

Citratnutzung bei *Escherichia coli*: Kein evolutionäres Sprungbrett

Die evolutionäre Entstehung der Citratnutzung bei *E. coli* hat in der Ursprungsdebatte schon viel Staub aufgewirbelt. Nun befasst sich eine Studie mit der weiteren Entwicklung dieser „neuartigen“ Abstammungslinie. Dabei wird deutlich, dass die Bakterien zwar ein erstaunlich weitreichendes Anpassungspotenzial haben, dieses aber trotzdem sehr deutlich begrenzt bleibt.

Daniel Vedder

Das Langzeit-Evolutionsexperiment (LZEE) mit *Escherichia coli*-Bakterien, das Richard LENSKI 1988 an der Michigan State University begann, ist schon seit Jahren eines der berühmtesten Experimente der Evolutionsbiologie. Besonders viel Aufmerksamkeit erregte dabei 2008 die Entstehung einer Abstammungslinie, die in der Lage ist, unter aeroben* Bedingungen Citrat zu verstoffwechseln. Da diese als Cit+ bezeichnete Fähigkeit bei normalen *E. coli* nicht vorkommt und ihre Entstehung eine ganz bestimmte Abfolge unterschiedlicher Mutationen erfordert, wurde diese Linie schon bei der Erstveröffentlichung als „evolutionäre Neuheit“ gefeiert (BLOUNT et al. 2008), obwohl keine wirklich neuen Strukturen entstanden waren (vgl. Kastentext). Seitdem taucht sie regelmäßig in der Ursprungsdebatte auf (vgl. VEDDER 2016).

Wachstum und Anpassung unter widrigen Bedingungen

Anfang des Jahres hat nun das Team um LENSKIS Mitarbeiter Zachary BLOUNT eine neue Studie veröffentlicht, in der sie sich dem evolutiven Potenzial des Cit+-Stammes widmen (BLOUNT et al. 2020). Dafür etablierten sie je 12 Cit+-Populationen in einem Nährmedium, das entweder nur Citrat enthielt (DM0), oder aber Citrat und Glucose (DM25). Letzteres ist das Nährmedium, das auch sonst im LZEE verwendet wird; auf ersterem können normale *E. coli* überhaupt nicht wachsen. Die 24 Populationen durften sich anschließend 2500 Generationen lang fortpflanzen. Zur Auswertung maßen die Autoren mehrere Wachstumsparameter, die für die evolutionäre Fitness wichtig sind, und führten Genomanalysen durch.

Tatsächlich konnten sie sehr schön beobachten, wie sich das Bakteriengenom an die neuen Umstände anpasste. Wie schon bei früheren Untersuchungen im Rahmen des LZEE zeigte sich eine deutliche Parallelentwicklung innerhalb der zwei Versuchsgruppen – je nach Nährmedium wurden offensichtlich unterschiedliche

Mutationen selektiert. Dabei entstanden im neuen DM0-Medium insgesamt deutlich mehr Änderungen als im „bekannten“ DM25.

Wie erwartet kam es zu mehrfachen Duplikationen des benötigten Transportproteingens *citT* und anderer für die Citratnutzung relevanter Gene. Solche Duplikationen waren schon in früheren Studien beobachtet worden und kamen auch hier fast durchweg vor. In einem Fall wurde die betreffende Genregion sogar so häufig dupliziert, dass sie schließlich 15 % des Gesamtgenoms ausmachte.

Bemerkenswerter war, dass der weitaus größte Teil der insgesamt aufgetretenen Mutationen auf die Aktivität von Transposons* zurückzuführen war. Über die Bedeutung dieser sog. „springenden Gene“ für die Evolution wird schon länger heiß diskutiert. Hier konnten BLOUNT et al. zeigen, dass ihre Bewegungen im Genom sehr genau vorhersagbar sind, also nicht so zufällig, wie oft angenommen wurde. Außerdem hängen sie von den jeweiligen Umweltbedingungen ab und unterliegen somit offenbar starken Selektionsdrücken.

Trotz dieser beschriebenen selektiven Anpassungen wurde im Experiment jedoch auch deutlich, dass das Wachstum auf Citrat für *E. coli* starken metabolischen Stress bedeutet. Das äußerte sich in einer erhöhten Transkriptionsrate*

Entstehung der Citratnutzung

Normale *E. coli*-Bakterien können Citrat nur unter anaeroben* Bedingungen als Nährstoffquelle nutzen, da das benötigte Transportprotein *citT* nur unter diesen Bedingungen transkribiert wird. Um den Cit+-Phänotyp zu erzeugen, müssen mehrere aufeinander folgende Mutationen auftreten. In einem ersten Schritt kommt es zu einer mehrfachen Duplikation des *citT*-Gens. Das eröffnet die Möglichkeit, dass eine dieser neuen Kopien in den Wirkbereich eines neuen Promoters* eingefügt wird. Dieses sog. „promoter capture event“ kann dazu führen, dass das *citT*-Gen nun auch

unter aeroben Bedingungen transkribiert wird – die grundlegende Voraussetzung für den Cit+-Phänotyp. Spätere Mutationen (z. B. weitere Duplikationen des *citT*-Promoter-Komplexes) können die Fähigkeit zur Citratnutzung dann noch verbessern. Evolutionär betrachtet ist der Cit+-Phänotyp also insofern neuartig, als dass er erhebliche Umstrukturierungen im Genom von *E. coli* erfordert. Dennoch entstehen keine neuen Strukturen, da alle beteiligten Gene, Promoter und Proteine bereits vorhanden sind.

Glossar

aerob: Unter sauerstoffhaltigen Bedingungen (Gegenteil: **anaerob**).

evolutionäre Fitness: Der Grad der Anpassung einer Abstammungslinie an ihre Umgebung, gemessen an der Anzahl ihrer Nachkommen relativ zu den Nachkommen konkurrierender Linien. Im LZEE wird die Entwicklung der Fitness über die Zeit dadurch gemessen, dass man Bakterienproben aus späteren Generationen zusammen mit aufbewahrten Proben der Gründergeneration wachsen

lässt und anschließend ihre jeweiligen Populationsdichten vergleicht.

Promoter: DNA-Abschnitt, der den Start einer abzulesenden Gensequenz kennzeichnet und mitreguliert, unter welchen Bedingungen diese → transkribiert wird.

Transkription: Das „Ablesen“ von Genen, d. h. die Überführung von DNA in RNA.

Transposon: Genetische Elemente („springende Gene“), die sich im Genom selbstständig vervielfältigen und/oder verschieben können.

bestimmter Stressproteine, aber vor allem in einer häufig reduzierten Wachstumsgeschwindigkeit, außergewöhnlich hohen Raten von Zelltod und einer extrem variablen evolutionären Fitness*.

Diese letzte Beobachtung war zweifelsohne die größte Überraschung der Studie: Trotz 2500 Generationen Evolution und der vielen genetischen Anpassungen waren die Populationen am Ende des Experiments nur wenig fitter als zu Beginn. In den meisten Fällen war die Variabilität der Fitness innerhalb der Populationen so groß, dass man keinen klaren statistischen Vergleich mit der Ursprungspopulation anstellen konnte. In ein paar Zelllinien war sie messbar höher, in ein paar anderen aber auch messbar geringer. Ein solches Ergebnis hat es in allen anderen Teilerperimenten des LZEE noch nicht gegeben – gewöhnlich sieht man in einer solchen Zeitspanne eine sehr deutliche und vorhersagbare Zunahme der Fitness. Populationen zu entdecken, die weniger fit waren als ihre Vorfahren, war also gelinde gesagt unerwartet.

Unendliche Evolution?

Welche Konsequenzen haben diese Ergebnisse nun für die Evolutionsbiologie und die Ursprungsdebatte, insbesondere in Bezug auf die Entstehung evolutionärer Neuheiten?

Vorweg soll angemerkt werden: Wie die bisherigen Studien aus dem Lenski-Labor besticht auch diese durch außergewöhnlich gründliche Arbeit und ein solides Experimentaldesign. Die Rigorosität der Wissenschaftler ist beachtenswert und sie sind selber sehr zurückhaltend mit der Interpretation ihrer Ergebnisse.

Gleichzeitig liefern sie überaus spannende Erkenntnisse mit potenziell weitreichenden Folgen. Die Auswirkungen eines größeren

Die Entstehung der Citratnutzung ist kein evolutionäres Sprungbrett, sondern ein Tanz am Rande des Abgrunds.

Evolutionsschrittes wie der Citratnutzung in solchem genetischen Detail und dazu auch noch wiederholt beobachten zu können ist eine phänomenale Gelegenheit.

Mit der Überführung in das reine Citratmedium werden die Bakterien Bedingungen ausgesetzt, in denen sie nicht nur auf eine ungewohnte Nahrungsressource angewiesen sind, sondern die auch noch schädlich für ihren Stoffwechsel sind. Die genomische Veränderbarkeit, mit der sie auf diese Herausforderung reagieren, ist beeindruckend. Gleichzeitig ist diese Formbarkeit aber auch ein Ausdruck von Instabilität: Wie die stark schwankenden Fitnesswerte zeigen, waren die vielen Änderungen bei weitem nicht nur positiv.

Es wird deutlich, dass die Bakterien in einer Umgebung überleben müssen, an die sie überhaupt nicht angepasst sind. Die Autoren sprechen von einer „evolutionär bedingten Fehlanpassung“ auf dem neuen Nährmedium, die auch nach mehreren Tausend Generationen nicht überwunden wurde. Dass *E. coli* überhaupt dort überleben kann, ist das Ergebnis eines beachtlichen Entwicklungsschrittes – der aber scheinbar nicht die Tür aufstößt zu weiteren evolutionären Neuerungen, sondern eher in einer Sackgasse mündet. Es scheint, als hätten die Populationen ihre bestehende Anpassungsfähigkeit beinahe ausgeschöpft, sodass signifikante weitere Anpassungen an die geänderten Bedingungen nicht mehr möglich sind. Im Gegenteil, die Bakterien überleben mehr schlecht als recht; manche scheinen sich sogar darauf spezialisiert zu haben, die vielen abgestorbenen Artgenossen zu verstoffwechseln.

Fazit

Diese Studie zeigt auf beeindruckende Weise, wie weitreichend das adaptive Potenzial eines einfachen Bakteriums sein kann. Gleichzeitig wird aber auch mehr als deutlich, dass sich *E. coli* hier an den äußersten Grenzen dieses Potenzials bewegt. So spannend die Entstehung der Citratnutzung ist: Sie ist kein evolutionäres Sprungbrett, sondern ein Tanz am Rande des Abgrunds.

Literatur

- BLOUNT ZD, BORLAND CZ & LENSKI RE (2008) Historical contingency and the evolution of a key innovation in an experimental population of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 7899–7906.
- BLOUNT ZD, MADDAMSETTI R et al. (2020) Genomic and phenotypic evolution of *Escherichia coli* in a novel citrate-only resource environment. *ELife*, 9, e55414. <https://doi.org/10.7554/eLife.55414>.
- VEDDER D (2016) Citratnutzung bei *E. coli* und die Wiederholbarkeit der Evolution. *Stud. Integr. J.* 23, 100–103.