mit etwa 10000 Datensätzen). Die Sequenz fand sich auch nicht in einer Literatursammlung von etwa 34000 partiellen mtDNA-Kontrollregionsequenzen, was damit die Annahme erhärtete, dass die Fibula von einem Bruder von Reinhold und Hubert Messner stammte, und die Ergebnisse der Kern-DNA-Marker untermauerte.

Medizinische Nutzung

Die mitochondrialen Erkrankungen bilden eine klinisch heterogene Gruppe von Krankheiten, die aus einer Dysfunktion der mitochondrialen Atmungskette resultieren, die wiederum von Mutationen der Kern-DNA oder der mtDNA verursacht sein kann [10]. Im einfachsten Falle führt eine einzelne Punktmutation zu einer Krankheit, die im Wesentlichen nur ein Organ betrifft, wie etwa das Auge bei LHON (verursacht durch `G11778A, T14484C, G3460A` oder andere seltenere Primärmutationen). Punktmutationen wie `A3243G, T3271C` oder `A3251G` (MELAS) und `A8344G` oder `T8356C` (MERFF) führen zu einem Komplex neurologischer und myopathischer Probleme; die Erklärung dieser und weiterer Akronyme ist

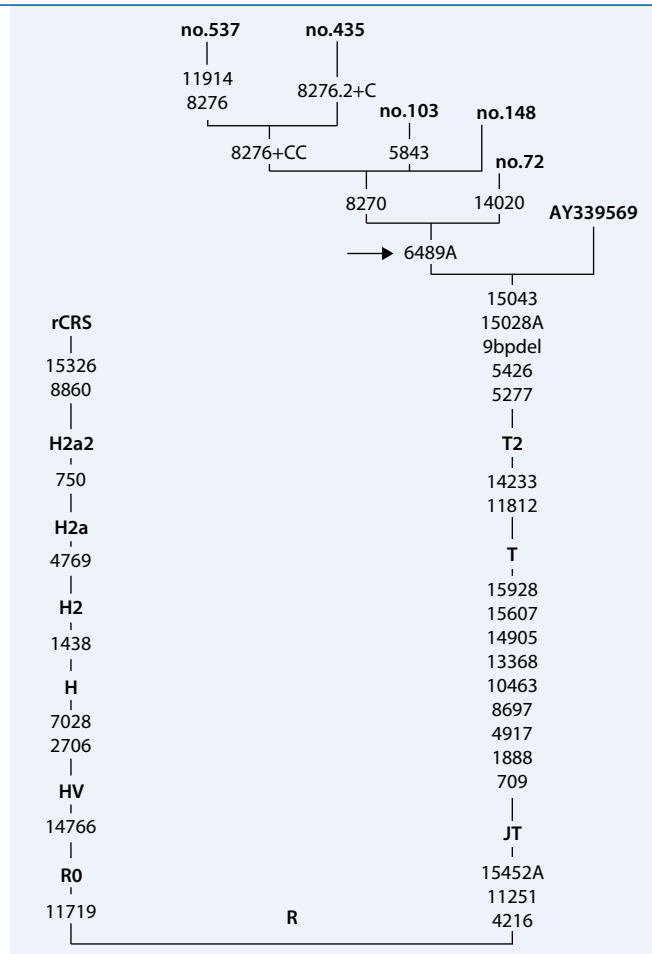
in MITOMAP unter dem Stichwort „disease“ (■ **Infobox 1**) zu finden.

In einigen Fällen kann auch der Haplogruppenhintergrund eine verstärkende Rolle für die klinische Ausprägung einer mitochondrialen Mutation spielen, der entweder bei Vorliegen einer nur leicht pathogenen Mutation das Krankheitsbild zur vollen Ausprägung bringt oder bewirkt, dass eine primär pathogene Mutation mit größerer Häufigkeit erfolgt. Der bestuntersuchte Fall ist die Wirkung des Haplogruppenhintergrunds J1c bzw. J2b als Risikofaktor für LHON ([14] und weitere Zitate dort). Nicht immer kann die mtDNA-Primärsequenz ursächlich für eine mitochondriale Krankheit verantwortlich gemacht werden – das Wechselspiel mit der Kern-DNA ist ebenso entscheidend. So stören z. B. Mutationen im *POLG*-Gen der Kern-DNA die Aufrechterhaltung der mtDNA und können dadurch sekundäre Effekte wie mtDNA-Depletion und größere Deletionen bewirken [15].

Wenn für einen Patienten, bei dem eine mitochondriale Beteiligung am Krankheitsgeschehen vermutet werden kann, eine vollständige Sequenzierung seines mitochondrialen Genoms erfolgen soll, ist die allgemein übliche Vorgehensweise wie folgt: Zunächst werden alle Unterschiede zur Referenzsequenz (rCRS) danach klassifiziert, ob sie in die mitochondrialen RNA-Gene fallen oder zu Aminosäureaustauschen in den Protein kodierenden Genen führen. Dann wird die Standarddatenbank MITOMAP (■ **Infobox 1**) befragt, ob dort die entsprechende Mutation als gutartiger Polymorphismus oder als mögliche bzw. sichere pathogene Mutation anerkannt wird. Mutationen, die (noch) nicht in MITOMAP geführt sind, werden dann von den jeweiligen Autoren oftmals als pathogene Kandidaten aufgefasst. Auf weitergehende Untersuchungen, wie sie bei Chinnery [10] beschrieben sind, wird dann teilweise verzichtet, und es wird auch keine Quantifizierung der Pathogenität, wie sie von MacFarland et al. [17] vorgeschlagen wurde, durchgeführt.

Diese tradierte Vorgehensweise hat allerdings in der Literatur zu einer inflationären Ansammlung von potenziell pathogenen Mutationen geführt, die in man-

Abb. 1 ▶ Position der Mutation C6489A (Pfeil) in der mtDNA-Phylogenie, Zahlen entlang der Vertikalen (ohne A bzw. +) Transitionen, Suffix A Transversion, Suffix + Insertion, Kodewörter entlang der Geraden jeweilige Haplogruppe; 5 Haplotypen mit C6489A. ([13], s. Ian Logan, Haplogruppe T2, ■ **Infobox 1**)



chen Fällen die Einschätzung der Pathogenität verstärkte, da ein und dieselben Mutationen, die als weit verbreitete Polymorphismen in einem Subkontinent vorkommen, immer wieder angesteuert werden, solange diese in der Datenbank nicht ausdrücklich als Polymorphismen gekennzeichnet sind. Es gab und gibt immer noch diesbezügliche Lücken in MITOMAP, die durch zusätzliche Internetabfragen leicht von jedem Benutzer zu füllen wären [5, 7]. Zwei Beispiele aus der Literatur sollen typische Herangehensweisen mit unterschiedlichem Informationsgrad, was die analysierten mtDNA-Linien betrifft, beleuchten.

Beispiel 1

Varlamov et al. [24] untersuchten den Fall eines epileptischen 17-jährigen Mädchens, das eine bis dato nicht publizierte heteroplasmische mtDNA-Mutation, C6489A, aufwies. Weitere Untersuchungen postulierten einen Zusammenhang zwischen der Höhe des heteroplasmischen An-

teils der A-Variante an Position 6489 und der Aktivität der Cytochrom-c-Oxidase (COX) in den Muskelfasern. Obwohl zumindest Teile der mtDNA-Sequenz bestimmt wurden (zum Ausschluss anderer bekannter pathogener Mutationen), wurde in der Publikation lediglich das Vorliegen der Substitution C7028T (die den Haplogruppenstatus H ausschließt) und der so genannten 9-Basenpaar-Deletion (8281–8289)del explizit erwähnt. Nichtsdestotrotz liefert diese defiziente Information einen klaren Hinweis auf den genauen Subhaplogruppenstatus der Patientin. Es wurde nämlich im selben Jahr eine Populationsstudie publiziert, die 5 mtDNA-Sequenzen mit der Mutation C6489A berichtete [13]. All diese mtDNA-Linien gehören zur Haplogruppe T2 und haben außerdem noch die Mutationen T5277C, T5426C, (8281–8289)del, C15028A und G15043A gemeinsam. Die Tatsache, dass bislang kein anderweitiges Vorkommen von C6489A bekannt wurde und die 9-Basenpaar-Deletion in Europa eher selten ist, legt nahe, dass auch die beschrie-

bene Patientin diesen Subhaplogruppentypus trug.

Es ist zwar nicht bekannt, welche der von Herrstadt et al. [13] berichteten mtDNA-Linien zu gesunden Individuen gehörten, dennoch ergibt sich im Hinblick auf die Interpretierbarkeit des Befundes ein Dilemma. Aus der internen Variation (■ **Abb. 1**) ergibt sich für die Subhaplogruppe von T2 ein geschätztes Alter von 5100 (±2300) Jahren, wenn man postuliert, dass C8270T zusätzlich zum Subhaplogruppenmotiv gehört und nur in einer Linie rückmutiert ist. Andernfalls würde sich ein noch höheres Alter ergeben. Es ist daher wenig plausibel, dass die Mutation C6489A in homoplasmischer Form eine dramatische COX-Defizienz herbeiführt. Es bliebe zu klären, ob in dem geschilderten Fall neben C6489A weitere private Mutationen eine Rolle spielten. Die Bedingungen an die Kern-DNA, unter denen der gesamte Haplotyp pathogen wirkt, wären dann mit einem auf diese Subhaplogruppe gezielten Screening zu untersuchen. Der Fall zeigt also, dass das Nichtpublizieren von vorhandenen Sequenzinformationen kontraproduktiv im Hinblick auf die Klärung der Pathogenität einzelner mtDNA-Linien oder ganzer Subhaplogruppen sein kann.

Beispiel 2

Anders als in Beispiel 1 wurde in einer jüngst erschienen Studie zu MELAS mustergültig der volle mtDNA-Hintergrund von Patienten analysiert und auch dokumentiert: Choi et al. [11] stellten den Fall einer betroffenen koreanischen Familie vor, bei der die Mutation T9957C festgestellt wurde, die auch bereits vorher in der Literatur mit MELAS und anderen mitochondrialen Krankheiten (HCM, NAION, PEM; s. MITOMAP, „disease“, ■ **Info-box 1**) in Zusammenhang gebracht wurde. Die Suche in MITOMAP nach Artikeln, in denen T9957C erwähnt wird, benötigte 2 Anfragen, eine mit „9957“ und eine mit „T9957C“ als Suchbegriff. Beide zusammen lieferten tatsächlich eine Reihe relevanter Zitate. Choi et al. [11] beließen es jedoch nicht bei der Herausstellung von T9957C, sondern analysierten und bewerteten die gesamte Kodierungsregion der mtDNA des Patienten und seiner Mut-

ter. Der mtDNA-Haplotyp konnte dann der Haplogruppe M7c2 zugeordnet werden (s. dortige Fig. 3). Dabei wurden nur die Mutationen T9957C und A13849C als privat hervorgehoben, und die restlichen Mutationen (C2389T, T13215C, G13590A und T14180C) fanden keine Erwähnung, da diese in MITOMAP bereits als Polymorphismen geführt wurden (s. dortige Tabelle 1). Damit kamen als potenziell pathogene Mutationen nur T9957C und A13849C in Betracht, von denen dann tatsächlich T9957C schon früher als pathogen beschrieben worden war, A13849C hingegen von Choi et al. [11] erstmalig berichtet wurde.

Choi et al. [11] schrieben weiterhin, dass die beiden letztgenannten mtDNA-Mutationen in 205 gesunden Kontrollpersonen nicht zu finden waren. Dies entspricht der klassischen „allelischen“ Vorgehensweise, wie man sie von der Bewertung der Pathogenität von Kern-DNA-Mutationen gewohnt ist, die hier aber völlig irrelevant ist. Man weiß ja bereits, dass die untersuchte mtDNA des Patienten ein M7c2-Haplotyp ist, für den diese beiden Mutationen nicht haplogruppenspezifisch sind. Nun kann man erwarten, dass die Haplogruppe M7c2 (von der überhaupt nur eine einzige vollständig sequenzierte mtDNA weltweit bekannt ist) recht selten ist, sodass kaum eine realistische Chance bestand, unter 205 Proben mehrere Mitglieder dieser Haplogruppe zu finden. Stattdessen wäre ein größer angelegtes Screening (mit mehr als tausend Proben) der M7c2-spezifischen Mutation G12561A vonnöten gewesen, wobei man davon hätte profitieren können, dass diese Mutation kaum in anderen Haplogruppenkontexten zu finden ist (mtDB, Info-box 1). Falls G12561A nachgewiesen werden kann, würde man zur Bestätigung des M7c2-Status noch etwa die M7c-spezifische Mutation T12091C abklären. Wenn damit der Hinweis auf Zugehörigkeit zu M7c2 hinreichend evident ist, würden die 6 scheinbar privaten Mutationen (C2389T, T9957C, T13215C, G13590A, A13849C und T14180C) jeweils überprüft, um somit eine zeitliche Abfolge der Mutationsereignisse wenigstens teilweise zu rekonstruieren, um insbesondere die neu beobachtete Mutation A13849C in der mtDNA-Phylogenie genauer positionieren zu können.

Ein Vorteil der von den Autoren durchgeführten Sequenzierung besteht darin, dass sie eine Qualitätskontrolle in dem Sinne erlaubt, zu verifizieren, ob alle für den Haplotyp zu erwartenden Unterschiede zur Referenzsequenz rCRS auch tatsächlich vorliegen [6, 22]. In der Tat sind alle Kodierungsregionmutationen, die zwischen den ancestralen Haplotypen der Haplogruppen L3 und M7c2 bisher rekonstruiert wurden, so auch tatsächlich in der Figure 3 von Choi et al. [11] hierarchisch aufgelistet – nicht allerdings die Kontrollregionmutationen, die nur teilweise erfasst sind (z. B. fehlt die Angabe von T489C für Haplogruppe M und T146C für M7c). Wäre in jenem Diagramm auch die rCRS als Referenztyp eingegliedert worden, wäre ersichtlich geworden, dass die Mutation C14766T offenbar übersehen wurde. Denn wenn diese tatsächlich eine parallele Mutation in der privaten M7c2-Linie des Patienten gewesen wäre, hätte diese auch als private Mutation @C14766T (d. h. Rückkehr zum Referenznukleotid an Position 14766) notiert werden müssen. Die Mutation C14766T, die schon zwischen der alten fehlerbehafteten CRS und der korrekten rCRS bestand, bleibt häufig unbeachtet, da in vielen Labors traditionell eine nur teilweise korrigierte CRS und nicht die wirkliche rCRS zum Gegenlesen von Elektropherogrammen verwendet wird [25].

Fazit für die Praxis

Eine Bestandsaufnahme der mtDNA-Phylogenie und der natürlichen mtDNA-Variation in verschiedenen geografischen Regionen ist wesentlich sowohl für eine Bewertung forensischer Spuren als auch für eine genaue Einschätzung der Pathogenität von mtDNA-Varianten im Falle einer Erkrankung mit mutmaßlich mitochondrialem Anteil. In beiden Situationen wurde in der Vergangenheit meist nur ein aphylogenetischer und allelischer Ansatz praktiziert: In der Forensik spielte nur die Identität oder die Fastübereinstimmung von mtDNA-Haplotypen eine Rolle, während in der medizinischen Genetik nur das Vorhandensein spezieller mtDNA-Varianten von Interesse war. Kontrollgruppendaten dienten dann lediglich der

Häufigkeitsabschätzung des Typs bzw. der Variante, unabhängig von der Position der involvierten mtDNA-Sequenzen in einer aktualisierten mtDNA-Phylogenie. Die volle Nutzung der verfügbaren phylogenetischen Information erlaubt

1. in der Forensik gezielt kodierende Bereiche anzusteuern, um eine Übereinstimmung zweier partieller Kontrollregionsequenzen zu verstärken oder evtl. in einem Nichtausschlussfall mit einem Mutationsunterschied eine weitere trennende Mutation zu finden und
2. in der medizinischen Genetik eine Mutation in ihren verschiedenen Haplogruppenkontexten zu untersuchen, um auszuloten, ob diese eine primär pathogene Rolle spielt oder ob sie ihre pathogene Wirkung nur indirekt, d. h. im Zusammenspiel mit Kern-DNA-Faktoren entfaltet.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. H.-J Bandelt

Department Mathematik, Universität Hamburg, Bundesstraße 55, 20146 Hamburg
bandelt@math.uni-hamburg.de

Danksagung. Wir danken Claudio Bravi für den Hinweis auf die Arbeit von Choi et al. [11].

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Bandelt H-J, Parson W (2004) Fehlerquellen mitochondrialer DNS-Datensätze und Evaluation der mtDNS-Datenbank D-Loop-BASE. *Rechtsmedizin* 14: 251–257
2. Bandelt H-J, Dür A (2007) Translating DNA data tables into quasi-median networks for parsimony analysis and error detection. *Mol Phylogenet Evol* 42: 256–271
3. Bandelt H-J, Parson W (2008) Consistent treatment of length variants in the human mtDNA control region: a reappraisal. *Int J Legal Med* 122: 11–21
4. Bandelt H-J, Macaulay V, Richards M (eds) (2006) *Human mitochondrial DNA and the evolution of Homo sapiens*. Springer, Berlin Heidelberg New York
5. Bandelt H-J, Salas A, Bravi CM (2006) What is a „novel“ mtDNA mutation – and does „novelty“ really matter? *J Hum Genet* 51: 1073–1082
6. Bandelt H-J, Yao Y-G, Salas A et al. (2007) High penetrance of sequencing errors and interpretative shortcomings in mtDNA sequence analysis of LHON patients. *Biochem Biophys Res Commun* 352: 283–291
7. Bandelt H-J, Salas A, Taylor RW, Yao Y-G (2008) The exaggerated status of „novel“ and „pathogenic“ mtDNA sequence variants due to inadequate database searches. *Hum Mutat* in press
8. Brandstätter A, Klein R, Dür A et al. (2006) Application of a quasi-median network analysis for the visualization of character conflicts to a population sample of mitochondrial DNA control region sequences from southern Germany (Ulm). *Int J Legal Med* 120: 310–314
9. Brandstätter A, Niederstätter H, Pavlic M et al. (2007) Generating population data for the EMPOP database – an overview of the mtDNA sequencing and data evaluation processes considering 273 Austrian control region sequences as example. *Forensic Sci Int* 166: 164–175
10. Chinnery PF (2006) Mitochondrial disorders overview. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=gene.chapter.mt-overview>
11. Choi B-O, JH Hwang, J Kim et al. (2008) A MELAS syndrome family harboring two mutations in mitochondrial genome. *Exp Mol Med* 40: 354–360
12. Eichmann C, Parson W (2008) „Mitominis“: multiplex PCR analysis of reduced size amplicons for compound sequence analysis of the entire mtDNA control region in highly degraded samples. *Int J Legal Med*, Mar 28. [Epub ahead of print], doi: 10.1007/s00414-008-0227-5
13. Herrstadt C, Elson JL, Fahy E et al. (2002) Reduced-median-network analysis of complete mitochondrial DNA coding-region sequences for the major African, Asian, and European haplogroups. *Am J Hum Genet* 70: 1152–1171, 71: 448–449
14. Hudson G, Carelli V, Spruijt L et al. (2007) Clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy is affected by the mitochondrial DNA-haplogroup background. *Am J Hum Genet* 81: 228–233
15. Hudson G, Chinnery PF (2006) Mitochondrial DNA polymerase- γ and human disease. *Hum Mol Genet* 15: R244–R252
16. Kattmann U (1999) Warum und mit welcher Wirkung klassifizieren Wissenschaftler Menschen? In: Kaupen-Haas H, Saller C (Hrsg) *Wissenschaftlicher Rassismus: Analysen einer Kontinuität in den Human- und Naturwissenschaften*. Campus, Frankfurt New York, S 65–83
17. McFarland R, Elson JL, Taylor RW et al. (2004) Assigning pathogenicity to mitochondrial tRNA mutations: when „definitely maybe“ is not good enough. *Trends Genet* 20: 591–596
18. Parson W, Brandstätter A, Niederstätter H et al. (2007) Unravelling the mystery of Nanga Parbat. *Int J Legal Med* 121: 309–310
19. Parson W, Dür A (2007) EMPOP – a forensic mtDNA database. *Forensic Sci Int Genet* 1: 88–92
20. Salas A, Bandelt H-J, Macaulay V et al. (2006) Phylogeographic investigations: the role of trees in forensic genetics. *Forensic Sci Int* 168: 1–13
21. Salas A, Carracedo Á, Macaulay V et al. (2005) A practical guide to mitochondrial DNA error prevention in clinical, forensic, and population genetics. *Biochem Biophys Res Commun* 335: 891–899
22. Salas A, Yao Y-G, Macaulay V et al. (2005) A critical reassessment of the role of mitochondria in tumorigenesis. *PLoS Med* 2: 296
23. Turchi C, Buscemi L, Previderè C et al. (2008) Italian mitochondrial DNA database: results of a collaborative exercise and proficiency testing. *Int J Legal Med* 122: 199–204
24. Varlamov DA, Kudin AP, Vielhaber S et al. (2002) Metabolic consequences of a novel missense mutation of the mtDNA CO I gene. *Hum Mol Genet* 11: 1797–1805
25. Yao Y-G, Salas A, Bravi CM et al. (2006) A reappraisal of complete mtDNA variation in East Asian families with hearing impairment. *Hum Genet* 119: 505–515