

PALMER TM, STANTON ML, YOUNG TP, GOHEEN JR, PRINGLE RM, KARBAN R (2008) Breakdown of an ant-plant mutualism follows the loss of large herbivores from an African savanna. *Science* 319, 192-195.

YOUNGSTADT E, NOJIMA S, HABERLEIN C, SCHULZ S & SCHAL C (2008) Chemical Ecology Special Feature: Seed odor mediates an obligate antplant mutualism in Amazonian rainforests. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 4571-4575.

Evolutionäres Proteindesign

Zusammenfassung: Ein wichtiger angenommener evolutiver Mechanismus zur Neuentstehung von genetischer Information soll die Verdoppelung eines Ausgangsgens mit anschließenden Mutationen in einem der beiden resultierenden Gene sein. Während die ursprüngliche Funktion durch ein unverändertes Gen aufrechterhalten wird, kann das andere Gen als „Spielwiese der Evolution“ ohne Schaden für den Gesamtorganismus mutieren. Eine schwedische Arbeitsgruppe hat jetzt ein solches Szenario experimentell an einem *Escherichia coli*-Protein nachzustellen versucht.

Nach gängigen evolutionären Vorstellungen soll die „Neukombination“ von Genabschnitten (Gen-„Shuffling“) die Entstehung von neuen Proteinen ermöglichen. Ein solches neues Protein kann dann durch weitere Mutationen und Selektion optimiert werden. Andere Forscher weisen dagegen auf das Fehlen plausibler mechanistischer Vorstellungen hin, wie selbst unter der Voraussetzung von Gen-Shuffling auf molekulargenetischer Ebene tatsächlich neue Proteine aus dem bisher Vorhandenen entstanden sein könnten (z.B. BEHE 2007, 145-158). Zu dieser bisher offenen Frage hat eine Arbeitsgruppe um den renommierten Stockholmer Bioinformatiker Gunnar VON HEIJNE mit einer Publikation in der Fachzeitschrift *Science* eine interessante Studie vorgelegt.

Die Proteine der „Multiresistenz-Familie gegen kleine chemische Giftstoffe“ (Small multiple-drug resistance family oder SMR-Familie) machen das Darmbakterium *Escherichia coli* resistent gegen vielerlei chemische Stoffe, die aus kleinen Molekülen bestehen. Die Schutzproteine befinden sich in der äußeren Membran. Sie pumpen dort die schädlichen Moleküle aus der Bakterienzelle. Eines dieser Proteine ist z. B. EmrE, welches das Wachstum in Gegenwart des Giftstoffes Ethidiumbromid ermöglicht. Es besteht aus zwei (oder mehr) identischen Einzelbausteinen, die in der Membran abwechselnd in jeweils umgekehrter Orientierung angeordnet sind: Ein Einzelbaustein besitzt vier schraubenförmige Bereiche (Helices), die einmal mit dem „Kopf und Schwanz“ nach außen und ein anderes Mal mit „Kopf und Schwanz“ nach innen ragen.

Normalerweise wird die Anordnung von Proteinen in einer Membran durch die „Positiv-Innen-Regel“ (*positive inside rule*) vorhergesagt: Oft liegen

zwischen zwei schraubenförmigen Bereichen Proteinbausteine, die positiv geladen sind (es handelt sich um die Aminosäuren Lysin und Arginin). Diese positiv geladenen Bereiche kommen üblicherweise innerhalb der Zelle zu liegen. Bei EmrE gibt es aber keinen besonders positiv geladenen Bereich. Das ist bei diesem Protein mit der zweifachen Einbau-richtung auch zu erwarten, da es hinsichtlich seiner Orientierung nicht festgelegt ist. Das EmrE-Protein von *E. coli* wird demzufolge nur von einem Gen kodiert, denn dieses Protein kann – wie gesagt – beide Richtungen einnehmen und so eine funktionsfähige Pumpe bauen.

Bei anderen Lebewesen, auch bei Eukaryoten, gibt es weitere ähnliche Proteine aus der SMR-Familie. Sie bestehen allerdings aus zwei verschiedenen Untereinheiten, die dann in der Membran jeweils entgegengesetzt orientiert sind. Die beiden Gene für die beiden Untereinheiten liegen auf dem Erbgut nebeneinander. Diese Anordnung soll evolutionär aus einem Protein mit einer unbestimmten Einbau-richtung, wie des EmrE aus *E. coli*, entstanden sein – das Gen habe sich verdoppelt (Genduplikation) und anschließend sollen sich Mutationen in den beiden resultierenden Proteinen angehäuft haben, die durch Austausch anderer Aminosäuren hin zu positiv geladenen die gegensätzliche Orientierung der beiden Untereinheiten in der Membran fixierten (vgl. Abb. 1). Nach weiteren hypothetischen Evolutionsschritten fusionierten diese beiden Einzelgene und bildeten ein neues Protein, welches nun insgesamt acht schraubenförmige Bereiche besitzt, da es aus zwei Proteinen mit je vier Schrauben hervorgegangen ist.

Simulation im Labor. Die Arbeitsgruppe von HEIJNE wollte dieses hypothetische evolutionäre Szenario im Labor nachstellen (und zugleich die bis dato noch nicht völlig bewiesene zweifache Einbau-richtung von EmrE bestätigen). Die Arbeitsgruppe veränderte den Gehalt positiv geladener Aminosäuren der innen bzw. außen liegenden Schleifen des EmrE-Proteins und beobachtete das Wachstum von *E. coli* in einem Nährmedium mit Ethidiumbromid. Bakterien ohne das EmrE-Gen wuchsen in diesem Medium nicht, im Gegensatz zu solchen Bakterien, die das intakte EmrE-Gen erhalten hatten. Dann veränderten die Forscher das ursprüngliche Gen: Die neue EmrE-IN-Variante wurde so

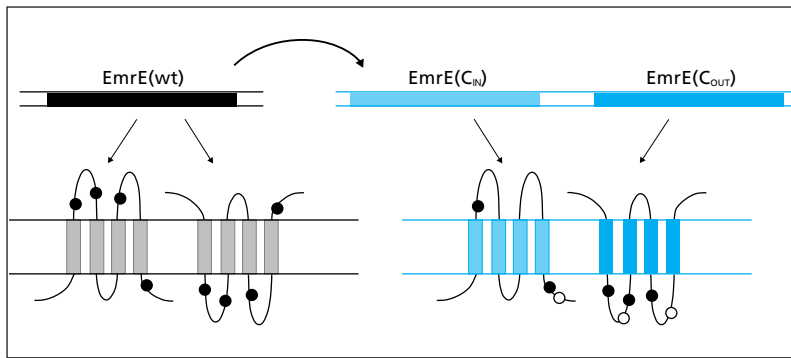


Abb. 1: Veränderung des EmrE-Wildtyps mit dualer Topologie in zwei gegensätzlich in der Membran orientierten Proteine. Schwarze Kreise zeigen positiv geladene Aminosäurereste in den Schleifen zwischen den Transmembranhelizes, weiße Kreise zeigen zusätzlich hinzugefügte positive Reste in den beiden gegensätzlich veränderten Proteinen. (Nach RAPP et al. 2007)

konzipiert, dass „Kopf und Schwanz“ stets innerhalb der Zelle lagen. Dazu wurden 3 Aminosäuren verändert, wovon eine jetzt positiv geladen war. Eine zweite, EmrE-OUT Variante hatte entsprechend ihre „Kopf und Schwanz“-Region stets außerhalb der Zelle, auch bei ihr waren drei Aminosäuren verändert. Zusätzlich waren die beiden künstlichen Varianten mit Fluoreszenzmarkern gekennzeichnet, mit deren Hilfe ihre tatsächliche Orientierung in der Membran ermittelt werden konnte. Wenig überraschend wuchsen *E. coli*, die entweder nur EmrE-IN oder nur EmrE-OUT erhalten hatten, nicht in Gegenwart von Ethidiumbromid. Die erzwungene Einbaurichtung verhinderte den Bau einer funktionellen Pumpe, da abwechselnd IN- und OUT-Protein benötigt werden. Bakterien, die aber beide Gene für EmrE-IN und EmrE-OUT erhalten hatten, konnten eine funktionsfähige Giftpumpe bauen und damit in Gegenwart von Ethidiumbromid wachsen.

**Die Veränderungen wurden gezielt
an einem geeigneten bereits vorhandenen
Gen durchgeführt, was nicht ohne
weiteres als Modell für natürliche
Vorgänge gelten kann.**

Die Aminosäure an 14. Stelle ist beim unveränderten natürlichen Protein am Transport des Ethidiumbromids entscheidend beteiligt. Eine Ersetzung dieser Aminosäure des natürlichen Proteins durch irgendeine andere Aminosäure macht den Transporter funktionslos. Doch die Gruppe von HEIJNE fand heraus, dass in beiden künstlichen Varianten, EmrE-IN oder EmrE-OUT, der Austausch der 14. Aminosäure durch eine andere (Asparagin) ohne wesentliche Funktionsverluste der „gemischten“ Pumpe aus EmrE-IN und -OUT möglich ist (sofern die 14. Aminosäure in der jeweils anderen Variante erhalten bleibt).

HEIJNE und Mitarbeiter sehen ihre Experimente als eine Nachahmung eines evolutionären Weges: Ein Protein mit einer zweifachen Einbaurichtung könne durch Genduplikation zu einem Paar gegensätzlich orientierter Tochterproteine evolvieren. Nach der Duplikation sammeln sich in einem der beiden Tochtergene weitere Mutationen an, die im ursprünglichen Protein zu Funktionsunfähigkeit geführt hätten, jetzt aber auf die Funktion keinen Einfluss mehr haben. Bei einem so problemlosen evolutionären Ablauf sei es nicht verwunderlich, dass viele Membranproteine Zeichen von Genduplikation und innerer Symmetrie zeigten.

Kritische Anmerkungen. Kritisch ist anzumerken, dass HEIJNE keine Angaben über die Wahrscheinlichkeit eines solchen evolutionären Geschehens macht. Von den 121 Aminosäuren des EmrE wurden in dieser Arbeit *gezielt* drei verändert. Dass die Veränderung der natürlicherweise wichtigen 14. Aminosäure in der gemischten Pumpe aus den beiden veränderten Proteine EmrE-IN bzw. EmrE-OUT toleriert werden kann, zeigt noch nicht, dass dies tatsächlich auch zu einem neuen, besseren oder mit einer anderen Funktion versehenen Protein führen könnte. Nach der Veränderung werden nun sogar zwei Gene statt nur einem benötigt. Es wäre zu prüfen, ob die künstlich eingeführten Veränderungen auch unter natürlichen Bedingungen einen Überlebensvorteil bringen und damit selektierbar sind.

Es wäre denkbar, dass durch das hier beschriebene Geschehen – welches aber im Bereich der Mikroevolution verbleibt, denn die Pumpe entsteht nicht *de novo* – eine Zelle eine Resistenz gegen ein neues Molekül anstatt Ethidiumbromid erwirbt. Zu schließen, hier liege nun der Beweis vor, dass durch Genduplikation entstandene Tochterproteine durch weitere Mutationen fast beliebig verändert werden könnten, wäre vermutlich eine Überinterpretation. Eine weitergehende Beurteilung erforderte Experimente, die Wahrscheinlichkeiten für eine selektierbare Veränderung angeben würden. HEIJNES Arbeit ist ein wichtiger Schritt in diese Richtung, der aber nicht überinterpretiert werden sollte. Die Konstruktion von Proteinen mit neuer Funktion ist bislang nicht gelungen, die erfolgreiche Abänderung von Vorhandenem zeigt etwas von der dem Leben innewohnenden Flexibilität (vgl. LEISOLA & TURUNEN 2007). Zudem wurden die Veränderungen *gezielt* an einem geeigneten bereits vorhandenen Gen durchgeführt, was nicht ohne weiteres als Modell für natürliche Vorgänge gelten kann.

Wolfgang B. Lindemann

Literatur

BEHE MJ (2007) Darwins Black Box. Biochemische Einwände gegen die Evolutionstheorie. Gräfe/Hong.

LEISOLA M & TURUNEN O (2007) Protein engineering: opportunities and challenges. *Applied microbiology and biotechnology* 75, 1225-1232.

RAPP M, SEPPÄLA S, GRANSETH E & HEIJNE G (2007) Emulating membrane protein evolution by rational design. *Science* 315, 1282-1284.

Molekulare Daten belegen: Konvergente Evolution komplexer Merkmalssysteme bei den Singvögeln

Neue Ergebnisse und alternative Deutung aus einer teleologischen Perspektive

Zusammenfassung: Die Singvogel-Familie der Honigfresser (Meliphagidae) beinhaltet ca. 180 Arten, welche man vor allem im australasischen Raum antreffen kann. Sie waren aber auch durch fünf endemische Arten (in zwei Gattungen) auf Hawaii beheimatet, die mittlerweile jedoch als ausgestorben gelten. Ihre Zugehörigkeit zu den Meliphagidae, mit deren übrigen Vertretern sie eine Vielzahl von Anpassungen an die Ernährung durch Pollen und Nektar teilen, wurde bisher nie in Frage gestellt. Ohne die nun erfolgte Analyse molekularer Merkmale auf der Basis von Museums-exemplaren wäre das wohl auch nie geschehen. Diese belegen jedoch, dass die monophyletische Gruppe (= Gruppe mit gemeinsamem Vorfahren) der heute ausgestorbenen Hawaiianischen Gattungen *Moho* und *Chaetoptila* nicht den Honigfressern zuzurechnen sind. Tatsächlich ergaben die Sequenz-Analysen sogar eine sehr entfernte Position der beiden Gattungen zur Familie der Meliphagidae. Demnach sind sie stattdessen inmitten von morphologisch unähnlichen Insekten- und Fruchtfressern anzusiedeln.

Aufgrund dieser Ergebnisse führen die Autoren der Studie die neue Familie Mohoidae für die beiden Gattungen ein. Damit liegt nun erstmals eine Vogelfamilie vor, welche in den letzten zweihundert Jahren komplett ausstarb. Aus evolutionsbiologischer Sicht ist bedeutsam, dass die Anpassungen der Mohoidae an den Nektarkonsum konvergent zu den vergleichbaren Merkmalen der Meliphagidae entstanden sein sollen. Da diese Konvergenzen auch relativ nahrungunspezifische Bereiche wie das Federkleid und den Gesang betreffen, ist unklar, wie entsprechende parallele Selektionsdrücke aussehen sollten.

Ausgehend von einem gemeinsamen Anpassungsreservoir an verschiedene Nahrungsangebote in den Stammformen der beiden Familien lassen sich die Daten jedoch problemlos deuten. Die Hypothese von gemeinsamem Potential – entweder in einem gemeinsamen Vorfahren oder im Sinne eines parallelen Designs – erweist sich einmal mehr als sinnvoller Forschungsansatz für die teleologische Perspektive und eröffnet die Mög-

lichkeit einer progressiven Entwicklung des eigenen Forschungsprogramms (im Sinn von LAKATOS 1974) gegenüber der herkömmlichen – ateleologischen – Deutung des Lebens. Ein genetisches Potential im obigen Sinn verleiht außerdem der ansonsten unhaltbaren Annahme eines Kurzzeitrahmens, wie er im Rahmen mancher Design-Modelle vertreten wird, für die Diversifikation der Vogelgruppen Plausibilität.

Die Familie der Honigfresser [Meliphagidae]

Einführung. Die Familie der Honigfresser (Meliphagidae) aus der Ordnung der Sperlingsvögel (Passeriformes) umfasst 182 Arten. Innerhalb dieser Ordnung werden die Honigfresser der Unterordnung der Singvögel (Passeri) zugerechnet. Ihren eingängigen Namen verdanken sie ihrer Ernährung, die sich größtenteils aus Pollen und Nektar zusammensetzt. FLEISCHER et al. (2008) nennen als Anpassungen an diese Ernährungsweise die lange, einrollbare, gegabelte und mit Fransen ausgestattete Zunge, sowie den langen – häufig abwärts gekrümmten – Schnabel (vgl. Abb. 1 und 2). Sie sind vor allem in den Bäumen Australiens und Neuguineas anzutreffen, aber durch einige Gattungen (etwa *Myzomela*, *Foulehaio* und *Gymnomyza*) auch auf vielen Inseln im süd pazifischen Raum beheimatet. Bisher wurden den Honigfressern auch einige Arten auf Hawaii zugeordnet, auf die im Verlauf des Artikels jedoch separat eingegangen wird.

„Verluste“. Nicht wenige Honigfresser-Arten sind in der jüngeren Vergangenheit komplett ausgestorben oder gelten zumindest als stark bedroht. Doch die Meliphagidae hatten noch anderweitig „Verluste“ zu verzeichnen. So wurde beispielsweise die auf Neuseeland endemische Art *Notiomystis cincta* aufgrund molekularer Untersuchungen ausgegliedert und in eine eigene Familie (Notiomystidae) gestellt (DRISKELL et al. 2007; EWEN et al. 2006).