

Wie und warum entwickelt sich der komplexe Lebenszyklus von einfachen Hefen?

How and why did a simple yeast evolve a complex life cycle?

Greig, Duncan

Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie, Plön

Korrespondierender Autor/in

E-Mail: d.greig@evolbio.mpg.de

Zusammenfassung

Die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* ist ein Modellorganismus für evolutionäre Experimente. Sie wächst schnell zu großen Populationen heran, hat einen interessanten Lebenszyklus mit sexuellen und asexuellen Stadien und ist ein sehr gut untersuchter Modellorganismus im Labor. Allerdings ist erstaunlich wenig über die natürlichen Lebensbedingungen der Hefe bekannt. Durch die Erforschung von *S. paradoxus*, eng verwandt mit *S. cerevisiae*, in seiner natürlichen Umgebung und unter Laborbedingungen, kann man mehr darüber erfahren, wie und warum einzelne Elemente des Lebenszyklus entstanden sind.

Summary

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* has long been domesticated by humans. It is an ideal organism for evolution experiments. It can grow rapidly to large population sizes, it has an interesting life cycle which includes both sexual and asexual stages, and it is extremely well understood as a laboratory model organism. But very little is known about its natural life. By studying *S. paradoxus*, a wild relative of *S. cerevisiae*, both in its natural environment and in the laboratory, we can understand more about how and why features of the life cycle such as sporulation, sex, and signalling evolved.

Evolution durch Mutation

Es herrscht weithin die Meinung vor, dass Evolutionsprozesse so langsam stattfinden, dass sie nicht direkt beobachtet werden können. Daher wurde die Evolution traditionell mithilfe von Fossilienuntersuchungen, durch den Vergleich nahe verwandter Arten oder mit mathematischen Modellen erforscht. Allerdings können tatsächlich sehr schnelle Evolutionseffekte beobachtet werden. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist das Influenza-Virus, welches sich entwickeln muss, um Personen, die schon vorher an Grippe erkrankt sind, erneut infizieren zu können. Diese Personen wären ohne die Veränderung des Virus immun dagegen. Auch die schnelle Evolution von Antibiotika-resistenten Bakterien in Krankenhäusern ist ein bekanntes Problem.

Evolution tritt auf, wenn DNA fehlerhaft kopiert wird und diese Fehler von den Eltern auf die nächste Generation vererbt werden. Der Großteil solcher Mutationen ist schädlich oder nachteilig. Manchmal jedoch entsteht durch eine Mutation auch ein Vorteil, der die Zahl derjenigen Nachkommen erhöhen kann, die diese Veränderung im Erbgut tragen. Auf diese Weise ist die Population besser an ihre Umwelt angepasst und kann sich somit durch natürliche Selektion entwickeln. Es kann auch passieren, dass sich neue Mutationen nicht nutzbringend verbreiten, sondern einfach dadurch, dass sie sich zufällig durchsetzen. Dieser willkürliche Prozess wird als Drift bezeichnet und resultiert in evolutionären Veränderungen, die nicht an Anpassung geknüpft sind.

Evolution in Mikroorganismen

Mutationen treten selten auf und können sich nur von Generation zu Generation verbreiten. In Mikroorganismen kann die Evolution viel schneller ablaufen als in größeren Organismen, da sie sehr große Populationen mit zahlreichen potenziellen Mutationen bilden und sich außerdem durch sehr kurze Generationsdauern auszeichnen. Aus diesem Grund können sich pathogene Mikroben so schnell entwickeln und sie eignen sich hervorragend als Objekte, in denen man die Evolution in Echtzeit beobachten kann. In einem solchen Experiment wurden zwölf einzelne Bakterienkulturen aus einer einzigen Zelle gewonnen. Jeden Tag wurde 1 Prozent jeder dieser Kulturen zum Weiterwachsen in neues Nährmedium überführt. Gelegentlich wurden einige Samples jeder Kultur für zukünftige Analysen eingefroren, sie stellten sozusagen einen lebenden fossilen Beleg dar [1]. Dieser Versuch zog sich über einen Zeitraum von über zwei Jahrzehnten und 50.000 Generationen hin. Die Bakterien haben sich in dieser Zeit so dramatisch verändert, dass teilweise von der Bildung unterschiedlicher Arten die Rede sein kann [2]. Dieses sehr einfache Experiment hat einen großen Einblick in und viel Information über die grundlegenden Prozesse der Evolution

geliefert, was viele Evolutionsbiologen animiert hat, evolutionäre Versuche mit Mikroorganismen durchzuführen.

Bakterien sind sehr einfache, asexuelle und haploide Organismen und die meisten Biologen sind eher daran interessiert, wie Evolution in größeren Lebewesen, wie uns Menschen, abläuft. Die Forschungsgruppe Experimentelle Evolution am Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie benutzt jedoch für ihre Versuche die Bäckerhefe, *Saccharomyces cerevisiae*, und ihre wilde verwandte Art, *Saccharomyces paradoxus*. Wie Bakterien kann auch Hefe sehr schnell in großen Mengen kultiviert werden, ist aber auf der anderen Seite – im Gegensatz zu Bakterien – ein diploider Eukaryot mit einem komplexen Lebenszyklus. *S. cerevisiae* wird seit tausenden von Jahren in der Weinherstellung genutzt, aber diese Hefe dient auch schon seit über hundert Jahren als Modellorganismus für Genetik, Biochemie und Zellbiologie. Ihr Genom wird daher besser als in jedem anderen Organismus verstanden und es ist einfach, es experimentell zu verändern. Die Forschungsgruppe hat das Ziel herauszufinden, wie und warum dieser komplexe Lebenszyklus der Hefe entstanden ist [3].

Hefe als Modellorganismus für Evolution

Eine Herangehensweise an diese Frage ist, mehr über die Umwelt- und Lebensbedingungen (Ökologie) von Hefen zu erfahren. *S. cerevisiae* ist durch den Menschen domestiziert worden, daher konzentriert sich die Forschungsgruppe für Experimentelle Evolution in ihren Untersuchungen auf *S. paradoxus*, die am nächsten mit *S. cerevisiae* verwandt ist. Es ist bekannt, dass man diese Art kultivieren kann, indem man ein Sample Eichenholz auf Medium aus Malzextrakt gibt – vielleicht haben unsere Vorfahren schon auf diese Weise Bier hergestellt!

Viele aus Eichenholz isolierte Bakterienstämme konnten schon komplett sequenziert werden, wobei sich zeigte, dass Populationen von verschiedenen Kontinenten sehr voneinander abweichen. Dies lässt darauf schließen, dass die Meere eine große Barriere für wilde Hefen darstellen. Die Gruppe um Duncan Greig hat über ein Jahr *S. paradoxus* von einer Gruppe Eichenbäumen untersucht und herausgefunden, dass die Populationsdichte sehr niedrig war. Auch jahreszeitlich bedingte Veränderungen konnten kaum gefunden werden. Hefe scheint also an einem anderen Ort zu wachsen und sich über Eichenbäume zu verbreiten. Die Forscher untersuchen derzeit, ob auf den Bäumen vegetativ wachsende Zellen oder nur ruhende Sporen sitzen. Außerdem möchte die Forschungsgruppe Insekten analysieren, die als Träger der Hefe zwischen Eichenbäumen und gärbaren Zuckerquellen, wie Nektar und Früchten, in Frage kommen.

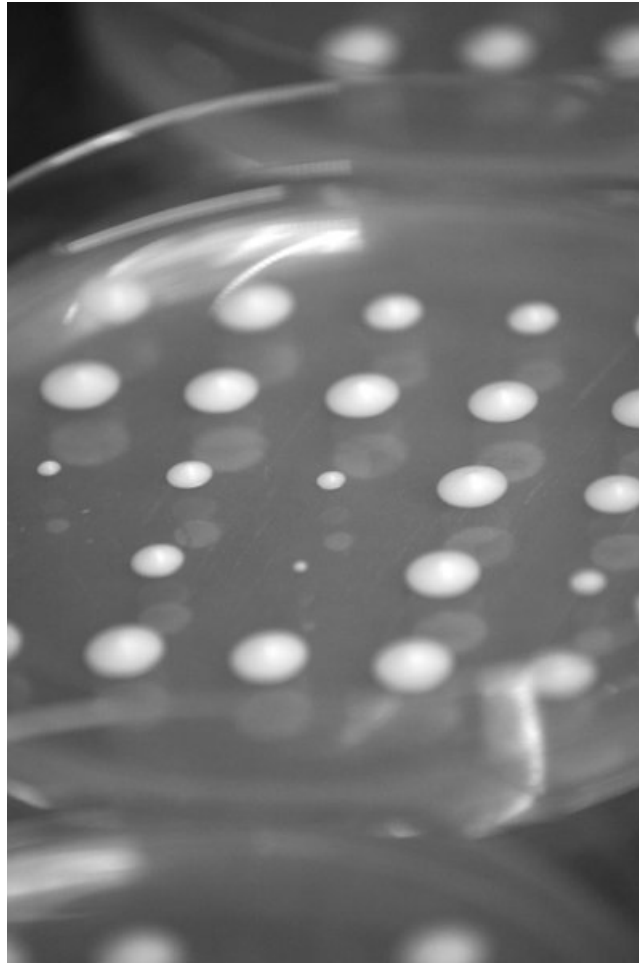
Evolution des Lebenszyklus der Hefe

Experimente im Labor sind ein anderer Ansatz der Hefeforscher, um herauszufinden, wie unterschiedliche Eigenschaften im Lebenszyklus der Hefe funktionieren und warum sie entstehen. Die Hefe hat beispielsweise zwei Paarungstypen, MATa and MAT α genannt, die Sexpheromone produzieren (α -Faktor und a-Faktor). Zellen können auf das Pheromon des gegensätzlichen Typs reagieren, indem sie ihr Wachstum stoppen und sich auf die Paarung vorbereiten. Dies geschieht durch die Verschmelzung von zwei Zellen unterschiedlichen Paarungstyps. Warum aber geschieht das auf diese Weise? Greig und seine Forscherkollegen sind der Ansicht, dass das Pheromonsignal unter sogenannter sexueller Selektion entstanden ist, da Zellen, die mehr Pheromone produzieren, attraktiver auf den anderen Paarungstyp wirken. Sexuelle Selektion resultiert in auffallenden geschlechtlichen Merkmalen (das bekannteste Beispiel ist wohl der schöne Schwanz des Pfau), die zwar den Paarungserfolg verbessern, aber auf der anderen Seite auch die Überlebenschancen reduzieren können.

Warum aber sollten überhöhte sexuelle Signale, die das Überleben mindern, anziehender und attraktiver sein? Zum einen sind sie attraktiver, gerade weil sie das Überleben mindern. Dadurch ist gewährleistet, dass Individuen mit den besten Genen, die demnach auch die besten Überlebenschancen haben, stärkere Signale senden können als Individuen mit schwächerem Genmaterial. Sie sind attraktiver, weil sie diese qualitativ hochwertigen Gene an ihre Nachkommen weitergeben. Dieses sogenannte ‚Handicap-Prinzip‘ (Individuen, die sich trotz eines Nachteils gegen seine Konkurrenten durchsetzen können, werden von seiner Umwelt als besonders attraktiv angesehen) ist schwerlich in großen Organismen wie dem Pfau zu testen. In der Hefe dagegen kann die Stärke eines Signals genetisch manipuliert werden und die genauen Auswirkungen des Effekts auf die Überlebenschance und die Attraktivität gemessen werden. Ergebnisse der Forschungsgruppe deuten stark darauf hin, dass Sexpheromone der Hefe als Handicap unter sexueller Selektion entstanden sind [4].

Diese Erklärung der Entstehung von sexuellen Signalen passt sehr gut in den Lebenszyklus der Hefe. Greig und seine Kollegen gehen davon aus, dass Hefen über einen langen Zeitraum asexuell als diploide Zellen wachsen, wodurch sich nachteilige Mutationen anreichern können. Bei Nahrungsmangel gehen die diploiden Zellen in die Meiose und produzieren jeweils vier haploide Sporen. Wenn erneut Nährstoffe vorhanden sind, keimen die Sporen zu haploiden Zellen aus, zwei je Paarungstyp. Die Zellen mit dem besten genetischen Material paaren sich, da sie ihre Partner aufgrund der Signalstärke der Pheromone aussuchen. Dadurch bleibt den weniger attraktiven Zellen nur, sich untereinander zu paaren, wodurch sich schädliche Mutationen nur in diesen Zellen anreichern können. Die Forschungsgruppe testet daher die wilden Bakterienstämme dahingehend, ob sie die erwartete Variation in der Stärke des Pheromonsignals zeigen und ob diese durch Mutationen hervorgerufen werden, die die Fitness beeinträchtigen.

Evolution durch sexuelle Paarung der Hefe



Wilde Sporen keimen ungleich aus. Die Abbildung zeigt Kolonien, die entstehen, wenn einzelne Sporen der homozygoten wilden *S. paradoxus*-Linie auf die Oberfläche einer Agarplatte transferiert werden. Die Sporen sind zwar genetisch identisch, jedoch keimen sie zu verschiedenen Zeiten aus und produzieren Kolonien unterschiedlicher Größe.

© Max Planck Institut für Evolutionsbiologie/ Eric Miller

Ein weiteres interessantes Merkmal der Hefe ist ihre Tendenz, sich mit sich selbst zu paaren. Dies passiert leicht, da die vier haploiden Sporen, die aus der Meiose einer einzigen diploiden Zelle hervorgehen, in einer Einheit, einer Tetrade, verbleiben. Das hat zur Folge, dass sich sehr eng verwandte Zellen verpaaren, die sich nur durch die Mutationen ihrer diploiden Eltern unterscheiden. Auf diese Weise können Anpassungen an eine spezielle Umwelt effizient erhalten werden, während sexuelle Selektion zeitgleich gefährliche Mutationen, die sich in der vorherigen asexuellen diploiden Phase angereichert haben, beseitigen kann. In einer sich ändernden Umwelt würde man jedoch erwarten, dass es vorteilhafter ist, sich nicht so nah zu verpaaren, um neue, besser angepasste Gene zu erhalten. Die Ergebnisse der Hefeforscher zeigen diesen Effekt. Sporen, die nicht sonderlich an ihre Umwelt angepasst sind, keimen weniger synchron, was die Chance der verwandtenfreien Paarung erhöht (**Abb.1**).

Die Hauptfunktion von Sporen scheint zu sein, die Verdauung durch Insekten zu überleben. Die Hefe gelangt so zu neuen Nahrungsquellen. Außerdem erhöhen Insekten die verwandtenfreie Paarung, da sie die vierteilige Einheit der Sporen aufspalten. Somit kann sich die Hefe schneller an ihre Umwelt anpassen [5].

Die Fähigkeiten der Hefe, teils den Effekt von Paarung durch Inzucht anzupassen, teils vollkommen asexuell wachsen zu können, macht sie zu einem außerordentlich interessanten Organismus, um die Vorteile von Sex zu erforschen.

Die Verknüpfung der beiden Ansätze von natürlichen Beobachtungen und evolutionären Experimenten im Labor hilft der Forschungsgruppe für Experimentelle Evolution [6], sowohl die natürlichen Bedingungen als auch die evolutionäre Geschichte der Hefe besser zu verstehen. Dies ist nicht nur in Bezug auf die Hefe als Modellorganismus der Evolutionsbiologie wichtig, sondern auch, weil Hefe in vielen anderen wissenschaftlichen Bereichen angewandt wird.

[1] Lenski, R. E.; Travisano, M.

Dynamics of adaptation and diversification: A 10,000-generation experiment with bacterial populations

Proceedings of the National Academy of Sciences USA 91 (15), 6808-6814 (1994)

[2] **Blount, Z. D.; Borland, C. Z.; Lenski, R. E.**

Historical contingency and the evolution of a key innovation in an experimental population of *Escherichia coli*

Proceedings of the National Academy of Sciences USA 105 (23), 7899-7906 (2008)

[3] **Greig, D.; Leu, J-L.**

Natural history of budding yeast

Current Biology 19 (19), R886-90 (2009)

[4] **Smith, C.; Greig, D.**

The cost of sexual signalling in yeast

Evolution 64 (11), 3114-3122 (2010) (doi:10.1111/j.1558-5646.2010.01069.x)

[5] **Reuter, M.; Bell, G.; Greig, D.**

Increased outbreeding in yeast in response to dispersal by an insect vector

Current Biology 17 (3), R81-83 (2007) (10.1016/j.cub.2006.11.059)

[6] **Greig, D.**

Experimental evolution group

<http://www.evolbio.mpg.de/expevolution/Greig/Welcome.html>