

Machen die Viren uns zu Menschen?

15. November 2003

LUIS P. VILLARREAL

Director, Center for Virus Research University of California at Irvine

Übersetzt von Dr. med. Hans-Michael Hackenberg, Sigmaringen im Dezember 2016
Deutsche Veröffentlichung vom Autor genehmigt.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Machen die Viren uns zu Menschen?	3
Wie unterscheiden sich Menschen von ihren nächsten Verwandten?	3
Retroposons sind von Retroviren abgeleitet	4
Die zwei Lebensstrategien von Viren: akut und hartnäckig.	5
Persistenz: Genetische Verbindung zu Wirtsgenomen	6
Persistenz, Fitness und 'King of the Hill'-Phänotyp	6
Persistenz erfordert Intimität und Co-Evolution des Wirts	7
Persistenz-, Immunitäts- und Addiction Module	8
Persistenz, Addiction und der Ursprung der prokaryotischen Immunität	9
Wirtslinien sind durch ihre erworbenen genetischen Parasiten gekennzeichnet	9
War ein DNA-Virus der letzte universelle Vorfahre?	10
Horizontaler Transfer: Falsche Anschuldigungen und virale Kreativität	10
Die bislang akzeptierte These eines prokaryotischen Vorfahren des Kerns, ist ein Dilemma	11
Virale und eukaryotische Replikationsproteine sind ähnlich	12
Algen und ihr Virus: Ein früher Eukaryot	13
Das Algenvirus hat die basale eukaryotische DNA-Polymerase und andere Gene	14
Auch andere haben einen viralen nuklearen Ursprung vorgeschlagen	15
Möglicher viraler Ursprung anderer Kernfunktionen	15
Säugetiere haben ihre eigene Eigenschaft erworben: Endogene Retroviren und Retroposons	17
HERVs bieten eine normale Genfunktion für die Plazenta	19
HERVs und menschliche Eigenschaften	19
HERV-K und Afrika	20
Referenzen	26

Machen die Viren uns zu Menschen?

Diese Frage wird den meisten Menschen absurd erscheinen. Viren sind molekulargenetische Parasiten und sind hauptsächlich für ihre Fähigkeit bekannt, Krankheiten in ihrem Wirt auszulösen. Lange wurde angenommen, dass ihre Wirkung auf die Wirtsevolution der eines Raubtiers auf seine Beute gleicht, wobei der Wirt mit geschwächter Abwehr eliminiert wird. Wie liesse sich eine konstruktive Rolle der Viren erklären?

Viele Viren können ihren Wirt auf stabile und anhaltende Weise infizieren, häufig ohne Erkrankung, und oft lebenslang persistent bleiben. Solche Viren können die virale Saat der genetischen Schöpfung auf ihren Wirt übertragen. Damit solche persistierenden Viren ihren Wirt erfolgreich besiedeln können, müssen sie auf ihren Wirt eine komplexe virale molekulargenetische Identität übertragen.

Dieser Aufsatz entwickelt und liefert Argumente dafür, dass solche stabil persistierenden Viren eine große kreative Kraft in der Evolution des Wirts darstellen und den Wirt dazu bringen, neue und immer komplexere molekulare Identitäten zu erwerben. Basierend auf dieser Prämisse untersucht dieser Aufsatz die mögliche Rolle von Viren in der Komplexität der Evolution, einschließlich der Evolution von menschenpezifischen Attributen. Diese Sichtweise der menschlichen Evolution ist Teil einer umfassenderen Idee, dass stabil persistierende Viren (genetische Parasiten) es dem Wirt ermöglichen können, komplizierte Funktionen (komplexer Phänotyp) in einem punktuellen Kolonisationsereignis zu erwerben. Ein solcher Prozess könnte mehrere große Dilemmata in der Evolutionsbiologie erklären. All diese Dilemmata beinhalten den Ursprung verschiedener Wirtslinien, die in einem relativ kurzen Zeitrahmen einen komplexen und interagierenden Funktionssprung erworben haben. Solch plötzliches Auftreten von Komplexität war schon immer schwer durch einen einfachen darwinistischen Prozess zu erklären. Diese Dilemmata umfassen den Ursprung des eukaryotischen Zellkerns, den Ursprung blühender Pflanzen, den Ursprung des adaptiven Immunsystems bei Tieren und den Ursprung lebend geborener (viviparer) plazentaler Säugetiere.

In diesem Aufsatz erwähne ich den Ursprung des eukaryotischen Zellkerns nur kurz als Beispiel dafür, wie persistierende Viren zur Evolution komplexer Wirte beitragen können. Für aufmerksame Leser, die sich für diese weiteren Themen interessieren, verweise ich auf mein Buch *Viruses and the Evolution of Life*, das von der *American Society for Microbiology* veröffentlicht wurde.

Wie unterscheiden sich Menschen von ihren nächsten Verwandten?

Mit dem Abschluss des Human Genom-Projekts und der Evaluierung können wir nun weitreichende Unterschiede zwischen unserem menschlichen Genom und dem unserer nächsten Verwandten, den Schimpansen, bewerten. Es wird erwartet, dass eine solche Bewertung den Evolutionsprozess identifizieren sollte, der es vor etwa fünf Millionen Jahren ermöglichte, dass sich die Genome von Mensch und Schimpanse entwickelten und von einem gemeinsamen Vorfahren abspalteten. Die genetischen Veränderungen, die in diesen beiden Linien aufgetreten sind, sollten es uns ermöglichen, auf genetischer Ebene das zu identifizieren, was uns zu Menschen macht. Eine der überraschendsten Beobachtungen, die beim Vergleich der Genome von Mensch und Schimpanse gemacht wurden, war die Tatsache, dass diese beiden Genome einander extrem ähnlich waren. Die Ähnlichkeit ist so groß (98,5 % in kodierenden Regionen), dass es schwierig wäre, menschliche Gene von Schimpansen-Genen nur anhand ihrer kodierenden Regionen zu unterscheiden. Kürzlich wurde berichtet, dass jene Gene, die sich unterscheiden, oft denen entsprechen, die an Geruch oder Ernährung beteiligt sind. Auf der Ebene der Gene

ist also überhaupt nicht klar, wie oder warum Menschen und Schimpansen voneinander divergieren. Dennoch weisen unsere menschlichen Genome signifikante Unterschiede zu denen unserer Schimpansen-Verwandten auf. Der offensichtlichste dieser Unterschiede liegt jedoch nicht in den codierenden Regionen, sondern kann in den entsprechenden Y- (und X-) Chromosomen gefunden werden. Das menschliche Y-Chromosom unterscheidet sich wesentlich in Größe und Sequenz von dem des Schimpansen. Aber das Y-Chromosom kodiert nur wenige Gene, und der größte Teil dieses Unterschieds entspricht „Retroposons“, das ist DNA, die sich durch die Wirkung der reversen Transkriptase, einem retroviralen Replikationsenzym, bewegt hat oder einer anderen von Wiederholungen abgeleiteten DNA, die auf dem Y-Chromosom liegt. Da ein Großteil dieser „Retroposon“-DNA nicht codierend ist, wurde sie als „Junk“- oder sinnlose DNA angesehen, die keinem Phänotyp entspricht und keine Auswirkung auf die Evolution des Wirts hat, sondern sich einfach angesammelt hat. Doch gerade dieses genetische Material unterscheidet nicht nur die menschliche DNA von der Schimpansen-DNA, sondern unterscheidet auch die Genome aller höheren Lebensformen voneinander. Tatsächlich zeigt ein Genom-weiter Vergleich der Genome des Menschen, der Mäuse und der Beuteltiere, dass diese nichtkodierenden Sequenzen nicht nur zwischen diesen Organismen besser differenzierbar, sondern paradoxerweise auch konstanter erhalten sind als die codierenden Sequenzen. Diese Beobachtung erscheint widersprüchlich. Wie können nichtkodierende Sequenzen als Gruppe sowohl charakteristischer als auch konservierter sein als kodierende Sequenzen? Alle Säugetiere haben ihre eigenen einzigartigen Sammlungen solcher Sequenzen. Alle Säugetiere haben jedoch auch alte Versionen solcher Sequenzen konserviert. Daher scheinen solche Sequenzen während der Artendiversifizierung erworben worden zu sein. Alle Säugetiere scheinen jedoch sowohl die erst kürzlich erworbenen als auch die älteren nichtkodierenden Sequenzen zu erhalten. Warum ist das so und wie können wir dieses scheinbar paradoxe Verhalten verstehen?

Retroposons sind von Retroviren abgeleitet

Es ist inzwischen klar, dass die Mehrheit der nichtkodierenden DNA des Genoms hauptsächlich Variationen, Defekte und/oder Produkte von endogenen oder Retroviren-Genomen darstellt. Ein endogenes Retrovirus (ERV) ist ein Retrovirus, dessen DNA in das Genom seines Wirts eingebettet ist. Diese ERV-Sequenzen sind in Vertebraten in beträchtlicher Zahl vorhanden. Noch häufiger sind jedoch Derivate von ERVs. Diesen defekten und von ERVs abgeleiteten Gensequenzen wurden Namen wie LINEs und SINEs (*short bzw. long interspersed nuclear elements*) gegeben, sie sind jedoch eindeutig mit Retroviren verwandt. Zum Beispiel behalten menschliche LINEs einige Sequenzen des HERV-pol-Gens bei, wohingegen menschliche SINEs einige Sequenzen von HERV-LTR- und env-Regionen behalten. Diese Sequenzelemente haben keine offensichtliche Funktion und sind im Allgemeinen nicht in der Lage, Gene zu exprimieren. Aus diesem Grund wurden sie oft sowohl als Junk-DNA als auch als sinnlose DNA bezeichnet. Kann eine solche scheinbar „verfallene“ virale DNA irgendeine Rolle dabei spielen, was uns zu Menschen macht? Die instinktive Reaktion der meisten Evolutionsbiologen wäre negativ, und derzeit scheinen keine überzeugenden experimentellen Beweise in der Lage zu sein, diese instinktive Ablehnung direkt zu widerlegen. Es gibt jedoch relevante Beobachtungen, die die Ansicht stützen können, dass solche von Viren stammenden Sequenzen eine große Rolle in der Evolution spielen. In diesem Aufsatz erläutere ich die Theorie, dass solche Retroposons Produkte vergangener Besiedlungsereignisse durch persistierende genetische Parasiten darstellen, die dem Wirt bedeutende kreative

Errungenschaften in der Evolution des Lebens bescherten. Aus dieser Sicht werden wir Beweise für virale Fußabdrücke im menschlichen Genom untersuchen, die Hinweise darauf geben könnten, wie genetische Parasiten zur Evolution einiger sehr menschenpezifischer Merkmale geführt haben könnten, wie z. B. dem assoziativen (sozialbasiertes) Lernen und dem Erwerb der kognitiven Fähigkeit zur menschlichen Sprache.

Die zwei Lebensstrategien von Viren: akut und hartnäckig.

Die Hauptthese dieses Essays wird den meisten Lesern wenig intuitiv erscheinen. Wie können genetische Parasiten wie Viren zur Evolution komplexer Eigenschaften ihres Wirts beitragen? Nach unserem bisherigen Wissen sind Viren destruktive, nicht konstruktive Wesen. Sie sind in der Lage, Massenerkrankungen auszulösen und Menschen und andere Wirte in sehr großer Zahl zu töten.

Unsere kollektive Wahrnehmung von Viren als Krankheitserreger ist daher gut begründet und wird an einer großen Zahl menschlicher Todesfälle gemessen. Allein im letzten Jahrhundert sind Millionen von Menschen den Folgen des pandemischen Influenzavirus, Masernvirus, Poliovirus und jetzt HIV erlegen. In früheren Jahrhunderten wurden vor allem in der Neuen Welt ganze Kulturen durch Pockenvirus-Epidemien zerstört. Wie können wir glauben, dass solche Agenten in irgendeiner Weise positiv zu ihrer Wirtsevolution beitragen könnten?

Aufgrund des von ihnen ausgehenden Risikos wissen wir viel über die Dynamik solcher epidemischer Viren und ihre Auswirkungen auf Wirtspopulationen. Diese Erreger akuter Krankheiten können sich in großer Zahl vermehren. Es hat sich gezeigt, dass sie sich bis zu einer Million Mal schneller entwickeln als ihr Wirt. Viren wie HIV und Influenza A können sich so schnell entwickeln, dass evolutionäre genetische Veränderungen während der kurzen Dauer einzelner Infektionen beobachtet werden.

Viren repräsentieren eindeutig die Spitzengruppe aller sich entwickelnden biologischen Einheiten. Viren haben jedoch mehr als eine Lebensstrategie. Nicht alle Viren replizieren sich schnell und entwickeln Krankheitserreger. Wir wissen zum Beispiel aus unseren mathematischen Modellen, dass akute, krankheitsverursachende Viren wahrscheinlich nicht gemeinsam mit ihrem menschlichen Wirt entstanden sind. Vorlandwirtschaftliche menschliche Populationen waren einfach zu klein, um die Übertragungsraten und die Genesung des Wirts für irgendeine dieser akuten Infektionskrankheiten aufrechtzuerhalten. Die Beziehung dieser Viren zu ihrem Wirt ist in kleinen Populationen oder in einer evolutionären Zeitskala, die auf die Evolution ihres Wirts zurückgehen könnte, nicht stabil. Viren sind jedoch eng mit ihrem Wirt verwandt. Selbst im weitesten Sinne zeigen Viren starke und ausgeprägte Beziehungen zu ihrem spezifischen Wirt. Die Viren von Bakterien, Archaeen, Algen, Pilzen, wirbellosen Wassertieren, Insekten, Pflanzen, Amphibien und Säugetieren haben alle unterschiedliche Muster und Beziehungen zu ihrem Wirt. Beispielsweise sind in Bakterien die große Mehrheit der Viren große dsDNA-Viren. Ähnliche dsDNA-Viren werden auch in Algen gefunden, fehlen jedoch in Pilzen und Pflanzen. Stattdessen beherbergen Pilze dsRNA-Viren, während Blütenpflanzen hauptsächlich ss+RNA-Viren beherbergen. Dagegen zeigen Säugetiere eine starke Neigung zur Infektion mit endogenen Retroviren. Selbst auf Artenebene sind einige Viren oft hochspezifisch für ihren Wirt. Es gibt auch einen merkwürdigen Zusammenhang in Bezug auf Wirte und virale Vielfalt. Wirte, die artenübergreifend sind, neigen auch dazu, verschiedene Viren zu unterstützen, während Wirte, die nicht vielfältig, aber erfolgreich sind, dazu neigen, wenige Viren zu unterstützen. Wie jedoch weiter unten

ausgeführt wird, neigen Viren, die hoch speziesspezifisch sind, dazu, persistente Viren zu sein.

Persistenz: Genetische Verbindung zu Wirtsgenomen

Meine These ist, dass die stabile Persistenz genetischer Parasiten in ihrem Wirt die enorme genetische Kreativität einer viralen Einheit in die Evolution ihres Wirts lenken kann. Persistente Parasiten können somit kumulativ und punktuell zur Evolution der Wirtskomplexität beitragen. Persistenz, also die Beständigkeit, ist daher entscheidend für den kreativen Prozess der Wirtsevolution. So wie der Begriff hier verwendet wird, kann Persistenz als die Fähigkeit eines Virus oder genetischen Parasiten definiert werden, eine fortgesetzte Präsenz in seinem Wirt aufrechtzuerhalten, so dass er die Übertragung des genetischen Parasiten auf nachfolgende Generationen des Wirts ermöglicht. Persistierende Viren haben eine deutlich andere Lebensstrategie als jene Viren, die sich hauptsächlich durch eine akute Infektion replizieren. Akute Viren zeichnen sich dadurch aus, dass sie in der Lage sind, eine enorme genetische Komplexität zu erzeugen und eine große Anzahl von Nachkommen zu produzieren. Diese Viren sind für die meisten uns bekannten krankheitsbedingten Epidemien verantwortlich und zeigen keine Artgenossenschaft mit ihrem Wirt. Um ihren epidemischen oder endemischen Replikationszyklus aufrechtzuerhalten, sind diese Viren in hohem Maße von der Populationsstruktur und -größe ihres Wirts abhängig. Sie erfordern große kommunizierende Wirtspopulationen. Diese Eigenschaft macht solche Viren während der Evolution weniger stabil, was oft zu Engpässen bei Wirtspopulationen führen kann. Persistenz hingegen hängt viel weniger von der Struktur der Wirtspopulation ab und kann auch in nicht geselligen Wirtspopulationen gut funktionieren.

Persistenz, Fitness und 'King of the Hill'-Phänotyp

Bevor die Argumente für die Rolle persistierender genetischer Parasiten in der Wirtsevolution weiter entwickelt werden, ist es wichtig, besser zu verstehen, wie das Konzept der Fitness mit der Persistenz zusammenhängt. In diesem Aufsatz definiere ich Persistenz als eine Infektion, die dazu führt, dass ein individuell infizierter Wirt das virale Genom erhalten oder dieses Genom episodisch reproduzieren kann. Obwohl wir die allgemeine Idee akzeptieren können, dass Fitness die Evolution vorantreibt, wirft die tatsächliche Messung der Fitness in einem Labor oder Feld einige große Probleme auf. Labormessungen verwenden normalerweise die relative Fitness oder den Reproduktionswert als laborgerechte Messung. Die relative Fitness ist die Anzahl reproduktionserfolgreicher Virusnachkommen dividiert durch die durchschnittliche Anzahl an Nachkommen für die Population. Der Reproduktionswert wird als Nettoerproduktionsleistung (R_0) gemessen, die die lebensfähigen Nachkommen pro Individuum und Leben darstellt. Solche Fitnessmessungen, angewandt auf akute Virusagenten, führen zu Differentialgleichungen, die die meisten Virusepidemien genau zu beschreiben scheinen. Somit wurden diese Fitnessmessungen akuter Viren durch experimentelle Beobachtungen gut gestützt. Diese Fitnessmessungen sind jedoch dimensionslose Metriken, die ausschließlich von der Reproduktion und nicht von der Zeit abhängen. Sie berücksichtigen keine Unterschiede in der Überlebenszeit oder Persistenz. In einem allgemeineren und umfassenderen Sinne können wir ein Problem mit der obigen Definition erkennen.

Wenn wir stattdessen Fitness als den genetischen Beitrag zum Weiterleben eines Individuums und zum Weiterleben seiner Nachkommen definieren, haben wir eine Definition, die der ursprünglich von Darwin verwendeten ähnlicher ist. Eine solche Definition würde sowohl Fitness als Folge hoher Reproduktionsraten als auch Langlebigkeit umfassen. Im Zusammenhang mit einem persistierenden genetischen Parasiten können wir argumentieren, dass der Parasit die Überlebenszeit des Virus oder des Wirts erhöhen muss, um eine hohe Wahrscheinlichkeit einer viralen Fortsetzung oder Übertragung zu erreichen. Dies bedeutet nicht, dass Persistenz die Reproduktionsraten maximieren muss. Persistenz hemmt tatsächlich die Fortpflanzungsraten während der Etablierung und Aufrechterhaltung des persistenten Zustands. Damit die Persistenz eine hohe Wahrscheinlichkeit für Aufrechterhaltung oder Übertragung erreicht, muss der persistente Agent in der Lage sein, mit anderen parasitären Agenten in einem statischeren Sinne zu konkurrieren, der nicht von Replikationsraten abhängt.

Ein hartnäckiger Parasit muss sich „bücken“ und es mit allen Ankömmlingen aufnehmen, die sowohl aus der Wirtsimmunität als auch aus der Konkurrenz resultieren und die versuchen könnten, das hartnäckige Virus zu verdrängen oder zu zerstören. Dies ist die bekannte „King of the Hill“-Spielstrategie aus der Kindheit, bei der die Fitness dadurch definiert wird, wer am Ende übrig bleibt, und nicht dadurch, wie viele Versuche die Konkurrenz unternommen hat, um den Gewinner zu verdrängen. Dazu muss Persistenz Konkurrenten, die Umwelt und die Zeit für Wartung und maximale Übertragung erkennen und darauf reagieren. Daher müssen persistente genetische Parasiten einen Phänotyp oder eine Strategie enthalten, die die Aufrechterhaltung sicherstellt. Dieses Merkmal ist der entscheidende Unterschied zwischen dem Konzept der Persistenz und dem Konzept der „sinnlosen“, egoistischen Gene, das zuvor vorgeschlagen wurde, um defekte genetische Parasiten (Transposons) zu erklären. Ein egoistisches Gen sucht einfach seine eigene Erhaltung. Mit egoistischer DNA ist kein Phänotyp verbunden und daher keine direkte Auswirkung auf Wirtskonkurrenz oder -evolution.

Ein persistierender genetischer Parasit hingegen muss seinem Wirt eine neue molekulargenetische Identität überlagern, die zur Persistenz zwingt und Konkurrenz und Verdrängung ausschließt. Diese Konkurrenz kann von demselben genetischen Parasiten stammen wie der persistente Erreger selbst. Daher werden, wie erwähnt, persistente genetische Parasiten im Allgemeinen hemmend auf ihre eigene Replikation wirken, wodurch die Etablierung des persistenten Zustands ermöglicht wird. Ein „defekter“ genetischer Parasit (fehlende Gene, die sich nicht selbst replizieren können) ist ein effektiver Vermittler der Persistenz und wird oft in der Lage sein, einen Zustand der Persistenz auf den vollständig infektiösen Parasiten zu übertragen. Durch ihre Ähnlichkeit mit egoistischer DNA sind Defekte eine gängige Strategie, um Persistenz zu erreichen.

Persistenz erfordert Intimität und Co-Evolution des Wirts

Der obige Absatz argumentiert, dass die Persistenz eine deutliche Fitnessbeziehung mit ihrem Wirt hat im Gegensatz zu akuten viralen Erregern. In Bezug auf die Wirtsevolution sind persistierende Viren viel enger mit ihrer Wirtsspezies verbunden und haben sich im Allgemeinen mit ihnen gemeinsam entwickelt. Die Persistenz ist oft in einer evolutionären Zeitskala stabil, und es gibt zahlreiche Fälle, in denen persistierende Viren und ihr Wirt sich gemeinsam weiter zu entwickeln scheinen. Persistierende Viren sind nicht von Populations-Strukturen des Wirts abhängig und werden effektiv auch in kleinen Populationen aufrechterhalten. Sie können allgegenwärtig sein und in einigen Fällen in 100 Prozent der spezifischen natürlichen Wirtspopulation gefunden werden. Sowohl

große als auch kleine Wirtspopulationen können effektiv besiedelt werden. Persistierende Viren werden oft von Alt auf Jung übertragen, oft beim Sex oder bei der Geburt. Persistierende Infektionen bestehen in der Regel lebenslang und zeigen im Allgemeinen wenig oder gar keine Krankheitszeichen im kolonisierten Wirt. Diese Infektionen sind typischerweise sehr artspezifisch. Bei den menschlichen persistierende Viren gibt es viele allgemein bekannte. Dazu gehören insbesondere verschiedene Arten von DNA-Viren, wie Herpesvirus Typ I/II, Epstein-Bar-Virus, Zytomegalie-Virus, verschiedene Arten von Adenoviren, humane Polyomaviren (JCV, BKV), humane Papillomaviren und das kleine TT-Virus (transfusion-transmitted virus). Alle diese Viren neigen dazu, lebenslange inapparente bzw. asymptomatische Infektionen zu verursachen. Darüber hinaus sind sie alle hochgradig menschenspezifisch (in manchen Fällen deckungsgleich mit menschlichen rassistischen und geografischen Mustern verteilt). Alle zeigen auch ein gewisses Maß an Co-Evolution mit Menschen und anderen Primaten-Wirten.

Persistenz-, Immunitäts- und Addiction Module

Wir können nun allgemein fragen, was die Folge für die Evolution eines Wirts ist, wenn ein Organismus permanent von einem persistierenden Virus besiedelt wurde. Welchen Unterschied wird dies für das evolutionäre Potenzial oder die Lebenskurve dieses Wirts machen?

Eine klare Konsequenz ist, dass diese kolonisierten Wirte die Replikation des persistierenden Virus selbst kontrollieren müssen, um Persistenz herzustellen. Im Allgemeinen hat das Virus einige Immunitäts- oder Kontrollfunktionen, die die Virusreplikation verhindern. Daher muss die Persistenz eine gewisse Form von Immunität gegen ähnliche Viren bieten. Außerdem werden stabil persistierende Viren oft Gene oder funktionelle Strategien exprimieren, die die Aufrechterhaltung des viralen Genoms sicherstellen. Bei niederen Organismen können diese Erhaltungsfunktionen oft in Form von Addiction Modulen (Suchtmodulen, Toxin-Antitoxin-Systeme auf zellulärer Ebene, die den Verlust von extrachromosomaler DNA verhindern sollen) vorliegen.

Suchtmodule sind aufeinander abgestimmte Sets von Genen oder Funktionen, die für Wirte, die den persistenten Agenten verlieren schädlich sind, aber vorteilhaft für Wirte, die den persistenten Agenten beibehalten. Typischerweise ist die schädliche Funktion stabil, aber die nützliche Funktion kann instabil sein, was die ständige Anwesenheit des viralen Genoms erfordert. Oft ist die schädliche Funktion ein Toxin und die nützliche Funktion ein Antitoxin. Manchmal können Schaden und Nutzen von der Replikation des Virus selbst herrühren, die einen unbesiedelten Wirt tötet.

Ein defektes Virus, das die Replikation des infektiösen Virus verhindert, kann eine solche Funktion erfüllen, wenn akute Viren vorherrschen. Solche Virus-basierten Immunitätsmodule sind von Natur aus komplexe genetische Systeme. Sie umfassen aufeinander abgestimmte Gruppen von Funktionen, die sowohl schädlich als auch vorteilhaft für den kolonisierten Wirt sind, aber typischerweise auch die Fähigkeit des Wirts beeinflussen, mit anderen viralen oder genetischen Parasiten zu konkurrieren oder sie auszuschließen. Könnten solche persistenten Agenzien den Ursprung des Immunsystems des Wirts liefern?

Persistenz, Addiction und der Ursprung der prokaryotischen Immunität

Wir können diese Frage im Zusammenhang mit Bakterien und Archaeen betrachten. Diese Prokaryoten sind die anpassungsfähigsten Organismen der Erde. Wie schützen sie sich vor Infektionserregern und wie ist dieses System entstanden?

Alle frei lebenden Bakterien und Archaeen verwenden Restriktionsmodifizierungsenzyme als Immunitätssystem sowie andere Systeme. Dass ihre Genome alle palindromische Sequenzen (Basen-Sequenzen, die gegenläufig bei komplementärer Basenpaarung die gleiche Basenfolge ergibt) vermeiden, unterstützt die allgemeine evolutionäre Bedeutung der Restriktions-Modifikations-Systeme.

Diese Systeme repräsentieren die vielfältigsten aller Gene in Prokaryoten. Sie stellen auch die einfachste Version eines „komplexen Phänotyps“ dar, der die gleichzeitige Schaffung zweier übereinstimmender Enzymfunktionen erfordert. Das Restriktionsenzym, das unmodifizierte DNA abbauen kann, ist stabil, aber das Modifikationsenzym wirkt normalerweise nur während der DNA-Replikation. Der wahrscheinliche Ursprung dieser Systeme liegt in Viren und parasitären Plasmiden. Beispielsweise codieren persistente Phagen wie P1 und P7 beide für Restriktionsmodifizierungsenzyme, die Teil eines Addiction Moduls (phd/doc) sind. Diese Enzyme zwingen den kolonisierten Wirt, das Virus aufrechtzuerhalten, um die Selbstzerstörung des Wirts zu verhindern.

Als Folge dieser Viruskolonisation ist die Wirtszelle nun jedoch immun gegen eine ganze Reihe anderer Viren (einschließlich des lytischen T4-ähnlichen Phagen). Wenn diese Übernahme durch den Parasiten stabil wird, hat der Wirt in einem infektiösen Kolonisationsereignis einen neuen komplexen Phänotyp der Immunität erworben. Dieses Argument kann erweitert werden, um zahlreiche andere komplexe Gensets (wie Fitness- oder pathogene Inseln, deren Gene in die Hunderte gehen) einzubeziehen, die ebenfalls aus einer stabilen Wirtsbesiedlung resultieren. Bei Prokaryoten ist jetzt klar, dass die Wirtsevolution hauptsächlich durch einen infektiösen Prozess erfolgt. Viele würden jedoch meinen, dass dieser Prozess von Natur aus „horizontal“ ist – das heißt, dass er die Übertragung von Genen von einer Wirtsart auf eine andere beinhaltet, wobei Viren als Vehikel verwendet werden. Ich stimme dieser Ansicht nicht zu. Wie unten dargestellt, sind Viren nicht nur Vehikel, die Gene von einem Wirt auf einen anderen übertragen. Stattdessen behaupte ich, dass Viren die ultimativen Genschöpfer darstellen, die in großer Zahl neue Gene erfinden, von denen einige nach einer stabilen Virusbesiedlung ihren Weg in die Wirtslinien finden.

Wirtslinien sind durch ihre erworbenen genetischen Parasiten gekennzeichnet

Wir sind jetzt bereit, ein globales Dilemma in der Evolutionsbiologie zu betrachten: Warum neigen Abstammungslinien von Wirten dazu, sich zu höherer genetischer Komplexität zu entwickeln, und warum ist diese Evolution mit dem Erwerb von nicht codierender „verfallener“ DNA verbunden? Diese nicht codierenden Sequenzen stammen hauptsächlich von verschiedenen Arten parasitärer genetischer Elemente, wie z. B. Retroposons. Warum besteht ein Zusammenhang zwischen der Evolution genetischer Komplexität und dem Erwerb parasitärer Elemente? Bakterien haben Genzahlen in der Größenordnung von 2.000 bis 3.000 und Genome von etwa 4 Millionen Basenpaaren (bp). Sehr wenige ihrer Genome entsprechen parasitären genetischen Elementen. Bei Hefen beträgt die Genzahl etwa 6.000 und die Genome etwa 1,3 Milliarden bp mit etwa zehnmals mehr parasitärer DNA (hauptsächlich DNA-Transposons wie Ty). Drosophila hat etwa 8.800 Gene in einem $1,4 \times 10^8$ bp-Genom, von dem etwa 10 % parasitäre Elemente sind.

Bei Säugetieren wie dem Menschen existieren etwa 40.000 Gene in einem Genom von etwa $2,9 \times 10^9$ BP, aber 97 % dieser DNA ist nicht codierend. Einige der nichtkodierenden Elemente (LINEs und SINEs) sind in mehr als 100.000 Kopien vorhanden. Auch endogene retrovirale Sequenzen werden in diesen Genomen in Zahlen gefunden, die weit über der Gesamtzahl der Gene liegen. Wie können wir dieses Muster erklären? Welche Kräfte führen zu einer solchen Besiedlung des Wirtsgenoms?

War ein DNA-Virus der letzte universelle Vorfahre?

Die spezifische Frage, die wir in diesem Sinne untersuchen möchten, bezieht sich auf den möglichen viralen Ursprung des eukaryontischen Zellkerns. Könnte ein stabil persistierender Virus der Ursprung des eukaryotischen Zellkerns gewesen sein? Auf den ersten Blick scheint dies eine höchst unplausible Vermutung zu sein. Angesichts der oben genannten Genzahlen und Genom-Größen frei lebender Zellen scheint es klar, dass die genetische Nettokapazität des ersten Eukaryoten sogar die des größten bekannten DNA-Virus (etwa 800 Gene) weit übersteigen sollte. Ein großes Virus scheint bestenfalls etwa einem Zehntel der benötigten genetischen Kapazität zu entsprechen. Eine genauere Analyse zeigt jedoch, dass diese virale Genzahl für den frühesten wahrscheinlichen Eukaryoten mehr als ausreichend ist.

Ein Vergleich der Gene, die in allen drei Domänen des Lebens (Bakterien, Archaea, Eukaryoten) gemeinsam sind, zeigt, dass nur ein überraschend kleiner Satz von Genen in diesen Bereichen konserviert wurde. Es wird angenommen, dass es wahrscheinlich eine Vorläuferzelle gab, die der letzte universelle gemeinsame Vorfahre (Last Universal Common Ancestor - LUCA) allen Lebens war. Allerdings sind nur 324 Gene von denen auszugehen ist, dass sie alle von LUCA stammen, ausreichend konserviert.

Überraschenderweise sind die für die Genomidentität und -erhaltung so entscheidenden DNA-Replikationsgene nicht Teil dieses konservierten Satzes. In Bezug auf die Genzahl könnte also ein DNA-Virus diese Menge an Genen bereitgestellt haben. Zum Beispiel hat der T4-Phage 274 Gene, CMV hat 220 Gene. Andere Viren, wie die unten beschriebenen DNA-Viren von Mikroalgen, haben etwa die doppelte Anzahl. Viren könnten somit diese Aufgabe bewältigt haben.

Horizontaler Transfer: Falsche Anschuldigungen und virale Kreativität

Es gibt noch einen weiteren Punkt, der an dieser Stelle hervorgehoben werden muss: Dieser Punkt hat mit der oben erwähnten Idee des horizontalen Gentransfers zu tun. Wenn wir die Genzahl verschiedener großer DNA-Viren auswerten, können wir sehen, dass sie viele Gene haben, die einzigartig sind. Zum Beispiel hat das Weißfleckensyndrom-Virus (WSSV) von Garnelen 184 Gene, von denen nur 11 Ähnlichkeit mit Genen in der Genbank-Datenbank haben, und diese sind meistens mit DNA-Replikations-Proteinen verwandt. Andere DNA-Viren wie das Acidianus Filamentous virus-1 (AFV1), ein chronischer linearer DNA-Phage von hyperthermophilen Archaeen, haben - einschließlich der Replikationsgene - fast gar keine Gene, die denen in Gen-Datenbank ähnlich sind. Verschiedene andere Viruslinien haben eine Fülle von Genen, die für die spezifischen DNA-Viruslinien einzigartig sind. Die logische Verknüpfung ist, dass sich virale Abstammungslinien häufig durch die Schaffung völlig einzigartiger Gene weiterentwickeln. Im Fall der gesamten Baculovirus-Familie (DNA-Viren von Insekten) wurde der gesamte Stammbaum ausgewertet, und es hat sich klar gezeigt, dass sich die meisten viralen Abstammungslinien dadurch unterscheiden, dass sie neue und

einzigartige Gene erworben haben. Etwa 80 % ihrer Genome sind tatsächlich einzigartig. Einige Genverluste und Genumwandlungen sind ebenfalls zu sehen. Tatsächlich stehen aber nur 12 Genverluste den 255 Genakquisitionen in diesem Baum gegenüber. In einigen Fällen sind einzigartige virale Gene sehr kompliziert und interagieren mit einem sehr großen Satz zellulärer Proteine, wie dem onkogenen und DNA-bindenden großen T-Ag des Simian-Virus 40 (SV40). Dennoch gibt es kein Wirts-Analogon für T-Ag, ein Gen, das in der Viruslinie hoch konserviert ist. Häufig stellt die virale Version eines Gens das einfachste Beispiel eines verwandten Proteins in einer funktionellen Proteinfamilie dar. Beispielsweise bestehen die in Algen-DNA-Viren gefundenen Kaliumtransportgene im Vergleich zu den viel größeren Wirtsversionen nur aus etwa hundert Aminosäuren. Das Fazit ist klar: DNA-Viren erfinden Gene in großer Zahl, sowohl komplexe als auch einfache Gene.

Ironischerweise wird jedoch immer dann, wenn beobachtet wird, dass einige virale Gene Ähnlichkeit mit Wirtsgenen aufweisen, argumentiert, dass die Viren das Gen aus dem Wirtsgenom „gestohlen“ haben müssen. Häufig sind solche „gestohlenen“ Gene eher einfach (weniger als 100 a.a.), z. B. Immunregulatoren wie Zytokine und Chemokine. Ich behaupte, dass solche Ansichten falsch sind. Viren wurde fälschlicherweise unterstellt, keine Gene beizutragen, sondern sie hauptsächlich vom Wirt zu stehlen und sie an einen anderen Wirt weiter zu geben. Die Beweise stützen die gegenteilige Ansicht. Selbst in den meisten Fällen, in denen eine Ähnlichkeit zwischen Wirts- und Virusgenen festgestellt werden kann, zeigt eine ordnungsgemäß durchgeführte phylogenetische Analyse normalerweise, dass die Virusversion der im Wirt gefundenen Version zugrunde liegt. Die virale Version scheint älter und in der Regel einfacher zu sein. Daher behaupte ich, dass das Konzept der häufigen horizontalen Übertragung von Genen durch Viren im Allgemeinen fehlerhaft und stark übertrieben ist. Es wird davon ausgegangen, dass Viren keine Gene hervorbringen, sondern sie einfach zwischen Wirten verschieben. Ich behaupte, dass es viel wahrscheinlicher ist, dass, wenn Wirtsgene Ähnlichkeit mit viralen Genen zeigen, das virale Gen der Vorfahre des Wirtsgens ist.

Die bislang akzeptierte These eines prokaryotischen Vorfahren des Kerns, ist ein Dilemma

Nach den bisherigen Erörterungen können wir davon ausgehen, dass ein Virus der Vorfahre des eukaryotischen Zellkerns war. Unser Fokus wird darauf liegen, den Ursprung der Proteine zu betrachten, die an der Replikation eukaryotischer DNA beteiligt sind, da diese Proteine, wie oben erwähnt, nicht universell konserviert oder zwischen Prokaryoten und Eukaryoten konserviert wurden. Bevor wir uns jedoch mit dieser Überlegung befassen, sollten wir die eher akzeptierten Ansichten über den Ursprung des Kerns sowie die großen Dilemmata, die diese Ansichten aufwerfen, überprüfen.

Die am weitesten akzeptierte These für den Ursprung des eukaryotischen Kerns ist, dass er die absteigende Organelle eines symbiotischen Prokaryoten darstellt, der den Vorgänger der eukaryotischen Zelle (eine Mykoplasmen-ähnliche Zelle ohne Zellwand) stabil besiedelt hat. Diese Idee wurde erstmals 1905 von *Mereschowsky* vorgeschlagen. In den 1970er Jahren argumentierte *Margulis* überzeugend, dass die Symbiose mit Prokaryoten die Ursprünge sowohl der Mitochondrien als auch der Chloroplasten-Organellen erklären könnte. So gewann das Konzept der symbiotischen Evolution viel Unterstützung. Wie jedoch von mehreren Autoren festgestellt wurde (*Pool und Penny 2001, Smith und Szathmary 1999*), löst die Theorie, dass ein symbiotisches Bakterium der Vorgänger des Kerns gewesen sein könnte, nur wenige Dilemmata. Die Unterschiede

zwischen prokaryotischen Chromosomen und Replikationssystemen und denen von Eukaryoten sind einfach zu groß, um durch eine solche Symbiose erklärt zu werden.

Prokaryoten haben kreisförmige Chromosomen mit einzigartigen Replikations-Ursprüngen. Ihre Chromosomen sind nur lose mit Chromatin-Proteinen assoziiert, und sie haben unterschiedliche Ursprungskontrollen und Strukturen für die Initiierung und Vervollständigung der DNA-Replikation. Alle an diesen Prozessen beteiligten Proteine unterscheiden sich bei Prokaryoten und Eukaryoten. Prokaryoten haben gemischte Transkriptions- und Translations-Systeme, und die Transkription ihrer Gene verwendet unterschiedliche RNA-Polymerase-Enzyme. Darüber hinaus haben Eukaryoten viele Kernmerkmale, die in keinem Prokaryoten zu finden sind. Dazu gehört die Verwendung von linearen Chromosomen mit Wiederholungsenden und multiplen Replikations-Ursprüngen.

Chromosomen, die eng mit stöchiometrisch gebundenen basischen Proteinen verbunden sind, die Trennung der Transkription von der Translation durch mehrere Membranen, die Prozessierung von RNA durch 5'-Capping (Ausbildung eines Kappen-ähnlichen Aufsatzes am 5'-Ende von mRNA-Molekülen), Spleißen und 3'-Polyadenylierung (das Anhängen von Adenin-Nukleotiden an das 3'-Ende eukaryotischer prä-mRNA), die Existenz komplexer Kernporen-Strukturen, die RNA aktiv transportieren, und die Existenz eines auf Tubulin basierenden Systems zur Trennung duplizierter Chromosomen – all diese Merkmale stellen Beispiele für komplexe Phänotypen dar, die die Koordination zahlreicher Proteinfunktionen umfassen. Doch keiner von ihnen kann in einer prokaryotischen Zelle identifiziert werden, die der Vorgänger des Zellkerns gewesen sein könnte. So können wir besser verstehen, warum die Frage nach dem Ursprung des eukaryotischen Kerns das größte Dilemma in der gesamten Evolutionsbiologie darstellt.

Virale und eukaryotische Replikationsproteine sind ähnlich

Die Beobachtung, dass Replikationsproteine einiger bakterieller Viren eukaryotischen Proteinen ähnlicher sind als denen, die in prokaryotischen Zellen gefunden werden, ist nicht neu. Die am besten untersuchte DNA-Polymerase in der gesamten Molekularbiologie war in den 1950er Jahren die des Phagen T4, der allerersten charakterisierten DNA-Polymerase. Als T4 Ende der 1980er Jahre zum ersten Mal sequenziert wurde, wurde beobachtet, dass diese Phagen-Polymerase merkwürdigerweise viel mehr einer eukaryotischen DNA-Polymerase ähnelte als jeder prokaryotischen DNA-Polymerase. Zu den Ähnlichkeiten gehörten das Vorhandensein von sechs funktionellen Domänen des Proteins sowie die Empfindlichkeit der Polymerase gegenüber verschiedenen Inhibitoren der Zellteilung (Aphidicolin, PAA usw.). Die Gesamtfunktionalität des prokaryotischen zellulären DNA-Replikationsapparats ist im Wesentlichen die gleiche wie die des eukaryotischen Replikationsapparats. Jedoch ist keines der Proteine zwischen diesen Ordnungen konserviert, noch kann eine Sequenzähnlichkeit identifiziert werden, wie dies bei der T4-DNA-Polymerase der Fall war. Die Implikation dieses Ergebnisses war, dass die eukaryotische DNA-Polymerase und die T4-DNA-Polymerase einen gemeinsamen Vorfahren hatten. Dennoch stellt der T4-Phage eine sehr große Familie von Phagen dar, von denen bekannt ist, dass sie sowohl Bakterien als auch Archaea infizieren, die möglicherweise vor der Divergenz dieser Wirtsordnungen liegen. Diese phagenähnliche DNA-Polymerase ist somit in allen drei Lebensbereichen vertreten. Vor einigen Jahren begannen *Victor De-Filippis* (damals Doktorand) und ich uns für dieses Thema zu interessieren. Wir wollten die Idee, dass ein DNA-Virus der Ursprung des eukaryotischen Replikationssystems (und des Zellkerns)

gewesen sein könnte, besser verstehen. Basierend auf früheren Überlegungen waren wir der Meinung, dass ein großes DNA-Virus, das in der Lage ist, zu überleben, der beste Kandidat für einen solchen Protokern wäre. Mögliche protonukleäre Viren würden wahrscheinlich sowohl in Prokaryoten als auch in frühen Eukaryoten gefunden werden. In Bezug auf virale prokaryotische Kandidaten waren die Cyanophagen CPS-1, CPS-2, S-PM2 alle attraktiv, da sie dsDNA-Genome haben, die DNA- und RNA-Polymerasen kodieren. Archaea-Phagen wie SIRV1, TTV1,2,3,4 waren ebenfalls attraktiv, da es sich um chronische nicht-lytische Infektionen handelt, die Chromatin-gebundene dsDNA verwenden, die interne Membranen in den Virionen haben. Von besonderem Interesse war der AFV1-Phage von Hyperthermophilen, der ähnlich wie bei Eukaryoten TATA-Promotoren (TATA-Box, eine Nukleotid-Sequenz, die die regulierte Expression eines Gens ermöglicht) verwendet und lineare Genome mit Eukaryoten-ähnlichen Telomeren aufweist. Bemerkenswert ist auch, dass die AFV1-DNA-Polymerase die einzige bekannte DNA-Polymerase zu sein scheint, die grundlegend für die DNA-Polymerasen ist, die in Chlorellaviren, dem Virus der afrikanischen Schweinepest und den Pockenviren gefunden werden (*Prangishvili*, persönliche Mitteilung). Andere interessante Viren von Prokaryoten sind P1 (N15) von Bakterien und verschiedene P1-ähnliche Phagen, die Addictions-Module kodieren und dauerhaft Sporen von *B. subtilis* infizieren. Für unsere Analyse wählten wir jedoch ein gut untersuchtes großes DNA-Virus, von dem bekannt ist, dass es Mikroalgen infiziert, das Chlorella-Spezies-Virus (CSV-1).

Algen und ihr Virus: Ein früher Eukaryot

Die Evolution der Algen markiert einen großen Übergang in der Evolution höherer Lebensformen. Algen, wie sie in den Ozeanen vorkommen, stellen die ersten Eukaryoten dar, die eindeutig in den Fossilienbeständen dokumentiert werden können. Daher schlussfolgerten wir, dass sich Viren, die Mikroalgen infizieren, im Gegensatz zu den oben genannten Viren von Prokaryoten, deren Nachkommen möglicherweise nicht direkt zur Evolution des Zellkerns beigetragen haben, an die großen Veränderungen angepasst haben müssen, die während der Evolution von Eukaryoten auftraten, und Merkmale des mutmaßlichen protonuklearen Virus beibehalten haben mussten. Diese Viren gehören zu einer Familie, die als Phycodnaviren bekannt ist. Von einer verwandten Virus-Familie, den Phäoviren, ist bekannt, dass sie die fadenförmigen Braunalgen persistierend infizieren. Bei unserer Analyse begannen wir damit, in der gesamten genetischen Datenbank alle Aminosäuresequenzen zu bestimmen, die eine signifikante Ähnlichkeit mit der in CSV-1 gefundenen DNA-Polymerase aufwiesen. Diese Analyse identifizierte große Mengen verwandter Sequenzen, die alle DNA-Polymerasen der B-Familie zu sein schienen. Die Sets umfassten die replikativen Verlängerungs-Polymerasen aller höheren Eukaryoten und aller großen DNA-Virusfamilien von Eukaryoten sowie die Primer-Polymerase von Eukaryoten, die Reparatur-Polymerase von Archaeobakterien und Bakterien und einige Phagen-Polymerasen. Die DNA-Polymerasen, die dieser viralen CSV-1-Algenpolymerase am ähnlichsten zu sein schienen, waren die replikativen Verlängerungs-Polymerasen, die in verschiedenen Pilzen (Hefen) gefunden wurden. Die zweitähnlichsten waren die Polymerasen der Herpesvirus-Familie. Wir haben dann alle diese Sequenzen abgeglichen, um die Regionen zu bestimmen, die am ähnlichsten oder am stärksten konserviert waren. Wie in früheren Studien der DNA-Polymerase beobachtet worden war, identifizierten auch wir vier unterschiedliche Domänen, die am stärksten konserviert waren. Als wir alle Sequenzen mit der am höchsten konservierten dieser Domänen (als Anker) ausrichteten, konnten wir sehen, dass die verschiedenen Sequenzen die relativen Positionen dieser Domänen beibehielten, aber in ihrer Gesamtlänge beträchtlich variierten. Die CSV-1-

Polymerase stellte jedoch die einfachste Version all dieser Polymerasen dar. Diese Ausrichtung ermöglichte es uns, jene Sequenzen zu eliminieren, die für die spezifische Polymerase hochgradig variabel waren (eine „Haupterschöpfungsquelle“ für unsere Analyse), und unsere nachfolgende Analyse auf die konservierteren Regionen zu beschränken. Dadurch konnten wir einen genetischen Baum aller DNA-Polymerasen erstellen, der durch statistische Analysen sehr gut gestützt wurde.

Das Algenvirus hat die basale eukaryotische DNA-Polymerase und andere Gene

Der vom Algenvirus abgeleitete genetische Baum zeigte einige sehr interessante Merkmale. Das Wichtigste ist, dass er die Idee unterstützte, dass die DNA-Polymerase dieses Virus die Basis für alle in Eukaryoten gefundenen replikativen DNA-Polymerasen zu sein scheint. Mit anderen Worten, diese virale Polymerase scheint der beste Kandidat als Vorfahr aller Polymerasen zu sein, von denen bekannt ist, dass sie die Genome von Eukaryoten replizieren. Es gab an der Basis des Wirtszweigs keine anderen viralen oder prokaryotischen zellulären DNA-Polymerasen, die diese Charakteristika zeigten. Die DNA-Polymerasen der anderen DNA-Viren (Herpes-, Pocken-, Baculovirus) bildeten ihre eigenen Zweige und hatten innerhalb dieser Sets keine Wirtsgene. Ein weiterer Punkt war, dass eine Verbindung zwischen diesen prokaryotischen und eukaryotischen Genen über DNA-Viren bestand. Dieses Ergebnis unterstützte sehr stark die Idee, dass Viren den Ursprung der eukaryotischen Replikationsproteine geliefert haben könnten.

Als nächstes erweiterten wir die Analyse, die bislang ausschließlich auf der DNA-Polymerase basierte. Es stellt sich heraus, dass CSV-1 auch für mehrere andere Gene kodiert, die nicht nur charakteristisch für eukaryotische Replikationssysteme sind, sondern auch charakteristisch für andere eukaryotische spezifische Funktionen. CSV-1 kodiert für zwei Versionen von PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), einem Eukaryoten-spezifischen Replikationsgabelprotein. Eine ähnliche Auswertung eines dieser Gene zeigt, dass es für alle PCNA-Gene von Eukaryoten die Basis ist, und auch für das in eukaryotischen Organismen gefundene PCNA-Gen basal ist. In diesem Fall zeigte es sich zudem, dass verwandte Gene aus verschiedenen Archaea-Bakterien Ähnlichkeiten aufweisen. Das stimmt mit Berichten anderer Untersucher überein, dass die Archaeen in einigen ihrer Replikationsproteine eine große Ähnlichkeit mit Eukaryoten aufweisen. Dieses Ergebnis stützt weiter die Idee, dass die Chlorellaviren basale Versionen von eukaryotischen Replikationsproteinen darstellen könnten.

Eine ähnliche Analyse der CSV-1-Superoxiddismutase (SOD, ein eukaryotisches Gen, das am Schutz vor Sauerstoffradikalen beteiligt ist) zeigte ferner, dass dieses virale Gen für die meisten ähnlichen Gene in Eukaryoten grundlegend war. Bei dieser Analyse war interessant, dass viele Baculoviren (Insekten-DNA-Viren) ebenfalls ein ähnliches SOD-Gen hatten. Von besonderem Interesse war jedoch die Beobachtung, dass keine prokaryotische Version des SOD-Gens identifiziert wurde. Tatsächlich war der einzige beobachtete Vertreter der Prokaryoten, das Fels-1-Gen eines bakteriellen Virus, das auch Bestandteil der Phagenimmunität ist. Somit war die CSV-1-Version von SOD nicht nur die Basis für alle in Eukaryoten gefundenen Versionen, sondern die einzig wahrscheinliche prokaryotische Vorfahrenversion des Gens wurde auch in einem Virus gefunden. Diese Ergebnisse stützen die Idee weiter, dass ein Virus tatsächlich ein Vorfahr der Genfunktion des Wirts sein kann.

Auch andere haben einen viralen nuklearen Ursprung vorgeschlagen

Meine Kollegen und ich sind nicht die einzigen Forscher, die davon ausgehen, dass Viren zur Evolution von Wirtskernkomponenten beitragen haben könnten. Im Jahr 2002 führte *P. Bell* eine Analyse der Eukaryoten-spezifischen Guanylyltransferase durch (das Enzym, das der mRNA die Eukaryoten-spezifische Kappe hinzufügt). Dieses Enzym fehlt jedem Prokaryoten. In Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen berichtete *P. Bell* jedoch, dass das von CSV-1 codierte Enzym grundlegend für alle in Eukaryoten gefundenen Enzyme war. Ein anderes in CSV-1 gefundenes Enzym hat eine ähnliche Eigenschaft. Die CSV-1-Version von HAS (Hyaluronan-Synthase), die die Oberflächen von eukaryotischen Zellen modifiziert, war grundlegend für alle drei Versionen dieses Enzyms, die in höheren Eukaryoten (Wirbeltieren) gefunden wurden, aber nicht in niederen Eukaryoten. In diesem Fall wurden auch prokaryotische Versionen dieses Enzyms identifiziert, aber diese prokaryotischen Versionen waren den in Wirbeltieren gefundenen Versionen weniger ähnlich. Ironischerweise war diese Studie Teil des wegweisenden Papiers zum Abschluss des Human Genomprojekts, und die Autoren verwendeten dieses Beispiel, um die Möglichkeit zu untersuchen, dass bakterielle Gene unter Umgehung früher Eukaryoten direkt in das menschliche Genom gelangt sein könnten. Die Ironie besteht darin, dass sie, obwohl sie die CSV-1-Version eindeutig als basal identifiziert haben, keine weitere Interpretation dieses Ergebnisses in Betracht gezogen haben, geschweige denn, dass sie daran dachten, dass die virale Version der Vorfahre sein könnte. Ein weiterer Forscher, der sich sehr aktiv mit der Untersuchung des möglichen Ursprungs eukaryotischer Replikationsproteine beschäftigt hat, ist *P. Forterre* in Frankreich. In einer Reihe von Studien kam er zu dem Schluss, dass die eukaryotischen Replikationsproteine durch Genverdrängung entstanden sind. Diese Replikationsproteine stammen größtenteils nicht aus prokaryotischen Zellen, aber Viren scheinen eindeutig dazu beigetragen zu haben. Daher gibt es eine umfangreiche Literatur, die das Konzept unterstützt, dass Viren zur Entstehung grundlegender Eukaryoten-spezifischer Funktionen beigetragen haben.

Möglicher viraler Ursprung anderer Kernfunktionen

Was ist mit den anderen Aspekten des eukaryotischen Nukleus? Lassen sich Viren identifizieren, die möglicherweise zu den zusätzlichen hochkomplexen Funktionen beigetragen haben? Können Viren dazu beitragen, die vielen zuvor erwähnten Dilemmas aufzulösen, um den Ursprung der komplexen Kernfunktionen auszumachen? In der Tat gibt es starke Argumente dafür, dass all diese Dilemmas potenzielle Viren-basierte Lösungen darstellen. Zum Beispiel ist die Trennung der Transkription von der Replikation durch mehrere Membranen ein Merkmal, das in Pockenviren, wie dem Vaccinia-Virus, sowie anderen DNA-Viren (ASFV, TTV1 von Thermophilen) zu finden ist. Außerdem haben die viralen Systeme dieselben einfachen Porenstrukturen, die die RNA aktiv aus dem Membran-gebundenen Kern in das Zytoplasma des Wirts transportieren. In ähnlicher Weise ist die enge Assoziation des DNA-Genoms mit kleinen basischen Chromatinproteinen und linearen Chromosomen mit sich wiederholenden Telomerenden charakteristisch für verschiedene zytoplasmatische DNA-Viren sowie TTV1 und Phycodnaviren. Darüber hinaus ist bekannt, dass eine virale Version der DNA-abhängigen RNA-Polymerase (von ASFV) phylogenetisch basal zu allen drei Versionen der DNA-abhängigen RNA-Polymerase ist, die spezifisch in Eukaryoten gefunden wird, aber in allen Prokaryoten fehlt. Wie oben erwähnt, können die Enzyme, die mRNA auf Eukaryoten-spezifische Weise modifizieren (5'-Capping, Spleißen und 3'-Polyadenylierung), alle in verschiedenen Arten von DNA-Viren gefunden werden, und diese viralen Versionen sind

im Allgemeinen einfacher als die in den Eukaryoten gefundenen, womit davon auszugehen ist, dass sie tatsächlich die basalen Enzyme sind. Selbst die komplexe Rolle von Tubulin im Prozess der Trennung eukaryotischer Tochter-Chromosomen und der Auflösung und Neubildung der Kernmembran hat ein virales Analogon, da zytoplasmatische DNA-Viren alle diese gleichen Funktionen ausführen. Wir postulieren deshalb, dass fast alle Merkmale eines eukaryotischen Kerns aus einem stabilen, anhaltenden, membrangebundenen großen DNA-Virus mit linearen Chromosomen und Virus-spezifischen Replikations- und Transkriptionsproteinen stammen könnten. Dieses proto-nukleare Virus muss einen prokaryotischen Wirt, dem Zellwände fehlten, persistierend besiedelt haben. Somit gibt es gemäß diesem Szenario weder einen zellulären Vorfahren des eukaryotischen Kerns noch eine prokaryotische Quelle für viele der essentiellen eukaryotischen Proteine, da sie aus viralen Quellen stammen. Dieser Vorschlag eines viralen Ursprungs würde es uns auch ermöglichen, ein weiteres großes Problem in der Evolutionsbiologie zu lösen: Das Problem des letzten universellen gemeinsamen Vorfahren (LUCA), das allen drei existierenden Domänen des zellulären Lebens gemeinsam sein sollte. Derzeit gibt es keine zelluläre Lebensform, die die genetischen Eigenschaften bewahrt hat, die allen drei Lebensbereichen gemeinsam sind: Bakterien, Archaea und Eukaryoten. Dieses Problem wird jedoch gelöst, wenn wir davon ausgehen, dass es nie eine solche Ahnenzelle gegeben hat, sondern dass die gemeinsame Verbindung von viralen Quellen stammt. Somit gibt es und gab es auch keine LUCA.

Daher können wir uns nun der Hauptfrage dieses Essays zuwenden. Wenn Viren zur Evolution der komplexesten Molekularstrukturen in Zellen beitragen können, könnten sie dann auch zu anderen Arten von komplexen Merkmalen beigetragen haben, wie sie beispielsweise bei Säugetieren oder spezifisch bei Menschen zu finden sind?

Das Konzept, dass Viren, wie hier vorgeschlagen, eine fundamentale Rolle bei der Entwicklung der Komplexität des Zelllebens spielen könnten, mag vielen, insbesondere Evolutionsbiologen, neu erscheinen. Doch auch diese Idee ist nicht ganz neu. Die moderne Definition eines Virus als molekulargenetischer Parasit wurde erstmals von S. E. Luria in einem 1950 in Science veröffentlichten Aufsatz klar vorgebracht. Später in diesem Jahrzehnt schrieb er in seinem Buch „*Virus Growth and Variation*“, als er die Rolle erörterte, die Viren bei der zellulären Evolution spielen könnten: „... dürfen wir hierbei nicht davon ausgehen, dass wir im Virus, in seiner Verschmelzung mit dem zellulären Genom und seinem Wiederauftauchen aus ihm, die Einheiten und Prozesse beobachten, die im Laufe der Evolution die erfolgreichen genetischen Muster geschaffen haben, die allen lebenden Zellen zugrunde liegen?“

Diese Ansicht fand jedoch keine Anhänger und wurde von den meisten Evolutionsbiologen völlig übersehen oder vergessen. Zu oft sahen wir nur die zerstörerische Natur von Viren und betrachteten sie als toxische Einheiten, die nichts zum Netz des Lebens beitragen. Selten nahmen wir irgendeine konstruktive Rolle der Viren wahr. Erst seit der Fähigkeit, ganze Genome zu sequenzieren, und erst nachdem wir verstanden haben, wie die Persistenz genetischer Parasiten die Wirtsevolution vorantreibt, können wir uns endlich zu der Ansicht durchringen, dass Viren tatsächlich der Ursprung vieler der komplexen Muster sind, die wir in ihren Wirten sehen.

Mit dieser virozentrischen Sichtweise können wir neu untersuchen, wie sich höhere Lebensformen aus der Perspektive der Aufnahme genetischer Parasiten entwickelt und differenziert haben. Mit dieser Sichtweise können wir nun auch versuchen zu verstehen, wie sich die Menschheit von ihrem nächsten Verwandten, dem Schimpansen, entfernt hat.

Wenn wir unsere neue Untersuchung auf die Evolution der Säugetiere beschränken, sehen wir tatsächlich viele artspezifische Muster der Aufnahme genetischer Parasiten. Die ersten Säugetiere lebten vor sehr langer Zeit, etwa vor 210 Millionen Jahren. Diese

frühen Säugetiere (wie die Multituberculata) waren kleine, pelzige, eierlegende, Kloakentier-ähnliche Insektenfresser. Sie existierten bereits vor dem Aufkommen der Dinosaurier, starben aber vor etwa 35 Millionen Jahren aus. Wir wissen nichts über ihre Genome, aber zwei andere Säugetierlinien haben sich aus ihnen entwickelt, die Beuteltiere und die höheren Plazenta-Tiere. Von diesen sind die Plazenta-Säugetiere viel erfolgreicher und strahlen auf etwa 2.000 Gattungen aus, im Vergleich zu etwa 140 Beuteltier-Gattungen. So sind die Entstehung des Trophoblasten, der Plazenta und die Lebendgeburt alle mit dem Erfolg der Plazenta-Säugetiere verbunden. Bei diesen Plazenta-Säugetieren sehen wir tatsächlich klare und zwingende Muster des Erwerbs genetischer parasitärer Elemente, hauptsächlich im Zusammenhang mit LINEs, SINEs und ERVs.

Säugetiere haben ihre eigene Eigenschaft erworben: Endogene Retroviren und Retroposons

Wie wir bereits gesagt haben, waren alle diese Elemente (die mit dem MLV-Retrovirus – Murines Leukämie-Virus – verwandt sind) in den Genomen früherer Wirbeltiere vorhanden. Allerdings sehen wir erst mit der Evolution der Plazenta-Säugetiere eine großflächige und abstammungsspezifische Erweiterung dieser Elemente. Darüber hinaus hat jede Plazenta-Linie ihre eigene besondere Version dieser Elemente, die sich von denen unterscheidet, die in anderen Plazenta-Spezies gefunden werden. Zum Beispiel haben Mäuse IAPs ERV-Elemente. Ratten und Hamster sind eindeutig mit Mäusen verwandt, haben aber ihre eigene spezifische Version von IAP-Elementen. Huftiere haben JSAV-Sequenzen in ihren Genomen. Katzen haben RDI14 und Schweine PERV-Elemente. Alle Affen haben HERV10-Elemente, aber nur Menschen haben spezifische Versionen von HERV10. Aus Gründen, die wir bisher nicht nennen konnten, hat jede Säugetierlinie ihre eigene artspezifische Version dieser ERVs, die nicht mit anderen Arten geteilt wird. Wir können nun fragen, warum es eine Verbindung zwischen dem Aufkommen einer bestimmten Säugetierlinie und der Kolonisierung dieser Linie mit bestimmten Versionen von ERVs gibt. Es scheint, dass am Ursprung jeder Plazenta-Linie eine hochgradige Kolonisierung durch genetische Parasiten stattfand, und dass die resultierende Linie diese meist inaktiven parasitären ERV-Genome persistierend aufrechterhält.

Das Plazentalinien-spezifische Muster der parasitären Besiedlung ist sogar noch umfangreicher, als es aus einer einfachen Untersuchung von Elementen ersichtlich wäre, die eindeutig mit endogenen Retroviren (ERVs) verwandt sind. Dies liegt daran, dass diese Genome alle viel mehr Elemente enthalten, die als LINEs, SINEs und Retro-Transkripte wie das menschliche Alu-Element bekannt sind. Zum Beispiel ist LINE-1 im menschlichen Genom in etwa 10.000 Kopien vorhanden. SINE (R) ist mit etwa 100.000 Kopien pro Zelle sogar noch häufiger vorhanden, während Alu-Elemente (von einem Steroidrezeptor abgeleitet) mit fast 1.000.000 Kopien vorhanden sind. Dennoch ist LINE-1 eindeutig von der *pol*-Sequenz von HERV-K abgeleitet, wohingegen SINE (R) von der *LTR*- und *env*-Sequenz von HERV-K abgeleitet ist. Somit zeigen alle diese sehr zahlreichen Elemente eine gewisse Beziehung zu der für Menschen spezifischen HERV-K-Familie. Ein verwandtes Muster genetischer Ähnlichkeit mit ERVs trifft auf die LINEs und SINEs zu, die in anderen Plazenta-Linien gefunden werden (z. B. Maus-Linie und IAPs). Warum sind die Plazenta-Genome so stark von intakten und derivierten Elementen von besonderen ERVs besiedelt? Welche Beziehung besteht zwischen dieser Kolonisierung und der Entwicklung der Plazenta-Lebensformen?

Eine Möglichkeit, sich der Frage nach der möglichen ERV-Rolle bei Säugetieren zu nähern, besteht darin, festzustellen, ob diese parasitären Elemente jemals in irgendeiner spezifischen Weise im plazentaren Wirt exprimiert (transkribiert oder translatiert) werden. Die Bewertung der spezifischen Ausprägung von ERVs gerät jedoch in ein Problem der Nomenklatur. Aus historischen Gründen haben die in einem bestimmten Wirtsgenom vorhandenen ERVs oft eine Reihe von Namen angenommen, von denen viele verwirrend sind. Diese frühen Namen basierten auf Kriterien wie der Morphologie des Viruspartikels, den Gewebetropismen und der Sequenzähnlichkeit verschiedener Gene (*pol*, *env*, *LTR*). In einigen Fällen war jedoch klar, dass einige ERVs Mosaik-elemente zu sein schienen, wenn sie nach diesen Kriterien beurteilt wurden. Dies veranlasste die Forscher, sich auf die intakten ERV-Elemente zu konzentrieren, die in bestimmten Genomen zu finden sind, und die tRNA-Primersequenz zu verwenden, die von diesen Elementen verwendet wird, um die reverse Transkriptase zu primen. Daher der Name HERV-K (K-Lysin-tRNA) für das gemeinsame humanspezifische Element. Mit dieser Nomenklatur könnte ein ganzes Alphabet (E, F, H, I, K, L, R, W) von HERVs unterschieden und hinsichtlich der Expression bewertet werden. Es wird viele überraschen zu erfahren, dass die meisten dieser HERVs tatsächlich als Transkripte und einige auch als Proteine und manchmal als Virionpartikel in bestimmten Geweben exprimiert werden, obwohl sie selten, wenn überhaupt, infektiöse Viren erzeugen.

Seltsamerweise ist reproduktives Gewebe bei weitem der häufigste Ort der ERV-Expression. Von besonderem Interesse für diese Diskussion ist, dass die Trophoblasten der Plazenta besonders anfällig für ERV-Expression waren. Angesichts der Bedeutung der Erfindung der Plazenta für die Artbildung von Säugetieren war diese Beobachtung besonders faszinierend. Ebenfalls von Interesse war die Beobachtung, dass viele dieser Elemente auf dem Y-Chromosom häufig wiederholt werden. Tatsächlich hätte diese Beobachtung der plazentaren HERV-Expression keine große Überraschung sein sollen. Vor vielen Jahren (1970er Jahre) hatten *J. Levy* und seine Kollegen berichtet, dass die normale menschliche Plazenta große Mengen an Partikeln produziert, die eindeutig einem Retrovirus ähneln. Diese Partikel besitzen Reverse-Transkriptase-Aktivität, die für ein Retrovirus charakteristisch ist, aber es konnte nicht gezeigt werden, dass sie infektiös waren. Antikörper gegen sie wurden jedoch manchmal während der Schwangerschaft beobachtet.

Vor einigen Jahren interessierte sich mein eigenes Labor für die Bewertung der Rolle, die die plazentar exprimierten ERVs in der Plazentabiologie spielen könnten. Ich und andere hatten vorgeschlagen, dass diese ERVs entscheidend für die normale Biologie der Plazenta lebend gebärender Säugetiere sein könnten. Das Trophektoderm umgibt das Ei und vermittelt Ei-Implantation, Nahrungsaufnahme und Immunevasion bei der Mutter. In gewisser Weise ähnelt ein Plazenta-Ei einem Parasiten, der in das mütterliche Wirtsgewebe eindringen, die Physiologie der Mutter manipulieren muss, um sich selbst zu ernähren und der Erkennung durch das Immunsystem der Mutter zu entgehen. Keines dieser Merkmale war bei Kloaken-Säugetieren oder Beuteltieren vorhanden. Sie alle schienen in einem komplexen evolutionären Ereignis erworben worden zu sein. Es schien uns wahrscheinlich, dass ERVs irgendwie an diesen komplexen Plazenta-Merkmalen beteiligt waren. Dies stellte jedoch ein entmutigendes experimentelles Problem dar. Angesichts der großen Anzahl und Komplexität der genomischen ERVs gab es keine experimentellen Systeme, von denen bekannt war, dass sie die genomweite Expression eines bestimmten ERV-Satzes beeinflussen. Darüber hinaus ist das Trophektoderm in einem lebenden Embryo ein sehr schwer zu manipulierendes Gewebe, da es das allererste Gewebe ist, das sich vor der Implantation differenziert. Wir suchten daher nach einem Ersatzsystem auf Maus-Basis, das es uns ermöglichen würde, die ERV-Expression global zu beeinflussen und die Implantation zu untersuchen. Es gibt Maus-Zelllinien, die sich eindeutig in Trophektoderm differenzieren können. Unter Verwendung solcher Zellen

kann man in Kultur „embryoide Körper“ herstellen, die präimplantierten Embryonen sehr ähneln. Wir versuchten, die Expression eines *env*-enthaltenden Maus-ERV zu inaktivieren, und bewerteten dann seine Wirkung auf die Fähigkeit der embryoiden Körper zur Implantation. Unter Verwendung des Gens eines anderen Virus (SV40 T-Ag) konnten wir die Maus-ERV-Expression in differenziertem Trophektoderm global unterdrücken und zeigen, dass dies tatsächlich eine Implantation verhinderte. Dieses Experiment ist etwas kompliziert, um in seiner Bedeutung vollständig klar zu sein, aber die Ergebnisse unterstützten die Idee, dass die ERV-Expression für die normale Funktion des Trophektoderms wichtig ist.

HERVs bieten eine normale Genfunktion für die Plazenta

Seit unserer Studie haben jedoch verschiedene andere Untersuchungen die mögliche Funktion von ERVs in der Plazentabiologie weiter abgeklärt. Am überzeugendsten war die Identifizierung des HERV-W-*env*-Gens als das Molekül (Syncytin), das vom Wirt verwendet wird, um die trophoblastischen Zellen zu Synzytien zu verschmelzen, die ein Gewebe bilden, das zur Ernährung des Embryos verwendet wird. Somit wurde eindeutig nachgewiesen, dass zumindest einige dieser HERV-Sequenzen tatsächlich wichtig für die normale Plazentabiologie sind. Solche Beobachtungen verleihen der Theorie Gewicht, dass die ERV-Kolonisierung ein wichtiges und kreatives Ereignis bei der Entstehung und Entwicklung von Plazenta-Arten war.

HERVs und menschliche Eigenschaften

Können wir nun irgendeinen Teil der obigen Begründung anwenden, um die Evolution von menschenpezifischen Merkmalen zu betrachten? Dieses Problem kann über zwei Argumentationslinien betrachtet werden. Erstens können wir zunächst die Unterschiede betrachten, die während der Divergenz menschlicher Genome von Schimpansen-Genomen aufgetreten sind, um zu verstehen, wie diese Veränderungen mit menschlichen Eigenschaften zusammenhängen. Ein anderer Ansatz besteht darin, bekannte menschliche Eigenschaften wie den Spracherwerb zu berücksichtigen und dann zu versuchen, die zugrunde liegende genetische Grundlage für solche Eigenschaften zu verstehen. Wir beginnen damit, die erste dieser Argumentationslinien zu skizzieren. Obwohl sich, wie eingangs erwähnt, menschliche Gene (kodierende Regionen) kaum von denen unserer Primaten-Verwandten (98 % konserviert) unterscheiden, sind andere genetische Unterschiede viel ausgeprägter. Genom-Analysen haben ergeben, dass die afrikanischen Primaten-Genome häufigen Kolonisierungs-Runden durch abstammungsspezifische Arten von Retroviren unterzogen wurden. Diese ERVs haben Namen wie Fc1env, Fc2ma.1fer, Fc2d env und BabFcenv. Von diesen sind Fc2master und Fc2d env beides ERV-Erwerbungen, welche die Menschenaffen von den anderen afrikanischen Primaten unterscheiden. Wie wir bereits gesagt haben, ist das Y-Chromosom das genetische Merkmal, das Menschen am meisten von Schimpansen unterscheidet. Aktuelle Schätzungen gehen davon aus, dass die afrikanischen Primaten vor etwa 30 Millionen Jahren eine erhebliche Kolonisierung von ERVs durchmachten, die diese Primaten derzeit von den Primaten der Neuen Welt unterscheiden. Diese ERV-Akquisitionen sind zusammen mit einigen ERV-Deletionen und LINE/SINE-basierten Elementen besonders deutlich in den entsprechenden Y-Chromosomen (und in geringerem Maße auch im X-Chromosom). Sequenzblöcke unterscheiden nun die

verschiedenen Primaten-Y-Chromosomen. Diese Sequenzblöcke stammen hauptsächlich von Retroposons, die am häufigsten mit HERV-K verwandt sind.

HERV-K und Afrika

Es ist bezeichnend, dass ein Unterscheidungsmerkmal aller afrikanischen Primaten (einschließlich Menschen) darin besteht, dass sie intakte Kopien von HERV-K konserviert haben, die auch für ein funktionelles dUTPase-Enzym kodieren (dUTP: 2'-Deoxyuridin, 5'-Triphosphat). Diese UTPase-Konservierung hat große Auswirkungen auf die Fähigkeit afrikanischer Primaten, eine Infektion mit der Lentivirus-Familie von Retroviren zu unterstützen. Lentiviren sind die wesentlich komplexere Familie von Retroviren, wie etwa HIV-1, die im Vergleich zu einfachen Retroviren mehrere zusätzliche Gene aufweisen. Das Lentivirus hat auch eine ausgeprägte Fähigkeit zur hochgradigen Replikation in infizierten Zellen, wie HIV-1 in menschlichen CTLs (zytotoxischen T-Lymphozyten) oder SIV (Simianes Immundefizienz-Virus) in afrikanischen Affen-CTLs, ein Merkmal, das bei anderen Retrovirusfamilien nicht zu beobachten ist.

Tatsächlich war es eine merkwürdige Beobachtung, dass sich die Lentiviren der afrikanischen Primaten von den Lentiviren aller anderen Tierarten dadurch unterscheiden, dass den Primaten-Lentiviren dUTPase-Gene fehlen, während die Lentiviren aller anderen Arten (Huftiere, Katzen) dUTPase-Gene enthalten. Es scheint, dass die Konservierung der genomischen HERV-K-dUTPase diese Funktion für die Primaten-Lentiviren bereitstellt. Die dUTPase scheint dUTP zu „entgiften“, das aufgrund der hohen UTP-Konzentrationen des Zytoplasmas normalerweise die RT-katalysierte zytoplasmatische Synthese des viralen cDNA-Genoms auf hohem Niveau vergiften würde. Daher ist die logische Verknüpfung die, dass die afrikanischen Primaten aufgrund der Konservierung von HERV-K-dUTPase zu einer hochgradigen Lentivirus-Replikation neigen. Diese Implikation scheint das Gegenteil von dem zu sein, was viele als das Beste für die Fitness und das Überleben dieser Primatenarten ansehen würden. Warum sollten afrikanische Primaten die Selektion auf HERV-K aufrechterhalten?

Es ist erwähnenswert, dass die basalen afrikanischen Primaten die zahlreichste Art afrikanischer Affen sind. Im Gegensatz zu den afrikanischen Menschenaffen können afrikanische Affenarten eine anhaltende hochgradige SIV-Infektion ohne Krankheit ertragen. Dieselben SIV-Infektionen können bei asiatischen Affen tödlich sein. Somit durchliefen die basalen afrikanischen Primaten ein kolonisierendes Ereignis, das es ihnen ermöglichte, dauerhaft das nicht-pathogene hochgradige Lentivirus (SIV) zu unterstützen. Ich gehe davon aus, dass diese erworbene Fähigkeit, die Persistenz des Lentivirus zu unterstützen, auch einen Umstand geschaffen hat, der die Evolution der afrikanischen Primaten in einen „schnellen Vorlauf“ versetzte, der ständig unter dem Druck entweder einer stabilen ERV-Kolonisierung oder einer virusinduzierten Krankheit getrieben wurde.

Das Ergebnis ist, dass Primaten wie Menschenaffen und Menschen, die nicht dauerhaft SIV-infiziert sind, durch diesen viralen Druck zu höheren Evolutionsraten getrieben werden. HIV-1 wäre das jüngste Beispiel für einen solchen Druck, und HIV-2, ebenfalls auf Afrika beschränkt und mehr mit SIV verwandt, wäre ein weiteres Beispiel.

Diese Ansicht bezüglich der Rolle von HERVs in der Evolution von Menschen und Primaten stimmt mit der kürzlich abgeschlossenen Sequenzierung des menschlichen Y-Chromosoms überein. Die Hauptunterschiede zwischen dem Y-Chromosom von Mensch und Schimpanse wurden nun beschrieben. Von der frühen Evolution der Plazenta-Tiere, die keine Affen sind, über die Divergenz der Neuwelt-Affen bis hin zur Entwicklung afrikanischer Affen und der Entstehung afrikanischer Menschenaffen – all diese

Übergänge können als unterschiedliche ERV-Kolonisierungsereignisse auf dem Y-Chromosom angesehen werden. Auch die großen Sequenzblöcke, die Menschen- und Primatenarten unterscheiden, wurden identifiziert. Seltsamerweise sind die Y-Chromosomen von Beuteltieren und Kloakentieren jedoch winzig geblieben (10.000 bp) und zeigen nicht dieselben ERV-Kolonisationsereignisse, was darauf hindeutet, dass dieser Kolonisationsprozess mit Plazenta-Arten in Verbindung gebracht wurde. Eine Überraschung war, wie wenige codierende Sequenzen im menschlichen Y-Chromosom gefunden wurden (möglicherweise nur 20 Gene). Außerdem waren die meisten dieser Sequenzunterschiede Retroposon-bezogen, einschließlich kodierender Sequenzen. Von vielen dieser mit HERV-K/SINE R verwandten Sequenzen ist auch bekannt, dass sie in reproduktivem Gewebe exprimiert werden. Somit kennzeichnet uns der Erwerb einer solchen parasitären DNA als Mensch. In der Vergangenheit betrachteten Evolutionsbiologen das Vorhandensein solcher Sequenzen einfach als Folge der Anhäufung von „egoistischer“ oder „Junk“-DNA, die keine phänotypischen Auswirkungen auf den Wirt hatte. Wie ich oben argumentiert habe, können wir jedoch wichtige Konsequenzen in Bezug auf die Wirt-Virus-Beziehung und damit das Überleben des Wirts erwarten. Aber die einfache Tatsache, dass wir diese Kolonisationsereignisse durch genetische Parasiten identifizieren können, hilft uns offensichtlich nicht zu verstehen, wie sie zu menschlichen Eigenschaften beitragen könnten.

Was sind diese menschlichen Merkmale, und können wir Hinweise auf virale Fußabdrücke in den genetischen Aufzeichnungen sehen, die sich auf ihre Akquisition beziehen? Bevor wir diese Diskussion beginnen, sollten wir akzeptieren, dass derzeit tatsächlich keine endgültigen experimentellen Beweise zu diesem Thema vorliegen. Wir müssen einige zufällige Beobachtungen sowie einige Studien berücksichtigen, die bestenfalls indirekt sind. Dennoch bleiben einige sehr faszinierende Informationen übrig, die relevant zu sein scheinen. Kognition, insbesondere die Fähigkeit zu abstraktem Denken und die Entwicklung der Fähigkeit, rekursive menschliche Sprache zu lernen, wird als eine einzigartige menschliche Eigenschaft angesehen. Ein weiteres scheinbar einzigartiges menschliches Merkmal ist die Fähigkeit zum assoziativen Lernen, das der Bildung menschlicher Bindungen und einem Großteil des menschlichen Verhaltens zugrunde liegt, sich aber auch auf anderes Lernen beziehen kann. In Bezug auf die menschliche Sprache sind viele Neurowissenschaftler der Ansicht, dass die Lateralisierung des Gehirns ein entscheidender Aspekt der menschlichen Sprachfähigkeit ist.

Um sich der möglichen genetischen Grundlage einer solch komplexen menschlichen Fähigkeit zu nähern, ist es oft hilfreich, Krankheitszustände desselben Prozesses zu betrachten. In dieser Hinsicht scheinen Menschen auch einzigartig anfällig für Schizophrenie zu sein, eine Krankheit, die viele Neurowissenschaftler mit einer veränderten Lateralisierung des Gehirns in Verbindung bringen. Schizophrenie ist eine Krankheit, die in allen menschlichen Populationen mit geringen Raten auftritt und auch mit Abstraktion in Verbindung gebracht wurde. Überraschend für viele gibt es seit einigen Jahren eine Forschungslinie, die die mögliche Rolle endogener Viren bei der Schizophrenie verfolgt. Diese Studien gehen auf zwei anfängliche Beobachtungen zurück. Eine Gruppe beobachtet die oben beschriebenen genetischen Merkmale. Das heißt, indem man berücksichtigt, welche genetischen Veränderungen den Schimpansen vom Menschen unterscheiden, können genetische Kandidatenelemente identifiziert werden. Eine andere Forschungsrichtung zielt darauf ab, die Moleküle erkrankter Gehirnregionen mit molekularen Ansätzen direkt zu untersuchen. Unter Verwendung eines als Differential Display bekannten Prozesses haben mehrere Forschungsgruppen versucht, RNA zu isolieren, die spezifisch in „schizophrenen“ Regionen des Gehirns exprimiert wird. Diese Gruppen haben über die Isolierung einer cDNA berichtet, die der SINE R-Familie von

Retroposons sehr ähnlich ist. Andere haben über die Isolierung und Charakterisierung der mit HERV-W verwandten Sequenz (einschließlich einer *env*-Sequenz) berichtet, die in diesen betroffenen Hirnregionen exprimiert wurde. Da es sich jedoch um endogene Sequenzen handelt, können diese Beobachtungen zum jetzigen Zeitpunkt nur als zufällig angesehen werden, da nicht geklärt werden kann, ob die Expression solcher HERVs eine Folge der Schizophrenie ist oder ob sie ursächlich für die Schizophrenie ist. Es ist auch nicht klar, wie die Expression solcher Elemente die grundlegende Gehirnfunktion beeinflussen könnte. Es ist jedoch höchst faszinierend, dass diese Elemente auch kürzlich erworbene HERV-Elemente darstellen, die Menschen von Schimpansen unterscheiden. Somit bleibt die überraschende Möglichkeit offen, dass HERV an der Entwicklung der menschlichen Kognition und Sprache beteiligt sein könnte.

Die andere menschliche Eigenschaft, die wir berücksichtigen wollten, war der Erwerb assoziativen Lernens, insbesondere im Zusammenhang mit menschlicher sozialer Bindung. Es wird angenommen, dass ein solches assoziatives Lernen und Verbinden der familiären, sozialen und kulturellen Struktur aller menschlichen Gesellschaften zugrunde liegt. Wie könnten wir die mögliche Rolle viraler Agenten in einem solchen Prozess bewerten? Oberflächlich betrachtet erscheint eine solche Frage fast absurd. Ein Virus, das am assoziativen Lernen beteiligt ist? Derzeit gibt es keine Möglichkeit, dieses Problem durch menschliche Experimente anzugehen. Wir haben im Wesentlichen keine Daten aus Humanstudien, die relevant erscheinen würden. Es gibt jedoch einige Tiermodelle, die nützlich erscheinen, wenn auch indirekt. Von diesen ist die Prärie-Maus von besonderem Interesse. Im Gegensatz zu ihren nahen Verwandten wie der Bergmaus gehen Prärie-Wühlmäuse nach der Paarung mit ihren Partnern lebenslange monogame Paarbindungen ein, bei denen assoziatives Lernen stattgefunden hat. Sie lernen auch, ihren Nachwuchs lebenslang gemeinsam zu betreuen. Prärie- und Bergwühlmäuse sind genetisch sehr ähnlich (99 % in der kodierenden Region) und unterscheiden sich hauptsächlich in den Y-Chromosomen. Somit stellen sie ein nützliches Modell bereit, um die genetische Grundlage des assoziativen Lernens zu bewerten. Bildgebende Untersuchungen des Gehirns dieser Wühlmäuse legten nahe, dass die Dichte des Vasopressinrezeptors im ventralen Pallidum direkt an diesem Lernprozess beteiligt sein könnte. Interessanterweise wurde ein künstliches rekombinantes Virus hergestellt, das diesen Rezeptor exprimiert und in das Gehirn männlicher Mäuse injiziert. Solche injizierten infizierten Mäuse bauten, wenn sie in die Gegenwart von Weibchen gebracht wurden, eine Paarbindung ohne die übliche Notwendigkeit einer Paarung auf. So konnte ein synthetisches Virus bei diesen Wühlmäusen assoziatives Lernen induzieren.

Nun, die Tatsache, dass ein synthetischer Virus so etwas kann, ist kein Beweis dafür, dass er sich tatsächlich so entwickelt hat. Aus dem Kontext eines persistenten Virus ist ein solcher Phänotyp jedoch logisch und könnte erwartet werden. Denn die Persistenz wird oft durch sexuelle Aktivität übertragen und muss auch bei den Nachkommen des infizierten Wirts unterstützt werden. Daher ist die Übertragung von der Mutter auf die Nachkommen bei vielen persistierenden Viren üblich. Eine solche Virus-Wirt-Situation könnte erfordern, dass das persistierende Virus in der Lage ist, das Sexual- und Erziehungsverhalten des infizierten Wirts zu manipulieren, um das Überleben des Virus zu maximieren. Wie unten beschrieben wird, wurde bereits festgestellt, dass einige Viren tatsächlich zu solch einer komplexen Verhaltensmodifikation des Wirts fähig sind. Es gibt jedoch noch einen weiteren Aspekt bei persistierenden Infektionen, der relevant sein kann. Wie zuvor beschrieben, erreichen viele persistierende Viren Stabilität, indem sie Suchtmodule verwenden, die den Wirt dazu zwingen, den Parasiten beizubehalten. Interessant ist, dass genau die gleichen Regionen des Wühlmausgehirns, die für dieses assoziative Lernen verantwortlich sind, auch an der Drogensucht beteiligt sind. Die

Expression hoher Konzentrationen dieses Rezeptors scheint sowohl einen angenehmen als auch einen schmerzhaften (d. h. Angst) Lernzustand zu erzeugen. Eine solche Zwei-Komponenten-Situation ähnelt eindeutig einem Suchtmodul. Einige haben jedoch die Relevanz dieses Wühlmausmodells für das menschliche Verhalten in Frage gestellt. Sicherlich, so wird argumentiert, können menschliche Liebe und Bindung nicht so einfach sein wie bei diesen Nagetieren. Jüngste Ergebnisse der Genomsequenzierung deuten jedoch darauf hin, dass wir uns auf der Ebene der Genkomplexität nicht allzu sehr von unseren Säugetier-Verwandten, einschließlich Nagetieren, unterscheiden. Darüber hinaus haben kürzlich durchgeführte PET-basierte Bildgebungsstudien des Gehirns von College-Paaren in einem neu erworbenen Zustand romantischer Liebe ergeben, dass die Regionen des Nucleus caudatus des Gehirns betroffen sind und dass diese Regionen auch am Belohnungssystem beteiligt sind. Diese menschlichen Ergebnisse stehen nicht im Widerspruch zu den Wühlmausstudien.

Einige könnten auch die Idee in Frage stellen, dass ein Virus das komplexe Sexualverhalten seines Wirts manipulieren kann, wie oben vorgeschlagen. Es wird sie wahrscheinlich überraschen zu wissen, dass es tatsächlich mehrere gute Beispiele für genau solche Manipulationen gibt. Das überzeugendste Beispiel findet sich in den Polydnaviren parasitoide Wespen. Diese Viren sind körpereigene DNA-Viren verschiedener Wespenarten, die von der Wespe produziert und zusammen mit dem Wespenei in parasitierte Wirtslarven injiziert werden. Diese Viren verändern die Physiologie und das Verhalten der Larven auf verschiedene Weise, einschließlich der Expression von Rezeptormolekülen in Nervengewebe und der Expression von Entwicklungshormonen, die die Entwicklung und das Verhalten des Wirts, also der Larve, stark beeinflussen. Kürzlich wurde ein weiteres Virus in parasitoiden Wespen identifiziert, das das Sexualverhalten infizierter Wespen direkt beeinflusst. Normalerweise legt die parasitoide Wespe in dieser Studie kein Ei in eine Wirtslarve, die bereits von einem anderen parasitoiden Wespenei parasitiert wurde. Bei einer Infektion mit diesem neu identifizierten Virus ändert sich das Verhalten der Wespe jedoch so, dass sie nun Eier in den bereits parasitierten Wirt legt, wodurch sichergestellt wird, dass zusätzliche Wespeneier vorhanden sind, damit eine Virusübertragung stattfinden kann. Es ist daher klar, dass persistente Viren tatsächlich das Verhalten des Wirts auf komplexe Weise manipulieren können. Es bleibt jedoch die Frage zu beantworten, ob dieser Prozess möglicherweise auch am Erwerb komplexer menschlicher Eigenschaften beteiligt war, die das Verhalten beeinflussen.

Wir können jetzt keinen zwingenden Beweis dafür liefern, dass die endogenen Viren, welche die menschliche DNA besiedeln, direkt zur Evolution menschlicher Eigenschaften beigetragen haben. Die Quelle unserer menschlichen Komplexität muss noch identifiziert werden. Es wird die Arbeit zukünftiger Generationen von Wissenschaftlern sein. Es kann jedoch ein viel stärkeres Argument in Bezug auf die Quelle anderer komplexer Phänotypen angeführt werden, die zur Evolution der Komplexität in anderen lebenden Abstammungslinien geführt haben. Dazu gehören der eukaryotische Zellkern, Blütenpflanzen, das adaptive Immunsystem und vivipare Säugetiere. Alle diese Beispiele stellen Dilemmata der Wirtskomplexität dar, die in einer scheinbar punktuellen Evolution erworben wurden und sich einfachen Antworten auf der Grundlage der darwinistischen Auswahl von Punktänderungen widersetzen. Die Argumente und relevanten Beobachtungen, die eine virale Rolle bei der Entstehung einer solchen genetischen Komplexität unterstützen, sind zu zahlreich und detailliert, um sie hier zusammenzufassen. Sie wurden jedoch in meinem Buch (*Luis P. Villarreal: Viruses and the Evolution of Life. ASM Press*) gesammelt, das demnächst veröffentlicht wird. An dieser Stelle ist jedoch darauf hinzuweisen, dass die stabile Besiedelung von Zellen durch

persistierende Viren eine Erklärung für die Quelle komplexer genetischer Kreativität bietet, die punktuell erworben werden kann. Wirtsevolution und Artendiversifizierung können tatsächlich von einer solchen viralen Parasitierung abhängen. Somit können wir beginnen, breite ordnungsbasierte Muster von Virus-Wirt-Beziehungen zu erklären. Dass derselbe Prozess viraler genetischer Kreativität auch für den Erwerb menschlicher Attribute gelten könnte, erscheint dann nicht so weit hergeholt.

Viren sind von Natur aus unsichtbar und werden normalerweise nur als Folge von Krankheiten beobachtet, die sie verursachen können. Dennoch sind solche Krankheitszustände nicht die häufigste Art viraler Existenz. Häufiger sind unauffällige persistierende Infektionen. Es ist unsere Unfähigkeit, Viren wahrzunehmen, insbesondere das stille Virus, die unser Verständnis der Rolle, die sie im gesamten Leben spielen, eingeschränkt hat. Erst jetzt, im Zeitalter der Genomik, können wir ihre allgegenwärtigen Spuren in den Genomen allen Lebens deutlicher erkennen. Wir müssen unser Bewusstsein in Bezug auf das enorme kreative Potenzial der Viren erweitern: Es ist riesig, fast unvorstellbar. Viren müssen nun als die Vorderkante oder die Entstehungspunkte im Wachstum des Baumes des Lebens betrachtet werden. Wie kürzlich von *Frank Ryan (Virolution)* definiert, sind Viren von Natur aus symbiotisch. Sie fügen ihrem Wirt eine neue genetische Identität hinzu und versuchen somit endlos, weitere Komplexität hinzuzufügen und diejenigen Wirte zu töten, die es nicht schaffen, die Konkurrenz mit anderen genetischen Parasiten zu verhindern.

Persistenz ermöglicht es dem enormen viralen kreativen Potenzial, zur Entstehung neuer Wirte beizutragen. Betrachten wir die Ozeane, diesen riesigen Kessel, aus dem sich alles Leben entwickelt hat. Nur wenige von uns sind sich bewusst, dass die Ozeane auch ein riesiger und uralter viraler Kessel sind. Tatsächlich deuten neuere Schätzungen darauf hin, dass die kombinierten Ozeane etwa 10^{31} Viruspartikel enthalten, die hauptsächlich aus großen ikosaedrischen dsDNA-Viren (sowohl lytisch als auch persistent) von Prokaryoten wie Cyanobakterien bestehen, aber auch Viren von Algen enthalten. Um ein physikalisches Gefühl für diese Mengenskala zu bekommen, können wir diese Zahl physikalisch ausdrücken. Wir wissen zum Beispiel, dass der durchschnittliche Durchmesser dieser Viruspartikel etwa 100 nm beträgt. Würde man diese Virusmenge nebeneinander legen, würde sie 10^{24} Meter überspannen. Das entspricht dem geschätzten Durchmesser des bekannten Universums. Darüber hinaus wurde gemessen, dass sich der größte Teil dieser Virusmasse jeden Tag umsetzt (hauptsächlich durch UV-Strahlung). So werden in den Ozeanen jeden Tag Virengenome in astronomischem Ausmaß regeneriert. Dieser Umsatz dürfte sich seit der ersten Besiedlung der Ozeane durch Prokaryoten (seit ungefähr 3 Milliarden Jahren) fortgesetzt haben. Darüber hinaus wissen wir, dass beträchtliche Mengen an viraler genetischer Information Wirtszellen stabil als Prophagen besiedeln, so dass es einen gut etablierten Weg vom Virus in das zelluläre Leben gibt. Wir können dieser Berechnung die große Anzahl von Viren in terrestrischen Lebensräumen (Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere) hinzufügen, um ein globales Gefühl für das Ausmaß viraler Kreativität zu bekommen. Dieser viral vermittelte Evolutionsprozess ist endlos und setzt sich vor unseren Augen fort. Leider haben wir Schwierigkeiten das zu erkennen.

Seit Darwin seine Konzepte der gemeinsamen Abstammung und des Überlebens des Stärksten durch genetische Variation eingeführt hat, haben sich einige gefragt, warum wir im Allgemeinen nicht sehen, dass irgendein Lebewesen Komplexität erlangt. Warum haben wir die Entwicklung neuer Superspezies nicht miterlebt, wie andere Affen, die plötzlich sprechen oder andere menschliche Eigenschaften erwerben können? Tatsächlich beobachten wir die Evolution erst seit sehr kurzer Zeit. Dennoch können wir miterleben,

was aktuelle Viren wie HIV-1 der menschlichen Bevölkerung antun können und könnten. Ohne unsere gegenwärtige Kultur (ein Produkt des assoziativen Lernens) können wir projizieren, was HIV-1 einer menschlichen Bevölkerung antun würde, wie es derzeit in einer unerbittlichen Pandemie in Afrika geschieht. Die Projektionen sind einfach. Ohne soziale oder technologische Eingriffe würden im Wesentlichen alle Afrikaner mit HIV-1 infiziert. AIDS würde die gesamte Bevölkerung erfassen und die meisten würden an Krankheiten erliegen. Wir können jedoch auch davon ausgehen, dass mindestens ein paar Menschen überleben werden. Diese Überlebenden werden diejenigen sein, bei denen die Krankheit nicht fortschreitet und die dauerhaft mit HIV-1 infiziert sind. Tatsächlich wurden solche Personen bereits beobachtet. Diese Überlebenden würden somit übrig bleiben, um den Kontinent neu zu bevölkern. Die resultierende menschliche Population wäre jedoch unterschiedlich und hätte einige neue und komplexe Eigenschaften erworben. Diese überlebende Population würde sich nun in mehreren biologisch wichtigen Aspekten von der zuvor existierenden menschlichen Population unterscheiden. Zum einen wäre sie sexuell inkompatibel mit einer bereits bestehenden menschlichen Population, da sexuelle Beziehungen zwischen den beiden Populationen zu einer HIV-1-Infektion und AIDS in der nicht virus-persistenten Population führen würden. Dies würde tendenziell einen selektiven Rahmen für die Trennung der Kreuzung bieten. Ein weiteres wichtiges biologisches Ergebnis ist, dass die jetzt resistente HIV-1-infizierte afrikanische Bevölkerung einen neuen Satz komplexer Gene erworben hätte, die verschiedene Aspekte der zellulären Molekularbiologie und Immunologie regulieren. Dies wären die Gene des HIV-1-Lentivirus. Ein solcher Gegensatz wäre jetzt für die darwinistische Selektion verfügbar, um damit zu operieren und die potenziellen Funktionen, die sie bieten, anzuwenden, um eine fittere menschliche Population zu schaffen. Wenn dies das Ergebnis wäre, würden wir eine neue menschliche Spezies sehen, die durch ihre neu erworbenen endogenen Viren gekennzeichnet ist, ähnlich wie die Unterschiede, die wir zwischen menschlichen und Schimpansen-Genomen sehen. Viren könnten also der unsichtbare Schöpfer sein, der höchstwahrscheinlich dazu beigetragen hat, uns zu Menschen zu machen.

Referenzen

Bromham, L. 2002. The human zoo: Endogenous retroviruses in the human genome. *Trends in Ecology and Evolution* 17:91–97.

Griffiths, D. J. 2001. Endogenous retroviruses in the human genome sequence. *Genome Biology* 2(6):reviews1017.1–1017.5.

Katsanis, N., K. C. Worley, and J. R. Lupski. 2001. An evaluation of the draft human genome sequence. *Nat. Genet.* 29:88–91.

Olivier, M., A. Aggarwal, J. Allen, A. A. Almendras, E. S. Bajorek, E. M. Beasley, S. D. Brady, J. M. Bushard, V. I. Bustos, A. Chu, T. R. Chung, A. De Witte, M. E. Denys, R. Dominguez, N. Y. Fang, B. D. Foster, R. W. Freudenberg, D. Hadley, L. R. Hamilton, T. J. Jeffrey, L. Kelly, L. Lazzaroni, M. R. Levy, S. C. Lewis, X. Liu, F. J. Lopez, B. Louie, J. P. Marquis, R. A. Martinez, M. K. Matsuura, N. S. Misherghi, J. A. Norton, A. Olshen, S. M. Perkins, A. J. Perou, C. Piercy, M. Piercy, F. Qin, T. Reif, K. Sheppard, V. Shokoohi, G. A. Smick, W. L. Sun, E. A. Stewart, J. Fernando, Tejada, N. M. Tran, T. Trejo, N. T. Vo, S. C. Yan, D. L. Zierten, S. Zhao, R. Sachidanandam, B. J. Trask, R. M. Myers, and D. R. Cox. 2001. A high-resolution radiation hybrid map of the human genome draft sequence. *Science* 291:1298–302.

Ryan, F. 2002. *Darwin's blind spot: evolution beyond natural selection*. Boston: Houghton Mifflin Company.

Venter, J. C., M. D. Adams, E. W. Myers, P. W. Li, R. J. Mural, G. G. Sutton, H. O. Smith, M. Yandell, C. A. Evans, R. A. Holt, J. D. Gocayne, P. Amanatides, R. M. Ballew, D. H. Huson, J. R. Wortman, Q. Zhang, C. D. Kodira, X. H. Zheng, L. Chen, M. Skupski, G. Subramanian, P. D. Thomas, J. Zhang, G. L. Gabor Miklos, C. Nelson, S. Broder, A. G. Clark, J. Nadeau, V. A. McKusick, N. Zinder, A. J. Levine, R. J. Roberts, M. Simon, C. Slayman, M. Hunkapiller, R. Bolanos, A. Delcher, I. Dew, D. Fasulo, M. Flanigan, L. Florea, A. Halpern, S. Hannenhalli, S. Kravitz, S. Levy, C. Mobarry, K. Reinert, K. Remington, J. Abu-Threideh, E. Beasley, K. Biddick, V. Bonazzi, R. Brandon, M. Cargill, I. Chandramouliswaran, R. Charlab, K. Chaturvedi, Z. Deng, V. Di Francesco, P. Dunn, K. Eilbeck, C. Evangelista, A. E. Gabrielian, W. Gan, W. Ge, F. Gong, Z. Gu, P. Guan, T. J. Heiman, M. E. Higgins, R. R. Ji, Z. Ke, K. A. Ketchum, Z. Lai, Y. Lei, Z. Li, J. Li, Y. Liang, X. Lin, F. Lu, G. V. Merkulov, N. Milshina, H. M. Moore, A. K. Naik, V. A. Narayan, B. Neelam, D. Nusskern, D. B. Rusch, S. Salzberg, W. Shao, B. Shue, J. Sun, Z. Wang, A. Wang, X. Wang, J. Wang, M. Wei, R. Wides, C. Xiao, C. Yan, et al. 2001. The sequence of the human genome. *Science* 291:1304–51.