

Es gibt kein objektives Kriterium, ab welcher Komplexität ein Merkmal nur durch gemeinsame Abstammung entstanden sein kann.

gibt offensichtlich kein objektives Kriterium, ab welcher Komplexität bzw. welcher Anzahl an Ähnlichkeiten und unter Berücksichtigung von welcher Distanz im (zuvor) konstruierten Stammbaum des Lebens ein Merkmal durch Vererbung (gemeinsame Abstammung) hervorgerufen sein soll oder durch mehrfache Evolution (Konvergenz).

Wenn – im besten Fall – durch Arbeiten am Zentralkomplex von Insekten Erkenntnisse gewonnen werden sollten, die helfen, die Parkinson-Krankheit zu besiegen, dann wird es unerheblich gewesen sein, ob die Ähnlichkeiten auf gemeinsamer Abstammung oder auf einer mehrfachen Anwendung eines erfolgreichen „Baukastensystems“ im „Baum des Lebens“ basieren. Die Ähnlichkeit an sich, als naturwissenschaftlich erfasste Tatsache, würde für diesen Therapieerfolg zum entscheidenden Wegbereiter

werden. Insofern ist DOBZHANSKY'S These „Nothing in biology makes sense except in the light of evolution“ durchaus zu widersprechen.

Anmerkung

- ¹ Im Grunde ist der Fund von Spuren von Lebewesen, die zielgerichtete Bewegungen dokumentieren, nicht überraschend, egal wie alt die Spuren sind. Zielgerichtete Bewegungen sind ein grundlegendes Merkmal von Leben; wären Spuren nicht zielgerichtet, würde man sie wahrscheinlich nicht auf Lebewesen zurückführen.

Quellen

- CONWAY MORRIS S (2009) The predictability of evolution: glimpses into a post-Darwinian world. *Naturwissenschaften* 96, 1313–1337.
- GÜNTÜRKÜN O, WILD M, SHIMIZU T, BINGMAN VP & SHANAHAN M (2013) Large-scale network organization in the avian forebrain: a connectivity matrix and theoretical analysis. *Frontiers in Computational Neuroscience* 7; doi: 10.3389/fncom.2013.00089
- STRAUSFELD NJ & HIRTH F (2012) Deep Homology of Arthropod Central Complex and Vertebrate Basal Ganglia. *Science* 340, 157–161.
- http://www.youtube.com/watch?v=_16JqOLLdX4

Erstaunliches Experiment: Flosse zu Bein umgewandelt?

Durch molekulargenetische Manipulationen gelang es einer Forschergruppe, wurmförmige Anlagen statt Beckenflossen bei Zebrafischembryonen hervorzubringen. Ist damit ein wichtiger Schlüssel zum Verständnis der Entstehung von Vierbeinern aus Fischvorfahren gefunden?

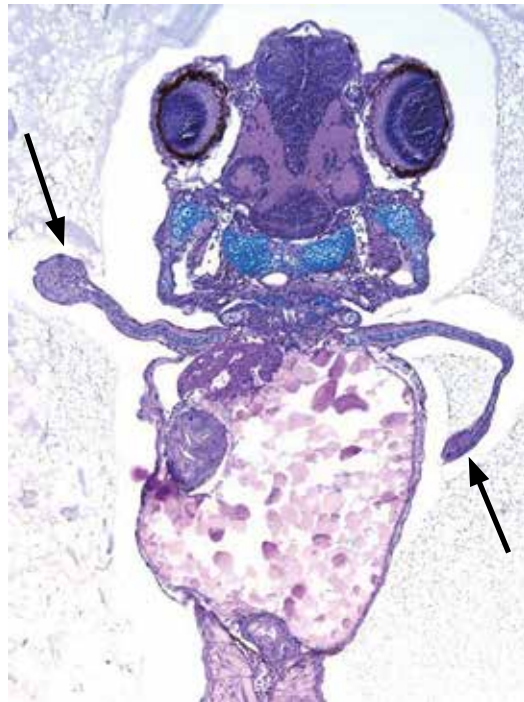
Reinhard Junker & Henrik Ullrich

Als einer der wohl wichtigsten evolutionären Übergänge bei Wirbeltieren gilt der Schritt vom Wasser ans Land und damit der mutmaßliche Umbau von Fischen zu Vierbeinern. Neben fossilen Funden werden heute vielfältige molekulargenetische Untersuchungen herangezogen, um herauszufinden, wie dieser Übergang vonstatten gegangen sein könnte. Sollte sich dieser hypothetische evolutive Umbau tatsächlich ereignet haben, wären davon zahlreiche Funktions- und Baumerkmale betroffen gewesen, unter anderem gilt dies für die Extremitäten: Flossen hätten zu Armen und Beinen umkonstruiert werden müssen. Typisch für die Vierbeiner-Gliedmaßen ist deren Dreiteilung in *Stylopodium* (Oberarmknochen, Humerus bzw. Oberschenkelknochen, Femur), *Zeugopodium* (Elle und Speiche bzw. Schienbein und Wadenbein) und *Autopodium* (Hand- bzw. Fußwurzelknochen, Mittelhand-

bzw. Mittelfußknochen und Finger- bzw. Zehenknochen). Diese charakteristische Unterteilung fehlt bei Fischen. Lediglich manche Extremitätenknochen der Quastenflosser erlauben andeutungsweise einen Vergleich mit Stylo- und Zeugopodium. Dagegen gilt das Autopodium allgemein als evolutionäre Neuheit ohne Homologie mit Bauelementen der Fischflossen. Beim Erwerb der Vierbeinerextremität gingen andererseits die Flossenstrahlen der Fischflossen verloren.

Nun ist es Forschern gelungen, durch experimentelle Manipulation an Embryonen von Zebrafischen die Ausbildung wurmförmiger, an Beinchen erinnernder Strukturen an den Stellen auszulösen, wo sich die Brustflossenanlagen befinden (Abb. 1). Die dafür erforderlichen künstlich herbeigeführten Änderungen der genetischen Regulation des Flossenwachstums

Abb. 1 Mikroskopische Darstellung eines feingeweblichen Schnittes in Höhe des Kopfes und des Rumpfes einer Zebrafischlarve 96 Stunden nach Befruchtung (Größe der gesamten Larve ca. 4 mm; das Bild zeigt nur den vorderen Teil der Larve). Die Anlagen für die Flossen sind als seitliche Bändchen (ca. 200 µm lang) unterhalb des Kopfes sichtbar, am Ende der Bändchen finden sich links mehr als rechts kölbchenartige Auftreibungen (Pfeile). Diese resultieren als Folge einer experimentell angeregten Hoxd13-Überexpression an den Spitzen der Flossen mit vermehrter Bildung von Knorpelvorläuferzellen, was als latente Fähigkeit zur Ausbildung eines Autopodiums von den Forschern interpretiert wird. (Aus FREITAS et al. 2012)



beim Zebrafisch wurden durch ausgeklügelte experimentelle Veränderungen des Erbguts und durch das gezielte Einspritzen von biologisch wirksamen Substanzen (Hormone) in den Embryo ermöglicht. Kleine Ursache – große Wirkung? Wurde damit ein Schlüssel gefunden, wie aus Fischflossen Beine von Vierbeinern werden konnten?

Von der normalen Entwicklung zur Ausbildung von „Beinchen“

Um die Bedeutung der „Beinchen“ des Zebrafisches einschätzen zu können, werfen wir einen Blick auf die normale ontogenetische Entwick-

lung von Beinen und Flossen. In den sich entwickelnden Flossen wird wie bei den Extremitäten der Landwirbeltiere zunächst ein Auswuchs, die sogenannte apikale ektodermale Randleiste (AER) gebildet, die bei der Brustflosse der Fische bald zu einer Flossenfalte wird. Das Wachstum eines Innenskeletts erfolgt im Vergleich mit Vierbeinern auf einem deutlich niedrigeren Niveau. Sowohl in den Anlagen der Fischflossen als auch in denen der Gliedmaßen der Vierbeiner sind spezifische Hoxd-Gene in dieser ersten Phase aktiv, aber nur bei den Vierbeinern erfolgt eine Aktivierung dieser Hoxd-Gene in einer zweiten späteren Phase im Zusammenhang mit der Bildung der körperfernen Teile inklusive der Finger (also des Autopodiums).

Daher wird vermutet, dass der Ursprung der Extremitäten durch eine insgesamt gesteigerte Aktivität des Hoxd-Gens mitverursacht wurde und die Entstehung des Autopodiums mit einer neu erworbenen zweiten Phase der Hoxd-Gen-Aktivität korreliert. Diese zweite Phase wird bei Vierbeinern durch einige Enhancer getriggert, die bei Fischen fehlen. (*Enhancer* bewirken eine vermehrte Nutzung eines Gens.) Wenn nun bei Fischen 1. die Hoxd-Genaktivität durch eine zeitlich abgestimmte Gabe von Hormonen in einer späteren Phase erhöht wird und 2. die fehlenden Enhancer in das Erbgut der Fische eingebracht und aktiviert werden, könnten die so induzierten Funktionssteigerungen der Hoxd-Gene in späteren Entwicklungsphasen bei Fischen zu vergleichbaren Ergebnissen wie bei Mäuseembryonen führen, also zur embryonalen Anlage von Extremitäten. So lautete der prinzipielle Ansatz einer Forschergruppe um José Luis GÓMEZ-SKARMETA (FREITAS et al. 2012; vgl. SCHNEIDER & SHUBIN 2012). Ihre Versuche werden im Textkasten beschrieben.

Diese Experimente schlugen gleich zwei Fliegen mit einer Klappe, da beide Änderungen (eine gesteigerte Aktivität des Hoxd13a-Gens und die Wirksamkeit zusätzlicher Enhancer) auch beim evolutiven Umbau einer Flosse in eine Extremität hypothetisch angenommen werden müssen. Denn es wurden sowohl die sich entwickelnden Flossenstrahlen in der Entwicklung gehemmt als auch Knorpelzellen an der Spitze der nun wurmförmig ausgebildeten Flossenanlagen gebildet (Abb. 2). Insbesondere die Ausdehnung und Neuordnung der Expressionsdomänen (Gebiet, in dem ein Gen abgelesen und damit genutzt wird) des Hoxd13-Gens und seiner Enhancer in der verkleinerten Flossenfalte bis zur Spitze ist beeindruckend. Dieser Befund bedeutet auch, dass im Erbgut des Zebrafisches genetische Regelkreise vorliegen, welche mit den eingebrachten Enhancern wechselwirken konnten. Die Hochregulierung von Hoxd13 könnte also in der evolutionären Geschichte der

Die Experimente

Die Forscher injizierten – den im Text beschriebenen Überlegungen folgend – in einem Experiment spezifisch veränderte Hoxd13-Genvektoren (HoxGR mRNAs, col2a1a:Hoxd13a mRNAs und hsp70:Hoxd13a mRNAs) in die befruchteten Eizellen von Zebrafischen. Diese Vektoren bauten das veränderte Hoxd13 Gen in das Erbgut des Zebrafischembryos ein. Die veränderten Hoxd13-Gene waren so gestaltet, dass sie eine deutlich höhere Aktivität in der Gegenwart von spezifischen Hormonen wie dem Glucokortikoidhormon Dexamethason oder einem Hitzeschockprotein aufwiesen. Diese Hormone wurden während ausgewählter Entwicklungsphasen (z.B. nach 24, 30, 32 und 48 Stunden) dem sich entwickelnden Embryo zugegeben. Als Ergebnis des Experimentes zeigte

sich, dass bei 40% der so behandelten Embryonen die sich entwickelnden Flossenstrahlen verplumpten, in ihrer Breitenentwicklung gehemmt und Knorpelzellen an der Spitze der nun wurmförmigen ausgebildeten Flossenanlagen gebildet wurden. Dort waren sie sonst nicht zu finden. Knorpelzellen sind auch Vorläufer für die Ausbildung von Knochengewebe. In einem zweiten Experiment wurden spezielle Enhancer für das Hoxd13-Gen der Maus (mCsC) über einen ähnlichen Mechanismus wie oben beschrieben in das Erbgut des Zebrafisches eingebracht. Deren Expressionsmuster und das durch sie veränderte Expressionsmuster des Hoxd13-Gens dokumentierte man während der Ausbildung der Flossenanlage. Diese Muster ähnelten denen, die auch bei einem Mäusembryo auftreten.

Vierbeiner mittels neu erworbener Enhancer (s.o.) erfolgt sein, was denselben Effekt hätte wie die künstliche Erhöhung von Hoxd13-Aktivität durch die gezielten Hormonbehandlungen.

Welche Schlussfolgerungen erlaubt dieses Experiment?

Die Fischembryonen starben recht rasch nach den Behandlungen ab, da u.a. das spezifisch überaktivierte Hoxd13-Gen zu Unverträglichkeiten mit anderen Körperfunktionen führte, die nicht mit dem Leben und der Entwicklung des Zebrafischembryos vereinbar waren. Auf den gesamten Organismus bezogen führten die Versuche also in eine Sackgasse.

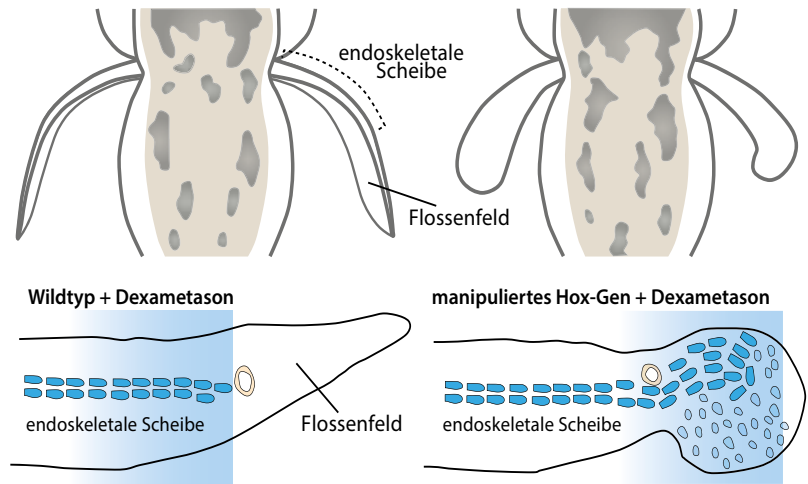
Im Hinblick auf die Entwicklung einer Vierbeiner-Extremität erlauben die Experimente keinerlei Aussagen bezüglich ihrer Folgen für das weitere Wachstum, die Gestaltung und die Differenzierung der sich entwickelnden Extremität. Dass man den entstandenen wurmförmigen Anhang als „Beinchen“ bezeichnet, entspricht der Zielsetzung des Experiments und dem Wunsch der Wissenschaftler, nicht dem tatsächlichen Ergebnis. Denn es fehlt eine Bauplanähnlichkeit der künstlich erzeugten „Beinchen“ mit Beinen von Landwirbeltieren. Wenn man zusätzlich

Auf den gesamten Organismus bezogen führten die Versuche in eine Sackgasse.

berücksichtigt, dass Beine ohne Verbindung mit einem Becken oder Arme ohne Verbindung mit dem Schultergürtel, die wiederum fest an der Wirbelsäule verankert sind, ihre Funktion nicht wahrnehmen können, erscheint die Bezeichnung „Beinchen“ mehr als gewagt. An dieser Stelle sei auch darauf hingewiesen, dass das embryonale Rohmaterial für die Bildung der bindegewebigen Strukturen wie Knochen, Knorpel und Muskeln bei Fischen z. T. aus anderen Quellen stammt als bei den Landwirbeltieren (BOISVERT et al. 2013).

Fakt ist, dass sich wurmförmige Anhängsel gebildet haben genau an den Stellen, die als Ausgangspunkt für eine Evolution von einer Brustflosse zu einer Land-Extremität vermutet werden. Die Expressionsmuster (Muster der Nutzung) einzelner Gene in diesen Anhängseln weisen zum Teil Ähnlichkeiten mit denen der Extremitätenanlagen bei Mäusen auf.

Fakt ist aber auch, dass diese von Menschen gezielt durchgeführten Experimente nicht dazu führten, lebensfähige Organismen hervorzubringen oder dass sich ähnliche Veränderungen auch im Bereich anderer Flossen vollzogen.



Dies sind nicht die einzigen Gründe, weshalb weitergehende Schlussfolgerungen aus diesem sicher bemerkenswerten Experiment nur mit Zurückhaltung möglich sind. So mahnt zur Vorsicht auch die Tatsache, dass die heutigen Zebrafische relativ weit von den mutmaßlichen Vorfahren der Landwirbeltiere entfernt sind, sowohl morphologisch als auch zeitlich (nämlich 400 Millionen Jahre nach radiometrischen Datierungen). Daher wirkt die evolutionäre Interpretation der experimentellen Daten eher gezwungen, wenn man meint, dass ein gemeinsames evolutionäres Erbe – wie die oben beschriebene Sensitivität auf die Enhancer der Hoxd13-Gene – im Erbgut bei Maus und Zebrafisch vorliegen könnte. Welche Selektionsdrücke könnten dieses *genetische Potential zur Extremitätenentwicklung* beim Zebrafisch über einen solch langen Zeitraum aufrechterhalten? Die beobachteten Veränderungen beim Zebrafisch sprechen eher für krankhafte Entwicklungsstörungen ausgelöst durch genetische und medikamentöse Beeinflussung der Embryonalentwicklung.

Es fehlt eine Bauplanähnlichkeit der künstlich erzeugten „Beinchen“ mit Beinen von Landwirbeltieren.

Man kann an dieser Stelle zwar argumentieren, dass aus zunächst nachteiligen oder krankmachenden Ausgangsbedingungen für das Individuum vorteilhafte Veränderungen entstehen können, wenn sich Umweltbedingungen entsprechend ändern. Aber welche Selektionsdrücke und welche Umweltbedingungen könnten den Erhalt der in den Experimenten erzeugten morphologischen Varianten begünstigen? Welche genetischen Mechanismen sind in der Lage, die in den Experimenten *intelligent vollzogenen* Umbauten des Erbgutes zu realisieren? Auf diese Fragen wird im Artikel der Forscher und in den vielen Kommentaren nicht eingegangen.

Für sich alleine genommen sind die beschriebenen künstlichen Veränderungen jedenfalls

Abb. 2 Oben: Schematische Gegenüberstellung der Flossenentwicklung bei Zebrafischlarven mit (rechts) und ohne (links) experimentelle Manipulation mit Überexpression des Hoxd13a-Gens und nach Hormoninjektion (vgl. auch Abb. 1). Die verplumpte Anlage der Flosse und die Auftreibung an der Flossenspitze sind bei der manipulierten Larve deutlich sichtbar. (Nach SCHNEIDER & SHUBIN 2012)
Unten: Vergrößerter Querschnitt durch die Flossenanlage; Knorpelzellen blau. Das hellblaue Band zeigt die Region der Expression spezifischer Hox-Gene und ihrer Enhancer (Verstärker) für die Gliedmaßenentwicklung (u.a. Hoxd13a), links Wildtyp mit Behandlung von Dexametason, rechts manipulierte Larve mit Überexpression von Hoxd13a-GR und nach Injektion von Dexametason. Das Schema verdeutlicht, dass in der manipulierten Larve sich die Expressionsregion von Hoxd13a und der Enhancer deutlich nach peripher verschiebt und in der Flossenspitze Knorpelvorläuferzellen zusätzlich gebildet werden. (Nach FREITAS et al. 2012)

nicht vorteilhaft, selbst wenn man zugunsten des evolutionstheoretischen Arguments davon absieht, dass Zebrafische sich vom mutmaßlichen Landwirbeltier-Vorfahren erheblich unterscheiden (s.o.). Die durch die Experimente erfolgten Abwandlungen der Brustflossen würden selbst ohne den oben erwähnten fatalen Kollateralschaden keinerlei Vorteil für einen Fisch bringen. Dafür wären Hand in Hand gehende zahlreiche weitere abgestimmte Änderungen erforderlich, die dem Träger einer solch umgebauten Extremität wenigstens keinen Nachteil beschieren. Mit den so erzeugten „Beinchen“ kann der Fisch nichts anfangen, er stirbt ihretwegen bereits, bevor er diese in irgendeiner Weise nutzen kann.

Auch wenn beim hypothetischen Übergang vom Wasser ans Land nicht alle dafür erforderlichen Umbauten gleichzeitig erfolgen müssen: Eine isolierte Betrachtung von lediglich einzelnen Aspekten wird der biologischen Realität hier wie an vielen anderen Stellen nicht gerecht.

Anmerkungen

- ¹ Hox-Gene sind auch bei der Ausformung der Körperachse wesentlich beteiligt.
- ² Steuerelemente, die gewöhnlich vor dem betreffenden Gen liegen und durch deren Aktivität das betreffende Gen hochreguliert wird, so dass dieses vermehrt exprimiert (abgelesen, genutzt) wird.

Literatur

- FREITAS R, GÓMEZ-MARÍN C, WILSON JM, CASARES F & GÓMEZ-SKARMETA JL (2012) Hoxd13 Contribution to the Evolution of Vertebrate Appendages. *Dev. Cell*, dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2012.10.015
- SCHNEIDER I & SHUBIN NH (2012) Making Limbs from Fins. *Dev. Cell*, dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2012.11.011
- BOISVERT CA, JOSS JMP & AHLBERG PE (2013) Comparative pelvic development of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and the Australian lungfish (*Neoceratodus forsteri*): conservation and innovation across the fish-tetrapod transition. *EvoDevo* 2013, 4:3, doi:10.1186/2041-9139-4-3

Genomdaten aus fossilem Pferdeknochen

Das älteste bisher ermittelte komplette Erbgut

Moderne, leistungsfähige Methoden zur DNA-Sequenzierung erleichtern die Gewinnung von Genomdaten. Dies wird in zunehmendem Maße auch in der Paläontologie genutzt, um Informationen über das Erbgut aus Fossilien und damit molekularbiologische Daten aus der Vergangenheit zu erhalten. Die Fossilien, die für die hier vorgestellte Studie genutzt wurden, weisen das bisher höchste radiometrisch bestimmte Alter für erfolgreiche Genomsequenzierung auf. Wie zuverlässig sind diese Informationen und welche Probleme gilt es bei deren Interpretation zu bedenken?

Harald Binder

Im Nordwesten Kanadas (Yukon Territory) war 2003 aus Permafrostboden der fossile Mittelhandknochen eines Pferdes geborgen worden. Zu den geologischen Gegebenheiten der Fundstelle und der Datierung machen ORLANDO et al. (2013) folgende Angaben: Das fossile Knochenfragment stammt aus einer Einheit mit organischen Komponenten, die gemeinsam mit Vulkanasche in Eisschichten abgelagert worden sind. Die Vulkanasche (Gold Run volcanic ash) war radiometrisch auf ein Alter von $735\,000 \pm 88\,000$ Jahren datiert worden. Resteiskeile unter der genannten Schicht belegen eine durchgängige Permafrostsituation seit der Ablagerung, auch wenn Hinweise auf zwischenzeitlich mildere Bedingungen vorliegen. Aufgrund dieser und weiterer Befunde geben die Autoren für das Fossil ein Alter von 560 000 bis 780 000 Jahren an. Morphologische Hinweise unterstützen eine

Einordnung ins Mittlere Pleistozän ebenso wie begleitende Fossilien kleiner Säuger und ein unendliches Radiokarbonalter (^{14}C).

Massenspektrometrische Analysen des fossilen Knochenfragments lieferten Hinweise auf das Eiweiß Kollagen in der Knochenmatrix sowie auf weitere 73 Proteine, darunter Peptide, die aus dem Blut stammen.

Diese Hinweise auf gute Erhaltung von Biomakromolekülen in dem fossilen Pferdeknochen veranlassten ORLANDO et al. (2013), die Probe für die Untersuchung auf fossile DNA zu nutzen. Mit modernen, leistungsfähigen Technologien zur DNA-Sequenzierung wurde das gesamte Erbgut ermittelt und unter Nutzung des Pferde-Referenz-Genoms zusammengestellt. Zu Vergleichszwecken und für phylogenetische Analysen sequenzierten ORLANDO et al. (2013) noch ein weiteres Pferdefossil aus dem Jungpleis-