

6. Gen-Bäume in Populationen	66
Rekonstruktion der Populationsgeschichte anhand von DNA-Sequenzen	68
Die Genealogie einer Stichprobe	70
Wann lebte der jüngste Vorfahre der menschlichen Population?	72
Demographie	76
Wo kommen wir her?	85
7. Die Zukunft	87

VERTIEFUNGEN

Molekulare Techniken	91
Genetische Drift	100
Die neutrale Theorie der molekularen Evolution	101
Die molekulare Uhr	103
Der Coalescent-Prozess	105
Die genetische Variabilität einer Population	109
Das Jukes-Cantor-Modell der Sequenzevolution	110
Wer sind die nächsten Verwandten der Wale? Ein nicht- sequenzbasierter Ansatz zur Aufklärung der Phylogenie	112
»Fossile DNA« – eine Zeitreise in die Vergangenheit	115

ANHANG

Glossar	122
Literaturhinweise	127

1 EINIGE GRUNDLAGEN DER VERERBUNG

DNA – ein Bote aus der Vergangenheit

Die Menschheit ist nicht nur daran interessiert, ihre Zukunft zu deuten, sondern auch ihre Herkunft zu rekonstruieren. Zentrale Fragen sind: Wo kommen wir her? Wie ordnen wir uns in die belebte Welt ein? Und wie können wir alle Lebewesen in einem einheitlichen Schema gruppieren, das uns hilft die Vielfalt des Lebens auf der Erde und ihre Genese zu verstehen?

Carl von Linné (1707–1778) »sortierte« die Natur und gab den meisten Tieren und Pflanzen mittels der binären Nomenklatur eine systematische Zuordnung. Die Dynamik in der Entstehung der Vielfalt blieb jedoch verborgen. Erst ein Jahrhundert später, auf einem Treffen der Londoner Linnean Society am 1. Juli 1858, haben Charles Darwin (1809 – 1882) und Alfred Russel Wallace (1823 – 1913) ihre Ideen zur Entstehung der Arten vorgetragen. Im Jahr darauf publizierte Darwin sein bahnbrechendes Buch *On the Origin of Species*. Darwins Theorie basierte entscheidend auf der Weitergabe von vererbaren Merkmalen. Die zugrunde liegenden Mechanismen waren zu dieser Zeit jedoch noch unklar. Erst 1944 gelang dem amerikanischen Team um Oswald Theodore Avery (1877 – 1955) der eindeutige Nachweis, dass die Desoxyribonukleinsäure (*desoxyribonucleic acid*, abgekürzt DNA) die erblichen Eigenschaften von den Eltern auf die Nachkommen überträgt.

Vererbung beruht also auf einer stofflichen Weitergabe in Form einer Umsetzung von Molekülen. Die DNA besteht aus vier Grundbausteinen, nämlich den Basen Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G)

und Thymin (T). Die Molekular-Genetik beschreibt, wie aus der sequentiellen Abfolge dieser vier Grundbausteine der gesamte Bauplan für einen vollständigen Organismus entsteht und wie die Weitergabe der genetischen Information erfolgt. Da die DNA in fast allen Lebewesen als Träger der Erbinformation fungiert, sind die gefundenen Prinzipien für die Umsetzung der genetischen Information in den Phänotypen nahezu allgemeingültig.

Rasch wurde klar, dass die DNA nicht nur für die Weitergabe der Eigenschaften von Eltern auf ihre Kinder verantwortlich ist. Sie ist auch ein »Dokument der Evolutionsgeschichte«, so Emile Zuckerkandl und Linus Pauling. Die DNA, die in heute lebenden Organismen zu finden ist, gab in grauer Vorzeit ein Vorfahr an den Nächsten weiter. Im Laufe dieser Weitergabe wurde die DNA modifiziert. Nicht mehr benötigte Segmentabschnitte gingen verloren, neue Sequenzabschnitte wurden erworben und wieder andere Abschnitte erfuhren kleine Veränderungen, da der Prozess der Informationsweitergabe nicht fehlerfrei ist. Welche Modifizierungen auch immer eine DNA erfahren hat, die heutigen Organismen zeigen Spuren dieser Änderungen in ihrem Genom. Die Forschung zur molekularen Evolution versucht diesen Prozess zu rekonstruieren und die Mechanismen herauszuarbeiten, die zu der heutigen Vielfalt der Organismen geführt haben.

Besonders in den letzten Jahrzehnten wurden völlig neue Forschungstechniken entwickelt. Beispiele sind die Klonierung von DNA-Segmenten, die Sequenzierung der DNA und die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (**Molekulare Techniken**). Mit der rasanten Entwicklung dieser molekularbiologischen Techniken gelang es, ein detailliertes und immer umfassenderes Bild von den der Evolution zugrunde liegenden Mechanismen zu entwickeln.

Insbesondere bei der Frage nach einem biologischen System der Organismen erweist sich die Analyse von DNA- und Aminosäuresequenzen als eine wertvolle Methode, um sowohl die Verwandt-

schaftsverhältnisse zwischen nah verwandten Arten zu studieren, als auch einen Baum zu rekonstruieren, der die Evolutionsgeschichte aller Organismen der Erde darstellt.

Die DNA und ihr Code

Die genetische Zusammensetzung eines Organismus wird im Wesentlichen durch die Nukleinsäuren bestimmt. Sie enthalten den Bauplan, der die verschiedenen Bauphasen im Organismus steuert und der als Kopie an die nächste Generation weitergegeben wird. Es gibt in den Zellen zwei Arten von Nukleinsäuren, die Desoxyribonukleinsäure (DNA) und die Ribonukleinsäure (RNA). Nukleinsäuren sind Makromoleküle. Ihre Grundbausteine sind Nukleotide, die kettenförmig miteinander verbunden sind. Jedes Nukleotid ist aus drei Molekülen aufgebaut: einer stickstoffhaltigen, heterozyklischen Base (N), einem Zucker (Z) und einer Phosphorsäure (P) (Abbildung 1a).

Als Zuckerbaustein dient bei der DNA die Desoxyribose, bei der RNA ist es die Ribose. Als Basenanteile treten die Pyrimidinderivate Thymin (T) und Cytosin (C) (einfache Ringstruktur) und die Purinderivate Adenin (A) und Guanin (G) (doppelte Ringstruktur) auf (Abbildung 1b). In der RNA kommt statt Thymin die Base Uracil (U) vor, die chemisch nah verwandt ist mit Thymin.

Ein vollständiges DNA-Molekül besteht aus zwei gegenläufigen Polynukleotid-Strängen (Abbildung 1c). Diese sind über Wasserstoffbrücken-Bindungen zu einem Doppelstrang so verknüpft, dass sich immer Thymin beziehungsweise Cytosin des einen Strangs mit Adenin beziehungsweise Guanin vom anderen Strang paaren (Watson-Crick-Basenpaarung). Dabei werden zwischen Adenin und Thymin zwei Wasserstoffbrücken-Bindungen (A=T) ausgebildet, zwischen Guanin und Cytosin sind es drei (G=C). Zusätzlich sind diese zwei Polynukleotid-Stränge noch spiralförmig umeinander gewunden, und es entsteht die charakteristische Gestalt der DNA-Doppelhelix.

die vollständige biochemische Stoffwechselwege kodieren, aber auch Teile der Transkriptions- und Translationsmaschinerie und sogar ribosomale Proteine und ribosomale RNA von einem Organismus in einen phylogenetisch weit entfernten Organismus transferrt. Hier müssen neuartige Methoden in der molekularen Evolution entwickelt werden, um die komplexe Dynamik des Evolutionsgeschehens besser zu verstehen.

Der universelle Baum des Lebens wird sicher eines Tages durch ein Netzwerk ersetzt werden, in dem die vielfältigen Transferereignisse auf molekularem Niveau besser dargestellt werden als in dem strengen, dichotomen Baum, der auf der letzten Seite abgebildet ist. Erste Schritte zu solchen Analysen wurden unternommen, aber der »Baum des Lebens« wird eines der ganz spannenden Felder zukünftiger Forschung bleiben.

Auch mit der Sequenzierung ganzer Genome werden neue Herausforderungen an die molekulare Evolutionstheorie gestellt. Bislang wurde hauptsächlich die Evolution einzelner Gene untersucht. Ganze Genome erfordern die Analyse einer heterogenen Sammlung von DNA-Sequenzen, die aus kodierenden und nicht-kodierenden Genen, repetitiver DNA, regulatorischen Sequenzen (siehe Abbildung 3) usw. besteht. Unser mikroskopischer Blick auf einzelne Gene wird durch die Betrachtung ganzer Genome enorm erweitert. Neue Fragen sind dabei beispielsweise, ob die Evolution in verschiedenen Teilen des Genoms, zum Beispiel auf unterschiedlichen Chromosomen, verschieden abläuft und falls ja, warum?

Die Analyse solcher Fragen erfordert die Entwicklung neuer Algorithmen. Das Alignement ganzer genomischer Sequenzbereiche wird rechentechnisch aufwändiger, da die Sequenzen länger und heterogener sind und Inversionen und Translokationen das Bild zusätzlich verkomplizieren. Neue effiziente Algorithmen sowie eine erweiterte Theorie der molekularen Evolution müssen entwickelt werden und werden derzeit auch intensiv bearbeitet.

VERTIEFUNGEN

Molekulare Techniken

Das mittlerweile sehr umfangreiche Wissen über die Struktur und Evolution von Genen und DNA- beziehungsweise RNA-Sequenzen geht einher mit den rasanten technischen Entwicklungen auf dem Gebiet der Molekularbiologie. Aus jedem Organismus kann im Labor die gesamte DNA beziehungsweise RNA isoliert und analysiert werden. Fast alle gentechnischen Anwendungen beruhen auf der Kenntnis der genauen Abfolge der Nukleotide (Nukleotidsequenzen) in den Organismen. Für eine solche Sequenzanalyse reicht ein einziges DNA-Molekül nicht aus, dafür sind einige tausend Kopien des DNA-Moleküls erforderlich. Stehen nur wenige DNA-Moleküle zur Verfügung, müssen diese zunächst vervielfältigt werden. Handelt es sich dabei um einen relativ großen DNA-Abschnitt, nutzt man das verhältnismäßig aufwändige und langwierige Klonieren. Kleinere DNA-Abschnitte können mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in relativ kurzer Zeit millionenfach kopiert werden.

Bei vielen molekularen Techniken werden – wie bei den Stoffwechselfvorgängen im lebenden Organismus – spezielle Enzyme (gekennzeichnet durch die Endung -ase) verwendet, wobei es für jedes Verfahren ein Temperaturoptimum gibt. Grundlegende Operationen in der Molekularbiologie sind:

- Isolieren der DNA aus einem Organismus,
- Trennen eines DNA-Strangs in zwei Einzelstränge,
- Vervielfältigen eines DNA-Abschnittes mit Polymerasen,
- Ausschneiden von DNA-Fragmenten mit Endonucleasen,
- Verbinden zweier DNA-Moleküle mit Hilfe von DNA-Ligasen,
- Übertragen von DNA-Molekülen in Bakterienzellen,

- Zerschneiden von DNA-Strängen mit Restriktionsenzymen,
- Auftrennen von DNA-Fragmenten durch Gel-Elektrophorese,
- Bestimmen der DNA-Sequenz mit Hilfe einer Sequenziermaschine.

Das Klonieren dient der Vervielfältigung großer DNA-Abschnitte. Die hierzu erforderlichen Arbeitsschritte sind in Abbildung 33 schematisch dargestellt. Im ersten Schritt zerschneiden Restriktionsenzyme die DNA an spezifischen, nur wenige Nukleotide langen Erkennungssequenzen. Das *AluI*-Enzym erkennt zum Beispiel die Sequenz AGCT, das *EcoRI*-Enzym die Sequenz GAATTC. Die resultierenden DNA-Fragmente sind bis zu 50 000 Basenpaare lang.

Anschließend werden die zahlreichen DNA-Fragmente getrennt. Dazu sind Überträger-Moleküle (Vektoren) notwendig, die ebenfalls aus DNA bestehen. Die gebräuchlichsten Vektoren sind Plasmide. Hierbei handelt es sich um kleine ringförmige DNA-Moleküle, die aus dem Zellplasma von Bakterien oder Hefen isoliert werden. Die zu trennenden DNA-Fragmente werden in die Plasmide eingebaut. Dazu werden die ringförmigen Bakterien-Plasmide aufgeschnitten, um die fremden DNA-Abschnitte in die ursprüngliche Plasmid-DNA einzubinden. Dieser Schritt heißt Ligation. Das so entstandene Hybrid-Molekül wird anschließend in eine lebende Bakterienzelle eingeschleust. Dieser Umwandlungsprozess der Bakterienzelle heißt Transformation. Die Bakterienzelle enthält nun zusätzlich zu ihrer eigenen Bakterien-DNA das fremde DNA-Hybrid-Molekül. Die Transformation ist der entscheidende Schritt im Trennungsvorgang der ursprünglichen DNA-Fragmente, da jede Bakterienzelle nur ein Hybrid-Molekül aufnimmt und somit die Fragmente in den Bakterienzellen räumlich voneinander getrennt werden.

In einem weiteren Schritt, der eigentlichen Klonierung, wird jeweils eine transformierte Bakterienzelle auf einer Nährstoffplatte angezüchtet, wobei sich die Bakterien durch Zellteilung sehr schnell vermehren. Bei diesem Prozess entstehen zahlreiche identische Ko-

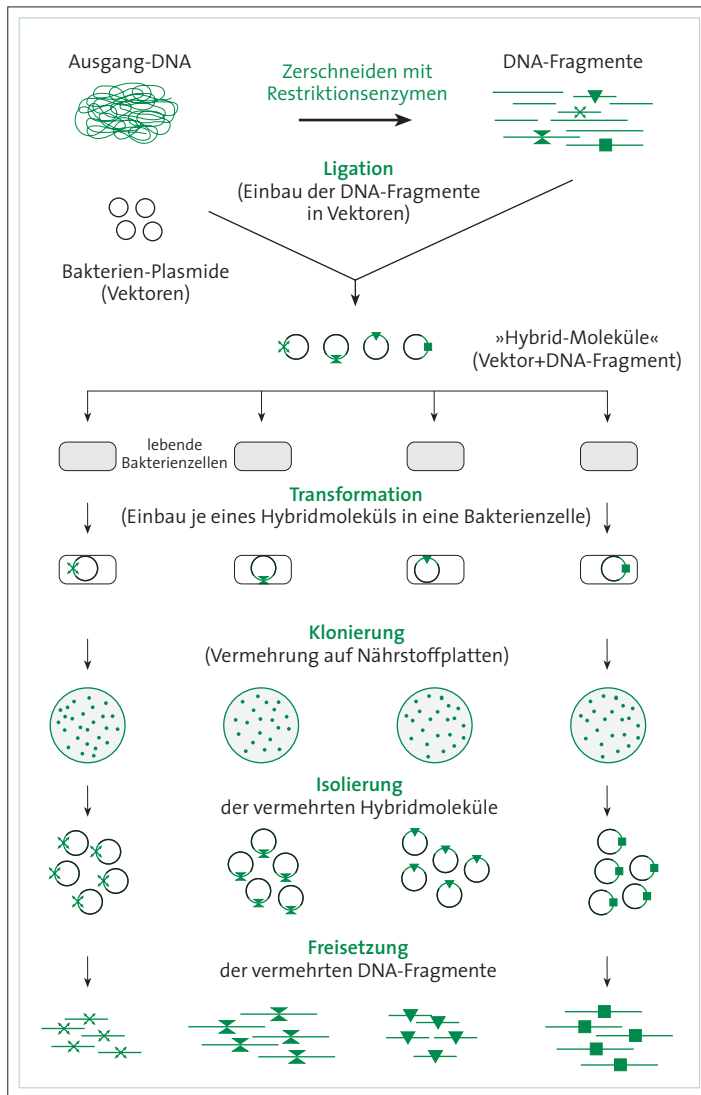
pien der Bakterienzelle: die Klone. Die in den Bakterienzellen enthaltenen DNA-Hybrid-Moleküle werden auf diesem Wege ebenfalls vervielfältigt. Zur weiteren Untersuchung werden die Hybrid-Moleküle aus den Bakterienzellen isoliert. Schließlich werden aus der riesigen Anzahl der DNA-Hybrid-Moleküle die ursprünglichen DNA-Fragmente wieder freigesetzt, die nun in genügender Anzahl für weiterführende Forschungen zur Verfügung stehen.

Da sich transformierte Bakterienzellen problemlos züchten und lagern lassen, stehen jederzeit beliebige Mengen eines gewünschten DNA-Fragments zur Verfügung. Eine solche Sammlung von DNA-Fragmenten eines Genoms wird Genombibliothek genannt.

Eine schnellere und vielseitigere Möglichkeit zur Vervielfältigung kleinster Mengen spezifischer DNA-Abschnitte ist die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Die PCR hat die Molekularbiologie in zweifacher Weise grundlegend revolutioniert: Zum einen lassen sich DNA-Fragmente im Reagenzglas vervielfältigen. Der aufwändige Umweg über die Einschleusung in lebende Bakterienzellen entfällt. Zum anderen sind nur winzige Mengen an Ausgangs-DNA notwendig. Kleinste Reste von Hautschuppen, Haaren oder Blut reichen aus, um genügende Mengen an neu synthetisierter DNA zu gewinnen.

Das Prinzip der PCR ist die Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes mit Hilfe der DNA-Polymerase. Dieses Enzym synthetisiert DNA. Im lebenden Organismus ist es unter anderem für die Reparatur und die Vervielfältigung der DNA bei der Zellteilung verantwortlich.

Bei der PCR wird selektiv ein DNA-Abschnitt vervielfältigt. Eine zwingende Voraussetzung für die Anwendung der PCR ist die Kenntnis über die Abfolge der Nukleotide in den beiden Randzonen des DNA-Abschnittes. Vor der PCR werden für diese zwei Regionen die dazu passenden komplementären Basen als Startermoleküle synthetisch hergestellt. Diese kurzen Nukleotid-Moleküle heißen Primer. Sie sind etwa zwanzig Basenpaare lang und lagern sich während der PCR an die Randzonen an. Dies geschieht allerdings nur, wenn der



DNA-Doppelstrang zuvor in die beiden Einzelstränge aufgetrennt wurde. Die PCR umfasst somit drei Schritte (Abbildung 34):

- (1) Denaturierung des DNA-Abschnitts in zwei Einzelstränge,
- (2) Anlagerung von zwei Startermolekülen (Primer) an die Randzonen und
- (3) DNA-Synthese der komplementären Stränge zu neuen vollständigen Doppelsträngen dieses DNA-Abschnitts.

Jeder Arbeitsschritt der PCR erfordert eine andere Temperatur. Die Steuerung der Temperatur übernimmt ein Wärmebad oder Thermocycler. Dieses Gerät reguliert außer der Temperatur auch die Zeitdauer der einzelnen Schritte und die Anzahl der Wiederholungen. Der »PCR-Cocktail«, in dem die Reaktionen stattfinden, enthält die Ausgangs-DNA, die zwei zuvor synthetisch hergestellten Primer, die DNA-Polymerase sowie die vier DNA-Bausteine A, G, C und T.

Im Thermocycler wird das Reaktionsgemisch einem dreistufigen Temperaturregime unterworfen. Für die Denaturierung der DNA ist eine Temperatur von 94°C erforderlich. Erst dann lösen sich die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Doppelsträngen der Ausgangs-DNA auf. Es bilden sich Einzelstränge. Nach dem Abkühlen auf Temperaturen von 50–55°C lagern sich die zwei Primer an die Bindungsstellen in den Randzonen an. Dann synthetisiert das Enzym DNA-Polymerase den jeweils komplementären DNA-Strang. Da sich stets nur die Nukleotide Cytosin und Thymin sowie Guanin und Adenin verbinden, dienen die zwei getrennten DNA-Stränge als Matrizen für die Bildung von zwei neuen, vollständigen DNA-Strängen. Das Temperaturoptimum dieser Reaktion liegt bei 68°C.

Aufgrund der hohen Temperaturen benötigt die PCR hitzestabile Enzyme. Die DNA-Polymerase wird aus Bakterien isoliert, die in heißen Quellen leben. Diese Enzyme verfügen über spezielle Schutzme-

Abb. 33: Die wichtigsten Schritte beim Klonieren

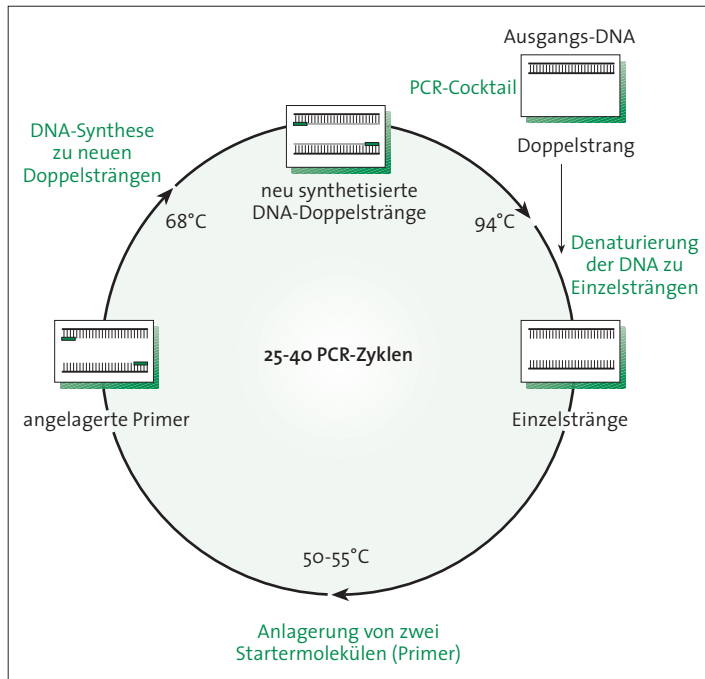


Abb. 34: Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

chanismen, so dass sie auch bei extremen Temperaturen noch aktiv sind. Das am häufigsten verwendete Enzym ist die Taq-Polymerase. Diese Bezeichnung leitet sich vom Namen des Bakteriums ab, das *Thermus aquaticus* heißt.

Der Zyklus aus Denaturierung, Primeranlagerung und DNA-Synthese wird 25–40 Mal wiederholt. Alle neu synthetisierten DNA-Fragmente stehen den nachfolgenden Vermehrungszyklen wieder als Ausgangs-DNA zur Verfügung. Dies erklärt den exponentiellen Zuwachs an DNA und den Namen »Kettenreaktion«. Bei optimalen Bedingungen werden in einer PCR-Reaktion theoretisch nach 25 Wie-

derholungen 2^{25} Kopien eines gewünschten DNA-Fragments synthetisiert. In Wirklichkeit sind es »nur« 10^5 bis 10^6 Kopien. Daher reichen selbst kleinste Ausgangsmengen an DNA, im Extremfall nur ein einziges DNA-Fragment, um genügende Mengen an DNA-Kopien für die weitere Analyse zu synthetisieren. Als Vervielfältigungsmethode erreicht die PCR ihre Grenzen dann, wenn die Länge der DNA-Abschnitte 5000 bis 8000 Basenpaare überschreitet. Sie ist also nur für die Vermehrung relativ kurzer DNA-Abschnitte geeignet.

Bei der DNA-Sequenzierung wird die genaue Abfolge der Nukleotide entlang eines DNA-Strangs bestimmt. Hierfür gibt es verschiedene Verfahren. Heute wird meist die Kettenabbruch-Methode angewandt, die Frederick Sanger und Kollegen in den 1970er Jahren entwickelten. Das Grundprinzip ist die enzymatische Synthese eines DNA-Strangs und erinnert in seinen Grundzügen an die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Auch bei der DNA-Sequenzierung werden die drei Schritte (1) Denaturierung, (2) Primeranlagerung und (3) DNA-Synthese durchlaufen. Das Raffinierte an der Methode nach Sanger ist der gezielte Einsatz von vier »Stopp-Nukleotiden« (Dideoxynukleotide). Ihnen fehlt eine OH-Gruppe am Zuckerrest. Die Stopp-Nukleotide werden zwar von der Polymerase noch an der zugehörigen Stelle in den neu synthetisierten DNA-Strang eingebaut, aber die Synthese bricht danach ab. So erklärt sich auch der Name Kettenabbruch-Methode. Für die spätere Entschlüsselung der DNA-Sequenz gibt es unterschiedliche Markierungssysteme für die Stopp-Nukleotide. So kann etwa an jedes der vier Stopp-Nukleotide ein jeweils anderer Fluoreszenz-Farbstoff gebunden werden.

Ein weiterer Unterschied zur Polymerase-Kettenreaktion besteht darin, dass nur ein Primer, nämlich der Sequenzier-Primer, verwendet wird. Bei der PCR dienen beide Einzelstränge als Matrizen für die neu synthetisierte DNA. Bei der DNA-Sequenzierung lagert sich der Sequenzier-Primer nur an einen der beiden DNA-Stränge an, der damit als Matrize für die Neusynthese dient. Der zweite Strang wird

nicht analysiert. Die Sequenzierung der DNA verläuft daher ausschließlich in eine Richtung.

Damit enthält der »Sequenzier-Cocktail« bei der Kettenabbruch-Methode die zu sequenzierende DNA, einen Sequenzier-Primer (P), das Enzym Polymerase, die vier DNA-Bausteine A, G, C und T sowie – in geringer Konzentration – die vier farbig markierten Stopp-Nukleotide. Wie bei der PCR wird dieses Gemisch im Thermocycler nacheinander drei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen ausgesetzt. Nach der Denaturierung lagert sich der Sequenzier-Primer (P) an einen der beiden DNA-Stränge an. Im dritten Schritt wird der komplementäre DNA-Strang synthetisiert. Die DNA-Synthese endet, wenn ein Stopp-Nukleotid eingebaut wird. Bei 25 bis 35 Wiederholungszyklen darf davon ausgegangen werden, dass sich an jedes Nukleotid der Ausgangs-DNA ein passendes Stopp-Nukleotid anlagert. Dadurch entstehen aus den ursprünglichen, gleich langen DNA-Strängen zahlreiche neue DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge.

Ein kleines Beispiel soll das Prinzip der Kettenabbruch-Methode veranschaulichen: Gegeben sei der zu analysierende DNA-Strang TAGGTACT. Im Ergebnis der DNA-Sequenzierung entstehen die acht verschiedenen langen, jeweils neu synthetisierten DNA-Fragmente T, TA, TAG, TAGG, TAGGT, TAGGTA, TAGGTAC und TAGGTACT, die jeweils an den Sequenzier-Primer (P) gebunden sind. Die Länge der verschiedenen DNA-Fragmente lässt sich mit Hilfe der Gel-Elektrophorese bestimmen. Abbildung 35a zeigt das Gemisch aus den acht verschiedenen langen DNA-Fragmenten. Dieses Gemisch wird in Abbildung 35b auf ein Sequenzier-Gel gegeben. Zum Auftragen der Probe enthält der obere Rand des Gels Vertiefungen oder Kerben. Am unteren Rand des Gels befindet sich der Laser, der die Farbmarkierungen erkennt und diese Signale über einen Detektor an den Computer weiterleitet. Für das Auftrennen der unterschiedlich langen DNA-Fragmente entsprechend ihrer Masse nutzt man die Bewegung elektrisch geladener Körper in einem elektrischen Feld. Dazu wird an das Gel eine

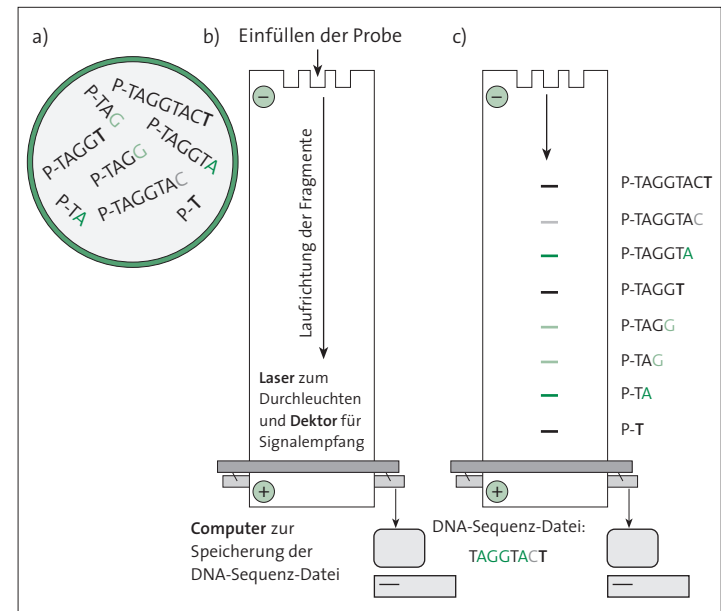


Abb. 35: Auftrennung von DNA-Fragmenten in einem Sequenzier-Gel.

a) Gemisch von unterschiedlich langen DNA-Fragmenten nach der DNA-Sequenzierung; P kennzeichnet den Sequenzier-Primer, die vier Stopp-Nukleotide sind farbig markiert.

b) Auftragen der Probe auf das Sequenzier-Gel.

c) Trennung der DNA-Fragmente im elektrischen Feld und Signalempfang durch einen Laser.

Spannung angelegt (Abbildung 35c). Da die DNA negativ geladen ist, bewegen sich alle DNA-Fragmente von der Kathode (–) zur Anode (+), nur verschieden schnell. Die kurzen und damit leichteren Fragmente wandern am schnellsten, während die längeren und somit schwereren Fragmente entsprechend langsamer sind. Daher erfolgt im elektrischen Feld das Sortieren der zahlreichen, unterschiedlich langen DNA-Fragmente nach ihrer jeweiligen Länge. Die kürzesten

Fragmente (P-T, P-TA, P-TAG...) kommen zuerst am Laser an, die längeren Fragmente später.

Der Laser regt die vier verschiedenen Fluoreszenz-Farbstoffe an, die an die jeweiligen Stopp-Nukleotide gebunden sind. Die vier unterschiedlichen Lichtimpulse werden von der Sequenziermaschine automatisch registriert und in die Sequenz-Datei des zu analysierenden DNA-Strangs umgeschrieben. Pro Durchlauf lassen sich DNA-Fragmente mit einer Länge von 600 bis 800 Basenpaaren analysieren.

Genetische Drift

Die Idee der genetischen Drift ist einer der Grundbausteine für die Theorie der neutralen Evolution. Sie verdient es, genauer erläutert zu werden. In einer Population existiert ein Gen typischerweise in verschiedenen Versionen (so genannte Allele), die sich in ihrer DNA-Sequenz unterscheiden. In Abwesenheit anderer evolutionär wirksamer Faktoren wie Selektion, Mutation und Migration erwartet man, dass die Allelfrequenzen in jeder Generation gleich sind. Da Populationen eine endliche Größe haben, kommt es bei der Weitergabe der Allele einer Elterngeneration an ihre Nachkommen zu zufälligen Änderungen der Allelfrequenzen. Einige Individuen werden keine Nachkommen haben, ihre Allele sterben aus. Andere Individuen haben mehrere Nachkommen, die entsprechenden Allele werden in der nächsten Generation häufiger vertreten sein. Daraus ergeben sich Schwankungen in der Nachkommenzahl pro Individuum, die zwischen den jeweiligen Generationen zu unterschiedlichen Allelfrequenzen führen.

Dieser Zufallsprozess heißt (zufällige) genetische Drift. Er wurde von Sewall Wright (1889–1988) beschrieben, einem der Urväter der theoretischen Populationsgenetik. Zufällige Schwankungen in den Allelfrequenzen führen dazu, dass letztendlich nur ein Allel in der Population fixiert wird. Die Population verliert durch Drift ihre gene-

tische Variabilität. In einer kleinen Population geschieht dies schneller als in einer sehr großen Population.

Die neutrale Theorie der Molekularen Evolution

Motoo Kimura (1924–1994) formulierte 1968 die neutrale Theorie der Molekularen Evolution, um das Ausmaß an Variabilität in einer Population auf molekularem Niveau zu erklären. Die Theorie besagt, dass der Großteil der Substitutionen neutral sind, das heißt sie haben keinen Einfluss auf die Anzahl der Nachkommen des betroffenen Individuums.

Das heißt aber nicht, dass es keine Selektion gibt. Kimura postulierte lediglich, dass die Mehrzahl der Basenaustausche auf molekularem Niveau nicht adaptiv, das heißt für das Individuum nicht vorteilhaft sind. Finden solche vorteilhaften Mutationen statt, dann führt dies zu einer besseren Anpassung an die herrschenden Umweltbedingungen, und die Nachkommen dieser Individuen verbreiten sich schneller durch die Population (so genannte positive oder Darwin'sche Selektion). Diese seltenen Mutationen wurden von Kimura nicht weiter untersucht. Auch schädliche (*deleterious*) Mutationen wurden von Kimura nicht betrachtet, da sie schnell aus der Population verschwinden. Individuen, die schädliche Mutationen tragen, sterben entweder sehr schnell oder haben keine respektive schlecht angepasste Nachkommen. Diese Form der Selektion heißt in der Fachsprache negative oder reinigende Selektion (*purifying selection*).

Schädliche Mutationen sind für die Mehrzahl der Veränderungen im Genom verantwortlich, während sie die genetische Variabilität einer Population nur unwesentlich beeinträchtigen. Es sind die vorteilhaften und neutralen Substitutionen, die für die Evolution einer Population wichtig sind. Welchen genauen Anteil dabei die neutralen Substitutionen haben, wird nach wie vor unter Fachleuten diskutiert.