

Umweltgenen auf der Spur

Wir beschreiben hier eine systematische Suche nach Genen, die die Anpassung von Organismen an ihre Umwelt ermöglichen. Dieses Vorhaben ist in der evolutionären Genomik verankert und beruht auf der Analyse kleinster, natürlich vorkommender Veränderungen im Erbmateriale (SNPs). Mit Hilfe dieser SNPs lassen sich Spuren der Darwinschen Selektion im Genom feststellen und damit die Gene finden, die bei der Umweltanpassung unter dem Einfluss der natürlichen Selektion gestanden haben.

Umwelt ist, genetisch betrachtet, ein schwierig zu definierender Begriff. Die Lebensbedingungen ändern sich mitunter dramatisch. Wie passen sich Tiere und Pflanzen nach Klimaveränderungen oder dem Einsatz von Umweltgiften ihrer neuen Umgebung an? Welche Gene lassen sich im Erbgut ausmachen, die eine solche Anpassung ermöglichen?

Wir haben eine Methode zum Mapping von Umweltgenen entwickelt. Diese beruht auf der Darwinschen Selektionstheorie und der Beobachtung, dass sich die In-

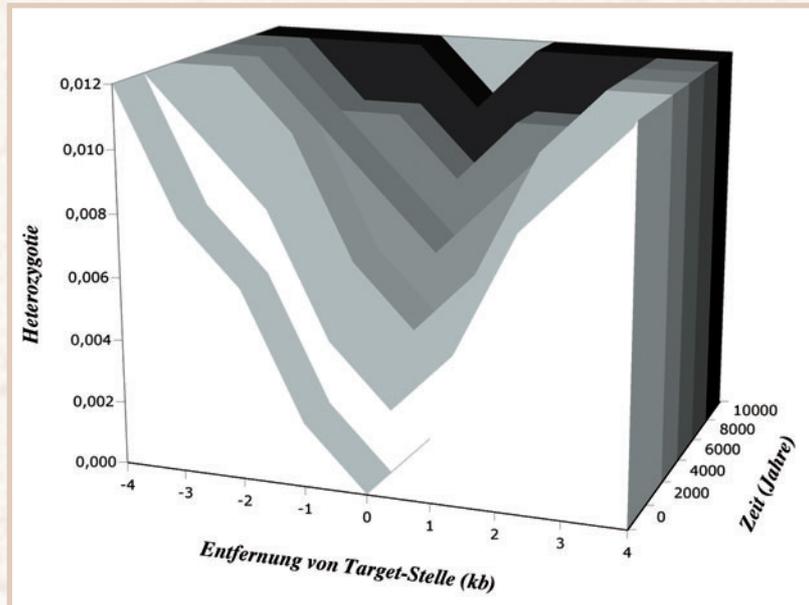


Abb. 1: Der Hitchhiking-Effekt. Das einfachste Muster, das die Darwinsche Selektion im Erbgut hinterlässt, ist eine Reduktion der genetischen Variabilität (Heterozygotie) in der Nähe der Target-Stelle der Selektion. Nehmen wir an, eine Mutation ist aufgetreten, die ein Insekt resistent gegen die Wirkung eines Umweltgiftes (z.B. DDT) macht, dann kann sich diese Mutation in der gesamten Population durchsetzen, da sie einen Selektionsvorteil mit sich bringt. Dies führt dazu, dass in der unmittelbaren Umgebung dieser Mutation sämtliche Polymorphismen verschwinden: Diejenigen Varianten, die auf dem gleichen Chromosom wie die vorteilhafte Mutation sind, setzen sich wegen des Hitchhiking-Effekts in der Population durch, und alle anderen gehen verloren. Die Größe des Bereichs, in dem eine solche Verarmung an genetischer Variation auftritt, hängt im Wesentlichen von drei Faktoren ab: dem Selektionsvorteil der vorteilhaften Mutante, der Rekombinationsrate und dem Zeitpunkt in der Vergangenheit (siehe Zeitachse), an dem die vorteilhafte Mutation in der Population aufgetreten ist.



Wolfgang Stephan



David De Lorenzo

dividuen einer Tier- oder Pflanzenpopulation nicht nur phänotypisch, sondern auch genetisch unterscheiden. Genetische Unterschiede liegen meistens in der Form von SNPs vor. Die für die Umweltanpassung verantwortlichen Gene können mit Hilfe der Spuren, die die Darwinsche natürliche Selektion in der Verteilung der SNPs im Genom hinterlassen hat, identifiziert werden. Wie aber entstehen solche Spuren der natürlichen Selektion?

Die Hitchhiking-Methode

Die natürliche Selektion bestimmt, ob und in welchem Tempo sich eine Population an eine veränderte Umwelt anpassen kann. Das bedeutet insbesondere, dass neutrale SNPs, die sich auf einem Chromosom in der unmittelbaren Nähe einer Mutation befinden, die unter dem Einfluss der natürlichen Selektion steht, dieser selektierten Veränderung in ihrer eigenen Evolution „folgen“ müssen. Dieses Phänomen ist unter dem Namen genetisches Hitchhiking bekannt geworden [1].

Der Hitchhiking-Effekt auf die genetische Variation in der Nähe einer vorteilhaften Mutation ist in Abbildung 1 er-

klärt. Hier ist angenommen, dass die vorteilhafte Mutation in der Mitte des gezeigten 8-kb großen Chromosomenabschnitts aufgetreten ist. Die Heterozygotie (ein Maß der genetischen Variabilität) ist an dieser Stelle unmittelbar nach Auftreten des Hitchhiking-Effekts verschwunden, während sie nach beiden Seiten hin aufgrund der mit wachsendem Abstand zur selektierten Stelle häufiger auftretenden Rekombinationsereignisse ansteigt. Ferner ist durch die Zeitachse angedeutet, dass die Reduktion der genetischen Variabilität weniger ausgeprägt ist, wenn der Hitchhiking-Effekt längere Zeit zurück liegt.

Diese einfache Idee wurde verwendet, um einen statistischen Test zu entwickeln, mit dem die Signifikanz einer lokalen Erniedrigung der Variabilität untersucht werden kann [2]. Mittels eines Maximum-Likelihood-Verfahrens fragt dieser Test, ob eine Erniedrigung der Variation an einem Genort durch Darwinische Selektion oder rein zufällig (z.B. durch genetische Drift) entstanden ist. Falls die Daten mit der Selektionshypothese im Einklang sind, zeigt der Test ferner an, wo die selektierte Mutation im Genom entstanden ist und welchen Selektionsvorteil sie besitzt. Das bedeutet, dass man diese Methode zur Lokalisierung von selektierten Mutationen im Erbgut verwenden kann und damit zum Auffinden von Genen der Umweltanpassung.

Diese Methode wird wie folgt umgesetzt: Durch ein Screening von SNPs entlang des Genoms werden zunächst Kandidaten-Gene identifiziert, die sehr geringe Variabilität aufweisen. Dazu ist eine Stichprobe von ca. 10 einer Population entnommenen Chromosomen nötig. Die Verteilung der SNPs entlang der Chromosomen wird mittels DNA-Sequenzierung eruiert. Wurde auf diese Weise ein Kandidaten-Gen mit geringer Variabilität gefunden, wird es oben beschriebenen Test unterzogen, indem die Sequenzvariabilität in der Umgebung des Gens noch genauer gemessen wird.

Beispiel: Anpassung der Fruchtfliege

Welche Gene haben die Anpassung der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* an eine nach der letzten Eiszeit (vor ca. 10.000–15.000 Jahren) veränderte Umwelt ermöglicht? Die Fruchtfliege, die ursprünglich in Afrika beheimatet war, ist nach der letzten Eiszeit in neue Habitate eingewandert, was den Populationen eine ganze Reihe von Anpassungsleistungen abverlangt hat. Um die an der Anpassung beteiligten Gene zu finden,

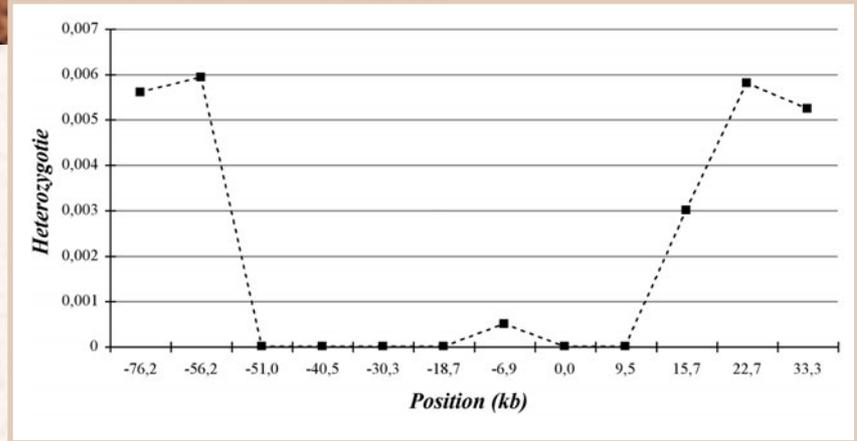


Abb. 2: Heterozygotie (pro Nucleotid) entlang eines 110-kb großen Abschnitts des *D. melanogaster* Genoms. Die Punkte stellen die gemessenen Heterozygotie-Werte an den einzelnen Genorten dar.

wurde eine afrikanische Population aus dem ursprünglichen Habitat (südlich der Sahara) mit einer europäischen Population verglichen [3].

Von den bisher in einem systematischen Screen erfassten Fragmenten weisen ca. 10% keine oder extrem niedrige Variabilität in der europäischen Population auf; in der afrikanischen Population hingegen wurden solche Fragmente nicht gefunden. Das bedeutet, dass nun eine Reihe von Kandidaten-Genen zur Verfügung steht, die möglicherweise in der europäischen Population der Selektion unterworfen waren; in der afrikanischen Population gibt es aber kaum Evidenz für Selektion. Zur weiteren Analyse werden nun diese Kandidaten-Gene dem hier vorgestellten Likelihood-Verfahren unterzogen.

Ein Ergebnis dieser Analyse ist in Abbildung 2 dargestellt. In der unmittelbaren Umgebung eines Fragments (an Position 0 kb), das in der europäischen Population keinerlei Variabilität aufwies, ist die Variabilität über einen Bereich von ca. 60 kb extrem reduziert ist. Die Anwendung des Tests ergab, dass diese Daten nicht durch Zufallsprozesse erklärt werden können, sondern dem Wirken der natürlichen Selektion zuzuschreiben sind. Die außerordentliche Größe des Bereichs vermindert Variabilität deutet darauf hin, dass das Selektionsereignis in allerjüngster Vergangenheit stattgefunden haben muss und dass der Selektionsvorteil der Mutation sehr groß war.

Fünf Gene liegen in der 60-kb Region niedriger Variabilität und kommen deshalb als Target der Selektion in Frage. Aufgrund ihrer Funktion, die relativ gut bekannt ist, können vier *a priori* ausgeschlossen werden. Es bleibt ein Gen, *Cyp4d1*, das für ein Cytochrom P450-Enzym kodiert. Dieses Gen wird im Moment

genauer untersucht, um seine Funktion zu verstehen und die selektierte Mutation zu finden. Hinweise auf Cytochrom P450-vermittelte Insektizid-Resistenz sind vor allem für Enzyme der Cyp6-Familie bekannt [4].

Unsere Mapping-Methode wurde mehrfach angewendet. Insbesondere sind hier Studien zur Resistenz gegen Umweltgifte bei Insekten [5] und zur Resistenz von Malaria-Parasiten [6] zu nennen. Jedoch ist zu erwarten, dass der Anwendungsbereich viel größer ist und außer Resistenzgene auch Gene der Temperatur- und Klimaanpassung gefunden werden.

Dieses Projekt wird durch die VolkswagenStiftung und die DFG unterstützt.

Referenzen

- [1] Maynard Smith J. und Haigh J.: Genet. Res. 23, 23–35 (1974)
- [2] Kim Y. und Stephan W.: Genetics 160, 765–777 (2002)
- [3] Glinka S. *et al.*: Genetics 165, 1269–1278 (2003)
- [4] Daborn P. J. *et al.*: Science 297, 2253–2256 (2002)
- [5] Schlenke D. und Begun D. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 1626–1631 (2004)
- [6] Nair S. *et al.*: Mol. Biol. Evol. 20, 1526–1536 (2003)

Prof. Dr. Wolfgang Stephan
Leiter der Abt. Evolutionsbiologie

Dr. David De Lorenzo
Wiss. Assistent, Abt. Evolutionsbiologie

Department Biologie II
Universität München
Luisenstr. 14
80333 München
stephan@zi.biologie.uni-muenchen.de
www.zi.biologie.uni-muenchen.de/institute/zi/abtlgn/evolutionsbiologie/