



Über den Entwurf des Lebens: Genetische Redundanz

Lebende Systeme zeichnen sich durch eine Robustheit aus, die es ihnen ermöglicht, Störungen auszugleichen. Seit etwa 20 Jahren ist bekannt, dass durch sogenannte genetische Redundanz eventuelle Fehler leicht verkraftet werden (Fehlertoleranz). Es stellt sich heraus, dass Gene nicht „egoistisch“ und linear arbeiten, sondern in kooperierenden genetischen Netzwerken, in denen es keinen Selektionsdruck auf einzelne Gene gibt. Diese Netzwerkkonstruktionen sind ein großes Problem für die Selektionshypothese der Evolutionstheorie, werden aber auf der Grundlage eines intelligenten Designs erwartet.

Peter Borger

Eine unerwartete Entdeckung

Die Entdeckung der wichtigsten Prozesse der Molekularbiologie in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts ebnete den Weg für ein gründlicheres Verständnis der Komplexität des Lebens. Einer der Schwerpunkte war die Entwicklung fortgeschrittener Technologien zur Aufklärung der Funktion von Proteinen. Eine dieser Technologien führt zu einem sog. *Knockout**, einer Labormaus, in der man die Ausprägung eines bestimmten Gens verhindert, damit das entsprechende Protein nicht mehr gebildet werden kann (BEVAN 2010). Theoretisch könnte der *Phänotyp** einer Maus, der ein bestimmtes Gen fehlt, aufgrund einer dadurch verursachten Veränderung wesentliche Informationen über die Funktion dieses Gens liefern. Denn der entsprechende *Phänotyp* sollte einen Mangel aufweisen, aus dem die Funktion des ausgeschalteten Gens erschlossen werden kann.

Um solche *Knockout*-Mäuse zu erzeugen, setzen Molekularbiologen zunächst einen sog.

Marker* in das betreffende Gen einer embryonalen Stammzelle. Der Marker hat zwei Funktionen. Erstens wird die Nukleotidsequenz des Gens durch den Marker unterbrochen, sodass kein funktionelles Protein mehr erzeugt werden kann. Zweitens weist der Marker darauf hin, welcher Teil der Nachkommen *Knockouts* sind, da er von den Forschern in diesen Nachkommen nachgewiesen werden kann.

Dann wird der Zellkern der manipulierten embryonalen Stammzelle in die Eizelle einer Maus injiziert, die entstandene Zygote zurück in die Gebärmutter transplantiert und auf die Nachkommen der pseudoschwangeren Maus gewartet. Der Nachwuchs wird dann anhand des genetischen Markers ausgewählt. Das Gen, dessen Funktion die Forscher herausfinden wollen, ist in diesen Organismen also unterbrochen und damit funktionslos. Diese Mäuse sind aber noch keine *Knockouts*, denn bei ihnen ist nur *ein* Gen unterbrochen. Wie in allen sich sexuell vermehrenden Organismen kommen auch bei Mäusen die Gene paarweise vor, da sie

Introbild Eine der großen Überraschungen der modernen funktionellen Genomik ist der so genannte *Knockout* ohne *Phänotyp*, bei dem genetische Information entfernt wird, ohne dass der *Phänotyp* des Organismus beeinträchtigt wird. Unabhängig davon, ob das Gen vorhanden ist oder nicht, unterscheiden sich Geschwister nicht. Unglaubliche 10–15 % der Gene eines Labororganismus zeigen nach ihrer Entfernung keinen veränderten *Phänotyp*. (Pakhnyushchy, AdobeStock)

von beiden Elternteilen je eine Kopie bekommen. Um einen richtigen *Knockout* zu erzeugen, müssen jedoch beide Gene inaktiviert werden. Von den ersten Nachkommen braucht man nur ein Männchen und ein Weibchen zu kreuzen, die beide den Marker aufweisen, um einen vollständigen *Knockout* zu erhalten. Falls man die zwei markierten Geschwister kreuzt, wird gemäß MENDELS Gesetzen ein Viertel der Nachkommen tatsächlich zwei unterbrochene Gene haben. Diese Mäuse, die das zugehörige Protein überhaupt nicht mehr synthetisieren können, sind die *Knockouts* (Abb. 1).

Heutzutage gibt es für fast alle menschlichen Gene, die auch in Mäusen vorkommen, einen Maus-*Knockout*, bei dem das entsprechende Gen fehlt. Es gibt kommerzielle Anbieter, bei denen man jeden beliebigen *Knockout* bestellen kann. Tausende und Abertausende von *Knockouts* haben unser Wissen über die Funktionsweise des Genoms* um ein Vielfaches erweitert.

Die Untersuchung der *Knockouts* erbrachte aber auch eine Überraschung: *Knockouts* ohne veränderten Phänotyp. Sie weisen trotz des ausgeschalteten Gens nach der Geburt keine auffälligen Merkmale (Defizite) auf. Sollten sämtliche Gene eine messbare Fitness und einen selektierbaren Wert haben, so müssten alle *Knockouts* einen messbar veränderten Phänotyp besitzen. Viele *Knockouts* treten aber ohne phänotypische Anomalien auf, zeigen keine offensichtlichen Fitness-Effekte oder zeigen diese erst nach der Inaktivierung weiterer Gene. Die *Knockouts* ohne veränderten Phänotyp zeigen, dass es Gene gibt, die ohne Weiteres ausgeschaltet werden

Kompakt

In der funktionellen Genomik wird die Funktion von Genen mit Hilfe von Gen-Knockouts erforscht. Dabei wird in sogenannten Modellorganismen ein Gen technisch inaktiviert. Die Idee ist, dass das Ausschalten des Gens dazu führt, dass der entsprechende Phänotyp* Defekte aufweist und es auf diese Weise Aufschluss über die Funktion des Gens gibt. Die Funktion vieler Gene lässt sich jedoch nicht aufklären, da die Ausschaltung der Gene oft keine direkten Auswirkungen auf den Phänotyp hat.

Seit dieses Phänomen Anfang der 1990er-Jahre zum ersten Mal beobachtet wurde, stießen diese so genannten „Knockouts ohne Phänotyp“ auf große Skepsis. Doch die funktionelle Genomik des späten 20. und frühen 21. Jahrhunderts hat uns zwei wichtige Lektionen gelehrt. Erstens können zwei oder mehr Gene, die untereinander nicht ähnlich sind, einander oft ersetzen. Zweitens gibt es Gene im Genom*, deren Inaktivierung im Labor keine offensichtlichen negativen Auswirkungen und keinen messbaren Einfluss auf die Fitness des Organismus hat. Die Gene sind redundant. Genetische Redundanz, eine der großen Überraschungen der modernen Biologie, kann somit als Zustand definiert werden, in dem die Inaktivierung eines Gens bezüglich der Selektion neutral ist.

Der *Knockout* ohne Auswirkungen auf den Phänotyp (engl: *no-phenotype knockout*) ist nicht nur eine Kuriosität aus dem Labor. Genetische Varianten der freien Wildbahn, die als homozygote „Loss-of-Function“ (HLOF)-Varianten bekannt sind, sind von erheblichem wissenschaftlichem und klinischem Interesse, da sie als „natürliche *Knockouts*“ bezeichnet werden können. Solche natürlichen *Knockouts* stellen die konventionelle evolutionstheoretische Interpretation in Frage, dass genetische Information das Ergebnis natürlicher Selektion ist.

können, ohne Auswirkungen oder mit nur sehr geringen Effekten auf den Phänotyp. Zahlreiche Gene scheinen sogar keine einzige messbare Funktion zu haben.

Die Gene, deren Funktion man nicht experimentell feststellen kann, werden redundante Gene genannt. Die Entdeckung der genetischen Redundanz war eine der größten Überraschungen der modernen Biologie. Redun-

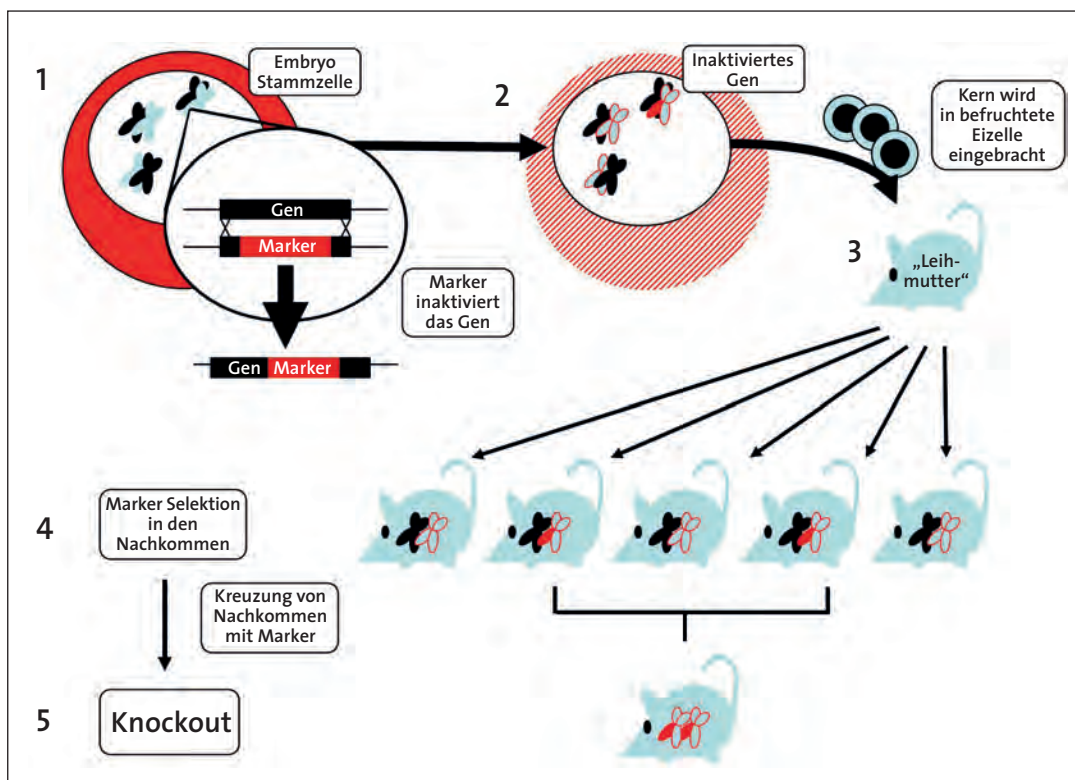


Abb. 1 Schematische Darstellung der Herstellung eines *Knockouts*. Um ein bestimmtes Gen in einer Maus auszuschalten, wird ein genetischer Marker so konzipiert, dass er in das betreffende Gen in einer embryonalen Stammzelle integriert werden kann (1). Danach wird der Zellkern dieser Stammzelle in Eizellen eingebracht (2), die dann in eine pseudoträchtige Maus übertragen werden (3). Mehrere der Neugeborenen werden Träger des unterbrochenen Gens sein (4). Durch Kreuzung dieser Träger, die mit Hilfe des Markers ausgewählt werden können, wird sichergestellt, dass die zweite Generation *Knockouts* hervorbringt, bei denen beide Gene unterbrochen sind (5).

Redundanz ist ein Ingenieursprinzip, wobei zusätzliche, funktional vergleichbare technische Systeme mit eingebaut werden.

danz ist ein Ingenieursprinzip, wobei zusätzliche, funktional gleiche oder vergleichbare technische Systeme mit eingebaut werden, auch wenn diese für einen störungsfreien Betrieb im Normalfall nicht direkt benötigt werden.

Acht genetische Schalter

Eines der faszinierendsten Beispiele von genetischer Redundanz findet sich in der *SRC*-Familie der *Tyrosin-Kinasen*, einer Gruppe von acht Genen, die für sog. Kernrezeptoren codieren – molekulare Schalter, die die Entwicklung und Vermehrung der Zellen regulieren. Vier verwandte Mitglieder der Familie heißen *SRC*, *YES*, *FYN* und *FGR*, während die anderen Mitglieder als *BLK*, *HCK*, *LCK* und *LYN* bezeichnet werden. Auf molekularer Ebene übertragen sie eine Phosphatgruppe auf die Aminosäure Tyrosin, aber nur, wenn diese in einer bestimmten Kombination mit anderen Aminosäuren in einem Protein vorhanden ist. Das Ergebnis dieser Übertragung ist, dass das Protein aktiviert wird, um danach selbst als Schalter zu fungieren. Im evolutionären Erklärungsrahmen vermutet man, dass die acht unterschiedlichen Gene, die für die acht Tyrosin-Kinasen codieren, durch Genduplikationen entstanden sind (TOBY & SPRING 1998).

Die acht *SRC*-Gene codieren also für informationsübertragende Proteine, welche das Innere der Zelle über ihre Umwelt informieren. Wird ein Kernrezeptor von einem Hormon aktiviert, dann wird eine der Aminosäuren (Tyrosin) des Rezeptors kurzfristig phosphoryliert und daraufhin sofort wieder entphosphoryliert. Dieses sehr flüchtige Signal reicht, um das Zellteilungsprogramm im Zellkern zu aktivieren. Es wird aber danach sofort wieder abgeschaltet. Würde es zu lange aktiv bleiben, so wäre das Zellvermehrungsprogramm permanent aktiviert. Darum ist es vorhersehbar, dass Mitglieder der *SRC*-Familie zu den gefährlichsten Genen gehören, die wir aus der Krebsforschung kennen. Denn unkontrollierte Vermehrung bedeutet Krebs. Diese Gene sind häufig die molekulargenetische Ursache von Leukämien und Tumoren, da sie bereits infolge nur einer einzigen Mutation, die das Protein verändert, eine gestörte Zellteilung hervorrufen können. Sogar einzelne Punktmutationen, die zur Folge haben, dass jeweils nur eine einzige falsche Aminosäure eingebaut wird, können tödlich sein. Mutierte *SRC*-Proteine sind darum so gefährlich, weil sie

immer wieder eine Flut falscher Informationen weitergeben und dadurch dann die Zellvermehrung immer weiter ankurbeln. Das Resultat ist Krebs. Was alles noch weiter verschlimmert, ist eine Häufung solcher Mutationen. Eine einzige Mutation reicht aus, um Krebs zu verursachen, da der Ein-Schalter nicht durch den Aus-Schalter – das normal funktionierende (d. h. nicht mutierte Gen) – kompensiert werden kann.¹

Um die Funktionen der *SRC*-Familie besser zu verstehen, wurden *Knockouts* für alle acht Gene angefertigt. Nur fünf wiesen einen auffälligen Phänotyp aus; die restlichen zeigten keine Abnormitäten. Die betreffenden *Knockouts* entwickelten keine Tumore und hatten keine auffälligen Zellteilungsstörungen. Das unerwartete Ausbleiben von Folgen und die daher mutmaßliche Redundanz wirft eine grundlegende Herkunftsfrage auf. Wenn diese Genfamilie auf Genduplikationen zurückgeht, wie haben sie sich dann durch Mutationen differenziert, ohne Krebs auszulösen? Offensichtlich haben die Gene neue Funktionen übernommen, ohne dass Mutationen Krebs auslösen – aber wie? Die Existenz der *SRC*-Genfamilie wird in der Literatur wie folgt erklärt:

„Viele, vielleicht alle proteinschädigenden Punktmutationen, die man in der redundanten, genetischen Familie der *SRC*-ähnlichen Proteine antrifft, führen gleichfalls zu Phänotypen, die nicht lebensfähig sind und den Organismus töten. Darum kann die genetische Redundanz durch eine Anhäufung von Punktmutationen nicht verschwinden“ (TOBY & SPRING 1998).

Da nach diesem Szenario alle Mutationen tödlich sind, müssen die *SRC*-Gene für immer im Genom verbleiben. Mutationen, die sofort zum Tod führen, werfen daher eine interessante Frage nach dem Ursprung der betreffenden Gene auf. Wenn Mutationen in *SRC*-Genen wirklich potenziell so schädlich sind, dass jede Mutation Krebs auslöst, wie konnte dann diese erweiterte Genfamilie durch Genduplikation entstanden sein und sich anschließend durch Mutationen überhaupt erst diversifizieren? Nach der ersten Verdopplung durfte sich keines der Gene verändern, weil das einen nicht lebensfähigen Phänotyp hervorrufen und den Organismus durch Krebs töten würde. Es musste also ständig gegen aminosäureverändernde Mutationen in den *SRC*-Genen selektiert worden sein. Das Gleiche gilt für alle weiteren Genduplikationen. Neue Genkopien dürfen nur an

¹ Da wir von allen Genen zwei Kopien haben (das eine stammt vom Vater, das andere von der Mutter), reicht ein funktionierendes Gen oft aus, um eine normale Funktion zu gewährleisten. Bei dominanten Gain-of-Function-Mutationen, wie der *SRC*-Genfamilie, ist dies jedoch nicht der Fall.

neutralen Stellen mutieren, die keine Aminosäure im Protein ersetzen, da der Organismus an Tumoren sterben würde. Eine permanente reinigende Auslese (engl: purifying selection) müsste stattfinden, um zu verhindern, dass Änderungen der Proteine sich etablieren. Wir müssten daher aktuell immer noch acht identische Proteine antreffen, was den biologischen Tatsachen aber nicht entspricht: Proteine der SRC-Familie unterscheiden sich deutlich voneinander.

Natürliche *Knockouts*: Die natürliche Auslese ausgeknockt

1964 gewann der finnische Skilangläufer Eero Maentyranta zwei Goldmedaillen bei den Olympischen Winterspielen in Innsbruck. Wie es sich für einen Olympioniken gehört, war sein Erfolg über 15 und 30 km von Kontroversen begleitet. Tests ergaben, dass er 15 % mehr rote Blutkörperchen hatte als normale Probanden, und Maentyranta wurde beschuldigt, seine roten Blutkörperchen durch Doping erhöht zu haben. Es konnte jedoch keine Spur von Blutdoping gefunden werden.

Damals wusste niemand davon, aber die moderne Biologie zeigte, dass Maentyranta ein mutiertes EPO-Gen hatte, das für Erythropoietin codiert, einen Botenstoff, der das Knochenmark anregt, die Produktion roter Blutkörperchen zu erhöhen. Im Normalfall bindet sich dazu EPO an den EPO-Rezeptor, das Protein, das die biologische Wirkung des Botenstoffs EPO vermittelt. Nach der Bindung von EPO erzeugt der EPO-Rezeptor zwei entgegengesetzte Signale: eines, das die Zellen des Knochenmarks anregt, rote Blutkörperchen zu bilden (der An-Schalter), und eines, das die Produktion roter Blutkörperchen reduziert (der Aus-Schalter). Dieser selbstregulierende Mechanismus sorgt für eine ausgewogene Produktion roter Blutkörperchen. Im Jahr 1993 stellte sich heraus, dass der Olympiasieger eine Mutation hatte, die den Aus-Schalter ausschaltete (DE LA CHAPELLE et al. 1993). Der EPO-Rezeptor des finnischen Sportlers erzeugte ein normales Aktivierungssignal, aber nicht das Inaktivierungssignal. Menschen können mit einem EPO-Rezeptor, bei dem nur der An-Schalter funktioniert, gute Leistungen erbringen. Ein Teil der Funktionalität ist also verzichtbar; der *Knockout* ist verkraftbar.

Mit der Zeit wurden weitere Gene entdeckt, deren Verlust verkraftbar ist. So zeigte sich, dass der Mensch auf das muskelfaserproduzierende *ACTN3*-Gen verzichten kann (NORTH et al. 1999). Außerdem können Menschen ohne das *CCR5*-Gen, das für die Caspase-12 codiert (WATERSON et al. 2005) existieren; dieses Gen

darf fehlen (GALVANI & NOVEMBRE 2005). Ebenso gibt es Menschen, die einige der *GST*-Gene entbehren können, die an der Entgiftung der im Zigarettenrauch enthaltenen polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe beteiligt sind (VAN DIEMEN 2008). Für alle diese Gene wurden in völlig gesunden Teilpopulationen von Menschen natürliche *Knockouts* gefunden (BORGER 2017). Eine große Überraschung.

Fasziniert von der Vorstellung, dass es in der menschlichen Bevölkerung völlig gesunde natürliche *Knockouts* gibt, begann eine australische Forschergruppe um Daniel MACARTHUR, menschliche Genome zu untersuchen, um sog. homozygote „Loss-of-Function“ (HLOF)-Varianten zu finden. Solche Genvarianten können als natürliche *Knockouts* angesehen werden. Nachdem sie Genome von 185 Menschen gescannt hatten, fanden sie heraus, dass der durchschnittliche gesunde Mensch etwa 100 defekte Gene trägt, die meisten davon in heterozygotem* Zustand, wo das intakte Gen in der Regel das defekte Gen „ausgleichen“ kann. 20 davon sind jedoch in homozygotem* Zustand vorhanden (MACARTHUR et al. 2012). Dies zeigt, dass in jedem Individuum der menschlichen Population ein natürlicher *Knockout* für 20 Gene vorliegt und somit der Bauplan von 20 Proteinen fehlt! Die Forscher wiesen auch nach, dass mehrere der fehlenden Gene eine Rolle im Geruchssinn spielen. Andere waren Mitglieder von sich funktionell überschneidenden Genfamilien, was darauf hindeutet, dass die inaktivierten Gene verloren gehen konnten, weil an anderer Stelle im Genom ein Ersatz vorhanden war. Unter den insgesamt ca. 100 defekten Genen sind 24, von denen bekannt ist, dass sie an schwerwiegenden Krankheiten beteiligt sind, darunter *Osteogenesis imperfecta* (sog. Glasknochenkrankheit) und Harlekin-Ichthyose (sehr seltene Hauterkrankung); außerdem 21 krankheitsverursachende Gene, die jedoch alle nur in einer Kopie bei den betroffenen Personen vorhanden waren (KAISER 2014).

Die meisten der natürlichen *Knockouts* wurden bei weniger als 2 % der Population gefunden. Wie die im Labor erzeugten *Knockouts* bei Mäusen wurden viele menschliche *Knockouts* nicht mit Krankheiten in Verbindung gebracht, was bedeutet, dass die natürliche Auslese nicht in der Lage ist, solche schwächenden Mutationen zu entfernen. Kürzlich wurde der Katalog der bekannten menschlichen HLOF-Mutationen durch die Verwendung von 1432 Ganz-Exom-Sequenzen* aus fünf europäischen Populationen erweitert; nach strenger Filterung wurden insgesamt 173 HLOF-Mutationen identifiziert, von denen 76 (44 %) zuvor nicht beobachtet worden waren (KAISER et al. 2015). Das *Exome Aggregation Consortium* (ExAC), das

die größte Datenbank für Variationen in menschlichen proteincodierenden Regionen erstellt hat, hat Sequenzdaten von mehr als 60.000 Personen zusammengetragen, einschließlich aller vorhandenen Genvarianten in vielen unterschiedlichen menschlichen Populationen. Diese Datenbank ermöglicht die Festlegung objektiver Pathogenitätskriterien für Sequenzvarianten und somit die Identifizierung von Genen, die einer starken Selektion gegen verschiedene Mutationsklassen unterliegen. In diesem enormen Datensatz wurden nur 3230 pathogene Genvarianten der etwa 20.000 menschlichen proteincodierenden Gene identifiziert (LEK et al. 2016). Mit anderen Worten: Obwohl ein großer Teil der proteincodierenden Gene im menschlichen Genom bei einem oder mehreren Individuen inaktiv ist, erzeugt dies trotzdem keine genetischen Erkrankungen oder Fehlbildungen.

Genetische Redundanz ist die Regel, nicht die Ausnahme

Im Säugetiergenom werden acht verschiedene Histon-H1-Proteine von ebenso vielen Histon-H1-Genen codiert. Sie spielen eine Rolle in der Strukturierung der Chromosomen. Wissenschaftler des Albert Einstein College of Medicine in New York wollten wissen, wozu diese Proteine benötigt werden und schalteten die acht Gene, die für diese Proteine codieren, nacheinander in Mäusen aus (FAN et al. 2001). Es zeigte sich, dass Mäuse, in denen das Histon H1 α entfernt worden war, völlig normal waren. Erstaunlicherweise konnte man problemlos sogar zwei dieser Gene aus dem Genom entfernen, ohne dass dies Folgen für die Mäuse hatte. Man staunte darüber, dass kein einziges Tier – sogenannte *Double-Knockouts* – einen auffällenden Phänotyp aufwies.

Auch Pflanzen zeigen ein solches Über-Design. Mit diesem Begriff ist gemeint, dass es Gene zu geben scheint, die verzichtbar sind, möglicherweise aber als Redundanzen fungieren. Bei der Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana*) hat man für fast alle Gene *Knockouts* kreiert. Eine Gruppe von Botanikern meldete, dass nur in weniger als 2% der fast zweihundert von ihnen gezeugten *Knockouts* eindeutig wahrnehmbare Änderungen im Phänotyp aufgetreten seien. Die meisten *Knockouts* waren einfach nicht zu unterscheiden von Pflanzen, bei denen das Gen noch normal funktionierte. Der übergroße Teil der Gene von *Arabidopsis* ist somit anscheinend redundant (BOUCHÉ & BOUCHEZ 2001). Dies ist ebenso die Quintessenz des Genomprojekts des Rundwürmchens *Caenorhabditis elegans*: Nahezu 90% aller *Knockouts* hatten über-

raschenderweise keinen nachweislich veränderten Phänotyp (CONANT & WAGNER 2004).

Knockout-Experimente haben deutlich gemacht, dass genetische Redundanz ein Hauptmerkmal aller untersuchten Lebensformen ist.

Eine ähnliche, fast vollständige Redundanz findet sich in Bakterien. In *Bacillus subtilis* sind nur 270 von den 4.100 Genen essenziell (KOBAYASHI et al. 2003), und in *Escherichia coli* sind es nur 303 von 4.300 Genen (BABA et al. 2006). Die einzelnen Gene der Bakterien können nahezu alle problemlos beseitigt werden, solange die essenziellen Gene des Genoms vorhanden bleiben. Es wird angenommen, dass die meisten *Knockouts* ohne Phänotyp-Veränderung nicht einmal gemeldet werden. PEARSON (2002) schreibt (in Übersetzung):

„[Das sind] viele dieser Dinge, von denen man nichts hört. *Knockouts* ohne Phänotyp-Veränderung sind negative Ergebnisse, und als solche werden sie normalerweise nicht in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht, weil sie keinen Nachrichtenwert haben. Um diesem Problem zu begegnen, gibt es in der Zeitschrift *Molecular and Cellular Biology* seit 1999 einen Abschnitt über *Knockout*-Mäuse und andere mutierte Mäuse, die völlig normal erscheinen.“

Knockout-Experimente haben deutlich gemacht, dass genetische Redundanz ein Hauptmerkmal aller untersuchten Lebensformen ist. Der redundante Charakter der Gene bedeutet selbstverständlich nicht, dass sie keine biologischen Funktionen haben. Es bedeutet nur, dass diese Funktionen experimentell nicht mit der *Knockout*-Technik festgestellt werden können. Wenn Gene entfernt werden können, ohne dass dies dem Organismus Probleme bereitet, wäre es weit hergeholt zu behaupten, dass die natürliche Selektion die treibende Kraft war, die diese Gene geformt hat.

Ein Problem für die Evolutionstheorie

Wie kann genetische Redundanz im Genom stabil erhalten bleiben? Wie haben Organismen Gene entwickelt, die offensichtlich nicht der natürlichen Selektion unterliegen? Könnte genetische Redundanz von Genduplikationen (Verdopplungen) herrühren? Das einflussreiche Buch „*Evolution by Gene Duplication*“ von Susumo OHNO aus dem Jahr 1970 befasst sich mit dieser Idee (OHNO 1970; Abb. 2). Manchmal wird bei Zellteilungen ein Gen oder ein längerer Abschnitt biologischer Information dupliziert. Wenn die Duplikation in Keimbahnzellen

stattfindet und damit vererbbar wird, kann das gleiche Gen zweimal im Genom der Nachkommen vorhanden sein – ein genetisches Backup. OHNO argumentiert, dass Gen- und Genomverdopplungen die Hauptantriebskräfte für die zunehmende Komplexität der Lebewesen im Laufe der Darwin'schen Evolution sind. Er schlägt vor, dass Duplikationen von genetischem Material genetische Redundanzen schaffen, die dann Mutationen anhäufen und neue biologische Funktionen übernehmen können. Duplizierte DNA-Elemente unterliegen nicht der natürlichen Selektion und können frei in neue Gene umwandelt werden, so die Argumentation. Man geht davon aus, dass sich ein dupliziertes Gen im Laufe der Zeit aufgrund von Mutationen in den regulatorischen und codierenden Segmenten des Duplikats in seinen Ausprägungen (Expression) oder in seiner Funktion vom Ursprungsgen unterscheiden kann. Vorteilhafte Duplikate werden von der natürlichen Selektion sicherlich bevorzugt. Gleichzeitig schützt die genetische Redundanz alte Funktionen, wenn neue entstehen, und verringert so die Letalität von Mutationen. OHNO schätzt, dass für jedes neue Gen, das durch Duplikation entsteht, etwa zehn redundante Kopien zu den funktionslosen DNA-Basensequenzen hinzukommen müssen (OHNO 1973). Die Diversifizierung von dupliziertem genetischem Material ist heute die akzeptierte evolutionäre Standardvorstellung darüber, wie Genome an Information gewinnen. OHNOs Idee der Evolution durch Duplikation liefert auch eine Erklärung für die *Knockouts* ohne Phänotypveränderungen: Wenn sich Gene relativ häufig duplizieren, ist es plausibel, dass in den meisten Genomen ein gewisses Maß an Redundanz zu erwarten ist, da Duplikate einen Organismus mit Ersatzgenen versorgen. Wenn eines verloren geht oder inaktiviert wird, übernimmt das andere die Funktion. Die Theorie von OHNO sagt also einen Zusammenhang zwischen genetischer Redundanz und Genduplikation voraus.

Biologen haben diese Frage anhand der zahlreichen genetischen Daten von *Saccharomyces cerevisiae*, der gewöhnlichen Bäckerhefe, untersucht. Erstaunliche 60 % der Gene von *Saccharomyces* konnten inaktiviert werden, ohne dass ein veränderter Phänotyp auftrat (nicht-essenzielle Gene, vermutlich redundante Gene). 1999 berichteten WINZELER und Mitarbeiter in der Zeitschrift *Science* jedoch, dass nur 9 % der nicht-essenziellen Gene von *Saccharomyces* Sequenzähnlichkeiten mit anderen Genen im Hefegenom aufweisen und somit nur diese 9 % das Ergebnis von Duplikationsereignissen sein könnten (WINZELER et al. 1999). Die meisten nicht-essenziellen Gene von *Saccharomyces* sind also nicht mit anderen Genen im Hefegenom

Glossar

Evolvierbarkeit: Die Fähigkeit eines biologischen Systems, phänotypische Variationen hervorzubringen, die sowohl vererbbar als auch adaptiv (angepasst) sind.

Ganz-Exom-Sequenzen: Alle Sequenzen eines Genoms, die die proteincodierende genetische Information enthalten und in mRNA abgeschrieben werden.

Genom: Das komplette Erbgut eines Individuums

heterozygot: Ein Organismus ist heterozygot für ein Merkmal, wenn zwei unterschiedliche Kopien (Allele) eines bestimmten Gens auf den beiden Chromosomen vorliegen.

homozygot: Es liegen zwei gleiche Kopien (Allele) eines bestimmten Gens auf den beiden Chromosomen vor.

Knockout: Modellorganismus (z. B. eine

Labormaus), in der man ein bestimmtes Gen komplett inaktiviert, damit das entsprechende Protein nicht mehr gebildet werden kann.

Marker: Eindeutiges genetisches Merkmal, das man auf einfache Weise wiederfinden und während des Experiments verfolgen kann.

Neutrales Netzwerk: Netzwerk, das aus mehreren redundanten Komponenten besteht, die sich gegenseitig kompensieren können.

paraloges Gen: Ein Gen, dessen Ursprung in einer genetischen Duplikation vermutet wird.

Phänotyp: Das Erscheinungsbild, sämtliche äußeren Merkmale eines Organismus.

verwandt (wobei die Ähnlichkeit der Sequenzen bestimmt und diese als ein Maß der Verwandtschaft interpretiert wird), was darauf schließen lässt, dass sie nicht durch genetische Duplikationen entstanden sind.

Im Jahr 2000 bestätigte Andreas WAGNER die Ergebnisse von WINZELER (1999), dass es nicht wahrscheinlich ist, dass funktionsschwache oder funktionslose Gene sog. *paralogs* Gene innerhalb des Hefegenoms haben, also Gene, deren Ursprung in einer genetischen Duplikation vermutet wird. WAGNER kam zum Schluss, dass die mit genetischer Redundanz verbundene Robustheit nicht durch Genduplikation verursacht worden sein kann, sondern eher auf die Wechselwirkungen zwischen nicht verwandten

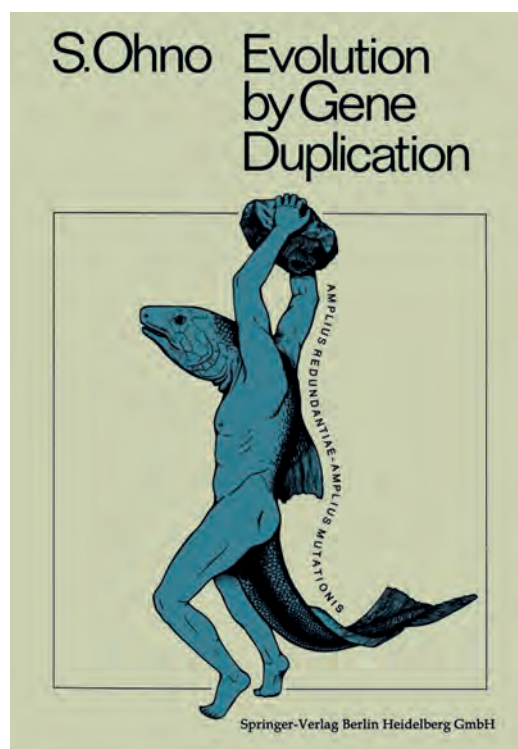


Abb. 2 Das einflussreiche Buch „Evolution by Gene Duplication“ von Susumu OHNO aus dem Jahr 1970 schien eine Erklärung für genetische Redundanz zu liefern: Redundanz durch Gen-Verdopplung (Duplikation). Anfang 2000 wurde jedoch nachgewiesen, dass genetische Redundanz nicht durch Genduplikationen erklärt werden kann.

Genen zurückzuführen ist (WAGNER 2000). Neuere Studien haben gezeigt, dass kooperierende Netzwerke von nicht verwandten Genen wesentlich mehr zur Robustheit beitragen als die Anzahl der Genkopien eines homologen Gens (KITAMI & NADEAU 2002). Wir sind gezwungen, den Schluss zu ziehen, dass der erwartete Zusammenhang zwischen genetischer Redundanz und Genduplikation nicht gegeben ist. OHNOS interessante Idee der Evolution durch Genduplikation hat sich daher nicht bestätigt.

Redundante Gene mutieren nicht schneller als andere Gene

Wenn die Evolution von proteincodierenden Genen hauptsächlich auf (nahezu) neutrale Mutationen zurückzuführen wäre, dann sollten Mutationen in Genen, die der reinigenden Selektion weniger ausgesetzt sind, häufiger erhalten bleiben, da sie nicht selektiv ausgemerzt werden. Solche nicht-essenziellen Gene sollten sich leichter und schneller verändern können. Dieses Argument, das bereits vor über 30 Jahren vorgebracht wurde, ist für viele theoretische Anwendungen der Evolutionstheorie von grundlegender Bedeutung, doch trotz intensiver wissenschaftlicher Untersuchungen konnte diese Vorhersage nicht wirklich bestätigt werden. Im Gegensatz dazu hat eine systematische Analyse von Mäusegenen gezeigt, dass sich essenzielle Gene nicht langsamer verändern als nicht-essenzielle (HURST & SMITH 1999). Ebenso können *E. coli*-Proteine, die in riesigen redundanten Netzwerken arbeiten, genauso viele Mutationen tolerieren wie einzigartige Single-Copy-Proteine (HAHN et al. 2004), und Wissen-

schaftler, die das Genom von Mensch und Schimpanse verglichen, fanden heraus, dass nicht-funktionale Pseudogene, die als Redundanzen betrachtet werden können, einen ähnlichen Prozentsatz an Nukleotidsubstitutionen aufweisen wie essenzielle proteincodierende Gene (NACHMAN & CROWEL 2000). In Bezug auf die Anhäufung von Mutationen gibt es also eine deutliche Diskrepanz zwischen Theorie und Beobachtung.

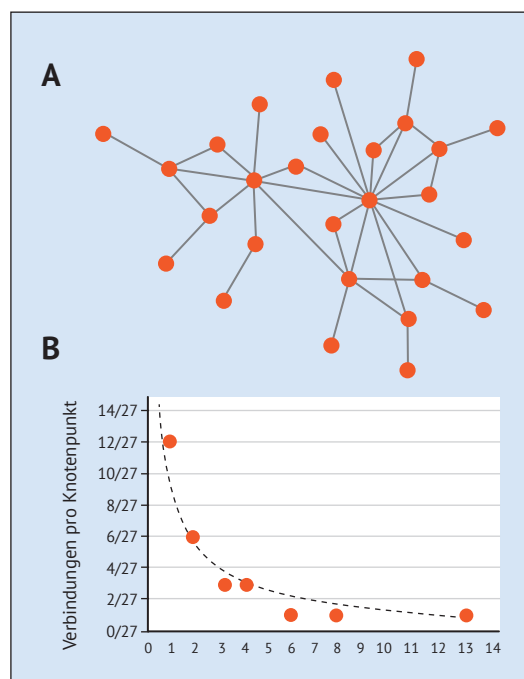
Die Nichtlinearität der Biologie

Genetische Redundanz lässt sich begreifen, wenn man die Nichtlinearität biochemischer Systeme versteht. Es ist paradox, dass einerseits die umfangreichen Darstellungen biochemischer Reaktionen Hunderte von gekoppelten und vernetzten Reaktionen zeigen, während andererseits Doktoranden stillschweigend ermutigt werden, in Begriffen von linearer Ursache und Wirkung zu denken. Das lineare Ursache-Wirkungs-Denken der antiken griechischen Philosophie wurde von den europäischen Gelehrten des 19. Jahrhunderts übernommen und beeinflusst noch immer viele Wissenschaftsbereiche. Im Bereich der Systembiologie hat man jedoch festgestellt, dass die genetische Redundanz und die biologische Robustheit nicht in linearen Begriffen einer einzigen Kausalität zu verstehen sind, bei der A zu B führt, B zu C, C zu D, usw. Biologische Systeme funktionieren nicht auf diese Weise. Biologische Systeme sind als skalenfreie Netzwerke konzipiert (Abb. 3) (ALBERT 2005). In einem skalenfreien Netzwerk folgt die Verteilung der Knotenverknüpfungen einem Potenzgesetz, d. h. es enthält viele Knoten mit einer geringen Anzahl von Verknüpfungen, wenige Knoten mit vielen Verknüpfungen und sehr wenige Knoten mit einer hohen Anzahl von Verknüpfungen.

Genetische Redundanz hängt mit der Nichtlinearität biochemischer Systeme zusammen.

Gene arbeiten fast nie allein, sondern sie kooperieren in Netzwerken mit unglaublicher Pufferkapazität, die durch redundante Elemente erzeugt wird. In einem einfachen nichtlinearen biologischen System mit den Knoten A bis E kann A zwar B verursachen, aber A verursacht auch D unabhängig von B und C (Abb. 4). Dieses sehr einfache Netz mit nur fünf Knoten zeigt die Robustheit aufgrund der Redundanz von B und C. Wenn A die Verbindung zu D nicht herstellen kann, gibt es immer noch B und C, die die Verbindung herstellen können. In

Abb. 3 Beispiel für ein kleines skalenfreies Netzwerk (A). Von den 27 Knoten stellen nur wenige die meisten Verbindungen her. Wenn man die relative Anzahl der Verbindungen pro Knoten gegen die Anzahl der Knoten mit einer bestimmten Anzahl von Verbindungen aufträgt, erhält man eine Potenzgesetzbeziehung (B). (Nach BARABÁSI & OLTVAI 2004)

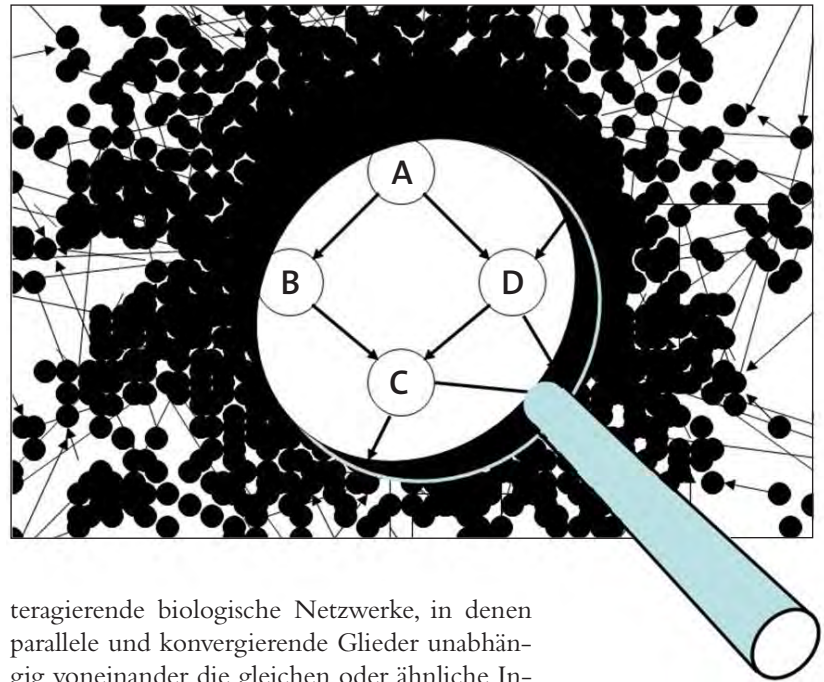


ausgedehnten Netzwerken, die aus Hunderten von miteinander verbundenen Proteinen bestehen können, sind Puffer eingebaut, sodass das Netzwerk (oder Teile davon) nicht durch eine Mutation inaktiviert wird und wichtige Signalwege dadurch nicht sofort stillgelegt werden. Ein Netzwerk aus kooperierenden Proteinen, die ihre Funktionen gegenseitig ersetzen oder umgehen können, macht ein biologisches System robust. Es ist unklar, wie die Selektion auf einzelne Knoten in einem skalenfreien, redundanten System wirken könnte.

Komplexe technische Systeme beruhen auf skalenfreien Netzwerken, die kleine Ausfälle verkraften können, um größere Ausfälle zu verhindern. Gene, die in skalenfreien Netzwerken zusammenarbeiten, bieten lebenden Systemen ein Anti-Chaos-Modul, das für Stabilität und Robustheit erforderlich ist. Genetische Netzwerke dienen normalerweise zur Stabilisierung und Feinabstimmung der komplexen Regulierungsmechanismen lebender Systeme. Sie kontrollieren die Homöostase, regulieren die Aufrechterhaltung von Genomen und liefern regulatorische Rückkopplung auf die Genexpression. Eine Überschneidung der Funktionen von Proteinen sorgt auch dafür, dass eine Zelle nicht nur mit „an“ oder „aus“ auf einen bestimmten biochemischen Prozess reagieren muss, sondern irgendwo dazwischen agieren kann.

Komplexe technische Systeme beruhen auf skalenfreien Netzwerken, die kleine Ausfälle verkraften können, um größere Ausfälle zu verhindern.

Die meisten Gene im Genom sind an regulatorischen Netzen beteiligt, die Informationen erkennen und verarbeiten, damit die Zelle über ihre Umgebung informiert ist. Die Proteine, die in diesen Netzen operieren, kommen als große Genfamilien mit sich überschneidenden Funktionen vor. In einer Kaskade von Aktivierungen und Inaktivierungen von Signalproteinen werden Informationen über äußere Vorgänge zum Zellkern transportiert, damit dieser angemessen reagieren kann. Fällt eine der Interaktionen aus, so wird das Gleichgewicht des Lebens nicht sofort gestört. Die in genetischen Netzwerken vorhandene Pufferkapazität sorgt auch für die Robustheit, die es lebenden Systemen ermöglicht, sich in der Zeit fortzupflanzen. In einem linearen System würde eine einzige schädliche Mutation das System als Ganzes sofort lahmlegen: Die Stärke einer Kette wird durch ihr schwächstes Glied bestimmt. Viele interagierende und miteinander verwobene Knoten erzeugen dagegen robuste genetische Netzwerke und gewährleisten eine genetische Redundanz. In-



teragierende biologische Netzwerke, in denen parallele und konvergierende Glieder unabhängig voneinander die gleichen oder ähnliche Informationen übermitteln, versagen fast nie. Robustheit ist daher eng mit Fitness verbunden. Jüngste Studien deuten darauf hin, dass sie auch eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung neuer Arten spielen kann. Eine zunehmende Robustheit, so wird vorgeschlagen, kann zum Entstehen von Evolvierbarkeit* führen, wenn bei der Artbildung ein neutrales Netzwerk* zur Verfügung steht (WHITACRE & BENDER 2010). Die natürliche Auslese spielt dann so gut wie keine Rolle mehr: Neue Arten ergeben sich von selbst aus dem vorhandenen Erbgut. Und das ist ein klares Indiz dafür, dass Genome so konzipiert sind, dass sie neue Arten hervorbringen können.

Abb. 4 Die Lupe zoomt auf 4 Knoten (A, B, C, D) eines komplexen biologischen Netzwerks. In diesem Netzwerk kann A über zwei verschiedene Wege D erreichen, über B oder über C. Wenn B inaktiviert ist, kann D immer noch über C erreicht werden. Um die Robustheit lebender Organismen zu gewährleisten, sind biologische Systeme mit Redundanzen wie dieser konstruiert, was ein klares Zeichen für die Prinzipien der Ingenieurskunst ist.

Ingenieurtechnisches Merkmal

Genetische Redundanz ist eine ingenieurtechnische Eigenschaft von Genomen und stellt eine eindeutige Herausforderung für das Standardparadigma der Evolution dar, da sie die Bedeutung des Darwin'schen Selektionsmechanismus als wichtige Kraft in der Entstehung von genetischer Information in Frage stellt. Es ist auch wichtig zu erkennen, dass überflüssige Gene nicht über Millionen von Jahren im Genom vorhanden gewesen sein können, da die natürliche Selektion, eine konservative Kraft, ihre Zerstörung durch negative Mutationen nicht verhindern kann. Mainstream-Biologen, die im darwinistischen Rahmen ausgebildet sind, haben große Mühe, die Existenz von Genen ohne natürliche Selektion zu verstehen. Dies geht aus einer Aussage von Mario CAPPECCHI, einem Pionier in der Entwicklung der *Knockout*-Technologie, hervor, die er vor einigen Jahren in *Nature* veröffentlichte (zit. nach PEARSON 2002, in Übersetzung):

„Ich glaube nicht, dass es eine einzige [Knock-out-]Maus gibt, die keinen [veränderten] Phänotyp aufweist. Wir stellen einfach nicht die richtigen Fragen.“

Eine der richtigen Fragen, die gestellt werden müssen, lautet: Ist das evolutionäre Paradigma korrekt? Meine Antwort darauf lautet: Nein, es hat sich in dem hier betrachteten Zusammenhang nicht bewährt. Die Selektion kann nicht erklären, was die moderne Biologie über Genome enthüllt hat. Robustheit durch genetische Redundanz ist das, was man erwarten würde, wenn das Leben das Produkt eines intelligenten, vorausschauenden Designers wäre.

Literatur

- AKIYAMA M, CROOKE E & KORNBERG A (1992) The Polyphosphate Kinase Gene of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 267, 22556–22561.
- ALBERT R (2005) Scale-free networks in cell biology. *J. Cell Sci.* 118, 4947–4957.
- BABA T, ARA T et al. (2006) Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection. *Mol. Syst. Biol.* 2:2006.0008.
- BARABÁSI A-L & OLTVAI ZN (2004) Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat. Rev. Genet.* 5, 101–113.
- BEVAN MJ (2010) The earliest knockouts. *J. Immunol.* 184, 4585–4586.
- BORGER P (2017) Natural Knockouts: Natural Selection Knocked Out. *Biology (Basel)* 6, 43.
- BOUCHÉ N & BOUCHEZ D (2001) *Arabidopsis* gene knockout: phenotypes wanted. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 4, 111–117.
- CONANT GC & WAGNER A (2004) Duplicate genes and robustness to transient gene knock-downs in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Biol. Sci.* 27, 89–96.
- DE LA CHAPELLE A, SISTONEN P, LEHVASLAIHO H, IKKALA E & JUVONEN E (1993) Familial erythrocytosis genetically linked to erythropoietin receptor gene. *Lancet* 341, 82–84.
- Exome Aggregation Consortium, The Broad Institute (Zugriff: Juni 2022); <https://gnomad.broadinstitute.org/>
- FAN Y, SIROTKIN A, RUSSELL RG, AYALLA J & SCOUTLICH AI (2001) Individual somatic H1 subtypes are dispensable for mouse development even in mice lacking the H1(0) replacement subtype. *Mol. Cell. Biol.* 21, 7933–7943.
- GALVANI AP & NOVEMBRE J (2005) The evolutionary history of the CCR5-Delta32 HIV-resistance mutation. *Microbes Infect.* 7, 302–309.
- HAHN MW, CONANT GC & WAGNER A (2004) Molecular evolution in large genetic networks: does connectivity equal constraint? *J. Mol. Biol.* 58, 203–211.
- HURST LD & SMITH NGC (1999) Do essential genes evolve slowly? *Curr. Biol.* 9, 747–750.
- KAISER J (2014) The hunt for missing genes. *Science* 344, 687–689.
- KAISER VB, SVINTI V et al. (2015) Homozygous loss-of-function variants in European cosmopolitan and isolate populations. *Hum. Mol. Genet.* 24, 5464–5474.
- KITAMI T & NADEAU JH (2002) Biochemical networking contributes more to genetic buffering in human and mouse metabolic pathways than does gene duplication. *Nat. Genet.* 32, 191–194.
- KOBAYASHI K et al. (2003) Essential *Bacillus subtilis* genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 4678–4683.
- LEK M, KARCZEWSKI KJ et al. (2016) Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 536, 285–291.
- MACARTHUR DG, BALASUBRAMANIAN S et al. (2012) A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding gene. *Science* 335, 823–828.
- NACHMAN MW & CROWELL SL (2000) Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. *Genetics* 156, 297–304.
- NORTH KN, YANG N et al. (1999) A common non-sense mutation results in alpha-actinin 3 deficiency in the general population: Evidence for genetic redundancy in humans. *Nat. Genet.* 21, 353–354.
- OHNO S (1970) *Evolution by Gene Duplication*. Springer, New York.
- OHNO S (1973) Evolutional reason for having so much junk DNA. In: PFEIFFER RA (ed) *Modern Aspects of Cytogenetics: Constitutive Heterochromatin in Man*. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, pp. 169–173.
- PEARSON H (2002) Surviving a knockout blow. *Nature* 415, 8–9.
- TOBY JG & SPRING J (1998) Genetic redundancy in vertebrates: polyploidy and persistence of genes encoding multidomain proteins. *Trends Genet.* 14, 46–49.
- VAN DIEMEN C (2008) *Genetics of Lung Function Decline and COPD development*, Ph.D. dissertation, Gildeprint Enschede, Netherlands, p. 127.
- WAGNER A (2000) Robustness against mutations in genetic networks of yeast. *Nat. Genet.* 24, 355–361.
- WATERSON RH, LANDER ES & WILSON RK (2005) The Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium, Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. *Nature* 437, 69–87.
- WHITACRE J & BENDER A (2010) Degeneracy: a design principle for achieving robustness and Evolvability. *J. Theor. Biol.* 263, 143–153.
- WINZELER EA et al. (1999) Functional characterization of the *S. cerevisiae* genome by gene deletion and parallel analysis. *Science* 285, 901–906.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Peter Borger, Rosenbergweg 29, 72270 Baidersbronn
E-Mail: peter.borger@wort-und-wissen.de