

## ***Gensequenzen***

Die wichtige Rolle von Rekombinationen für die bakterielle Evolution konnte eindeutig erst anhand von Sequenzdaten belegt werden. Dieser “sexuelle” Prozess führt bei Bakterien zum Austausch einer chromosomalen Region mittels homologer Rekombination, ist also gebunden an das Vorkommen identischer Sequenzbereiche, welche das mobile DNA-Fragment erkennen kann. Die DNA wird von der Spenderzelle, dem Donor, entweder durch Transduktion, Konjugation oder Transformation auf den Empfänger (Rezipient) übertragen. Hierbei wird die Transformation als ein adaptiver Mechanismus verstanden, der nach heutiger Ansicht natürlicherweise nur bei wenigen Bakterien vorkommt. Ob die Transformation tatsächlich so selten vorkommt, muss jedoch kritisch diskutiert werden. Tatsächlich sind die meisten Belege fast ausnahmslos auf Laborexperimente zurückzuführen (Bergthorsson and Ochman, 1999; Briggs and Fratamico, 1999).

Belegt ist die Möglichkeit der direkten Aufnahme fremder DNA mittels Transformation bislang nur für wenige Arten, teilweise sogar nur für bestimmte Stämme einer Art, die als natürlich kompetent bezeichnet werden. Dabei handelt es sich um die Spezies *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori* sowie *Campylobacter jejuni* (Arber, 1993; Lederberg, 1998; Feil et al., 2000). Wenn die elterlichen Moleküle ausreichend verschieden sind, können solche Ereignisse mittels Sequenzanalyse nachvollzogen werden. Eine vergleichende Sequenzanalyse würde dann das Vorliegen von Regionen ergeben, die partiell eine sehr hohe Ähnlichkeit aufweisen, stückweise aber von sehr unterschiedlichen Regionen unterbrochen wären. Derartige Sequenzbereiche werden als Mosaikstrukturen bezeichnet und wurden zuerst bei *E. coli* beobachtet (Dykhuisen and Green, 1986; Milkman and Bridges, 1993; Sanderson et al., 1993; Milkman, 1996; Hacker et al., 1997; LeClerc et al., 1999).

Der Austausch genetischen Materials zwischen Stämmen einer Art, aber auch zwischen Bakterien unterschiedlicher Spezies, Gattungen oder sogar Familien, wird übergreifend als horizontaler Gentransfer bezeichnet. So können Donor und Rezipient z.B. in ihren Nukleotidsequenzen um über 20 % differieren (z.B. *Streptococcus pneumoniae* und *Neisseria*) (Smith and Smith, 1998). Unter dieser Annahme wird deutlich, dass sich Bakterien trotz ihrer asexuellen Vermehrung evolutionär sehr rasch und in einem erheblich stärkeren Umfang verändern können, als dies lange Zeit angenommen wurde. Dieses Phänomen ist besonders deutlich bei der Evolution von Resistenzen gegen Antiinfektiva (Briggs and Fratamico, 1999) zu erkennen, weil die meisten dieser Ereignisse jung sind und noch nicht durch spätere Mutationen verdeckt wurden.

Ein Beispiel hierfür ist Penicillin. Dieses Antibiotikum wird dadurch unwirksam, dass der Angriffspunkt des Antibiotikums, das Penicillin-bindende-Protein (PBP) durch Mutation derart verändert wird, dass der Angriffspunkt des Penicillins wegfällt. Andere Bakterien wiederum werden durch den Erwerb eines Enzyms, welches Penicillin zerstört, resistent. Dieses Enzym, die  $\beta$ -Lactamase, ist auf einem Plasmid kodiert und kann mittels Konjugation zwischen einigen taxonomisch nicht verwandten Bakterien übertragen werden (Nelson and Selander, 1994; Nelson and Young, 2000). Im Gegensatz dazu sind *Streptococcus spp.* und *Neisseria spp.* Transformations-kompetent, d.h., der horizontale Gentransfer kann nicht nur über Konjugation, sondern auch durch direkte Aufnahme von fremden DNA-Molekülen stattfinden. Ihre Resistenz haben sie durch Veränderung ihres PB-Proteins mittels Transformation ausgebildet, so dass Penicillin bei den entsprechenden Stämmen nicht mehr binden und wirken kann. Die Resistenzentwicklung bei Neisserien verdeutlicht dies sehr anschaulich. Vor 1950 waren sowohl die Gonokokken als auch die Meningokokken noch vollständig Penicillin-sensitiv. Sie wurden durch Akquirierung kurzer DNA-Regionen von kommensalen *Neisseria*-Spezies resistent, die vermutlich schon vor 1950 zufällig resistent waren (Smith et al., 2000). Eine Analyse von Mosaikstrukturen, d.h. die Nachvollziehung der einzelnen Rekombinations-Ereignisse ist allerdings nur dann möglich, wenn sich diese Rekombinations-Ereignisse nicht zu häufig mit unterschiedlichen Gensequenzen innerhalb der untersuchten Population vermischt haben. Dadurch könnten sie in den verschiedenen Stämmen der jeweiligen Spezies kaum noch gefunden werden. Im Fall von PBP-Loci werden solche Sequenzen jedoch mit einer sehr geringen Häufigkeit bestimmt, denn die resistenztragenden Rekombinanten haben einen selektiven Vorteil gegenüber solchen Stämmen, die keine veränderten PBP-Loci besitzen.

Die Wahrscheinlichkeit, dass derartige selektive Rekombinationen bei Housekeeping-Genen (Boyd et al., 1994) vorkommen, also bei Genen, die für essentielle metabolische Enzyme kodieren, ist hingegen deutlich geringer. Hier verlaufen Gen-Variationen eher neutral (Ochman and Bergthorsson, 1995; van Nimwegen et al., 1999). Die Analyse solcher Gene stellt deshalb einen sehr guten Ansatz zur Nachvollziehung der Evolution bestimmter Bakterien dar. Deshalb muss davon ausgegangen werden, dass die Evolution von Housekeeping-Genen, die über das gesamte bakterielle Chromosom verteilt sind, die Entwicklung des gesamten Genoms recht gut repräsentiert.

Wenn Rekombinationen innerhalb einer Population häufig genug vorkommen, werden die Mosaikstrukturen aufgebrochen. Eine Methode zur Bestimmung häufiger Rekombinationen innerhalb einer Population ist die Rekonstruktion eines phylogenetischen Baumes anhand von DNA-Sequenzdaten. Idealerweise sollten aus den o.g. Gründen hierzu Housekeeping-Gene untersucht werden, so kann die Anzahl der offensichtlichen Homoplasien besser analysiert werden. Homoplasien sind Anhäufungen von Phänomenen, die zu einer Anhäufung ähnlicher Eigenschaften führen, die jedoch nichts mit der Vererbung von einem gemeinsamen Vorfahren zu tun haben (Feil et al., 2000). Spezies, die frei miteinander rekombinieren, verbreiten sich panmiktisch. Dieses kann mit der geschätzten Anzahl von Homoplasien verglichen werden, wenn die Nachfahren wirklich klonal sind oder wenn Rekombinationen derart häufig sind, dass ein Verbindungsgleichgewicht erzeugt wird. Die beobachtete Anzahl von Rekombinationen liegt zwischen diesen Extremen. Sie wird ermittelt durch eine vergleichende Messung des Rekombinationskoeffizienten. Inzwischen ist klar, dass sich Bakterien tatsächlich über die gesamte Bandbreite von strikt klonal z.B. *Borrelia burgdorferi* (Dykhuizen et al., 1992) bis zu effektiv panmiktisch z.B. *Helicobacter pylori* (Suerbaum et al., 1998) verbreiten. Die meisten Bakterien sind jedoch bezüglich ihrer Populationsstruktur irgendwo zwischen diesen beiden Extremen angesiedelt. Bei diesen „eng-klonalen“ Spezies wird die Rekombination die Langzeit-Evolution (durch „langsame“ Punktmutationen) dominieren, aber sie wird nicht das plötzliche Auftreten („schnelle“ Herausbildung neuer (Patho-)Typen durch genetische Mechanismen) von weitverbreiteten Klonen verhindern.

Viel klarer stellt sich die phylogenetische Struktur einer sich entwickelnden Population dar, wenn die Reihenfolgen für einige Genorte bekannt sind. Dykhuizen und Green (Dykhuizen and Green, 1991; Karch et al., 1993; Karch et al., 1999) unterstrichen, dass die phylogenetischen Bäume, die von den unterschiedlichen Genen abgeleitet werden, bei einer „klonalen“ Reproduktion nahezu identisch sein sollten, aber verschieden, wenn es Rekombinationen gibt. Sie fanden, dass die Bäume bei *Borrelia* für verschiedene Gene fast gleich sind. Es beruhigt zudem, dass die gleiche Schlußfolgerung von Klonalität durch den Homoplasie-Test und den Vergleich der phylogenetischen Bäume herausgestellt wird (Dykhuizen and Green, 1991).