



Foto © Petra Homeier



Foto © UR/Editorial Office

Liebe Leserinnen, liebe Leser,

es ist uns eine große Freude, dass Sie gerade auch in diesen ungewöhnlichen Zeiten eine neue Ausgabe des *Blick in die Wissenschaft* in Ihren Händen halten können.

Die Corona-Pandemie stellt auch die Universität Regensburg und alle ihre Mitglieder vor große Herausforderungen, Belastungen und Planungsunwägbarkeiten. Im Mittelpunkt steht für uns seit Beginn der gegenwärtigen Krisensituation der unabdingbare Schutz der Gesundheit aller Universitätsangehörigen und unser Beitrag zur Eindämmung der Verbreitung des Coronavirus.

Die Universität Regensburg ging im März in einen bisher unbekanntem Zustand des minimalen Präsenzbetriebs und weitgehender Homeoffice-Regelungen. Die Präsenzlehre wurde eingestellt und das Sommersemester 2020 startete digital. Für nicht digital durchführbare Praxisveranstaltungen und Prüfungen wurden Regelungen zur Einhaltung der Hygiene- und Sicherheitsvorgaben erarbeitet. Wir können in diesem Sommersemester nicht – so wie wir es alle an unserer weltoffenen und lebendigen Universität gewohnt sind und lieben – mit mehr als

25 000 Menschen aus mehr als 100 Ländern gemeinsam hier vor Ort auf dem Campus zusammenkommen.

Auch die Forschungsaktivitäten an der Universität Regensburg werden von der anhaltenden Pandemie tangiert. Naturgemäß können nicht alle Forschungen unseres vielfältigen Fächerspektrums ins Homeoffice verlagert werden, und die Notwendigkeit zu räumlicher und sozialer Distanzierung beeinträchtigt den wissenschaftlichen Austausch in unterschiedlicher Art. Es ist bewundernswert, wie die Wissenschaftler*innen auch mit diesen enormen Herausforderungen umgehen.

Die große Nachfrage nach unseren qualitätsgesicherten Studiengängen sowie die national wie international hoch renommierten Forschungsaktivitäten unserer Wissenschaftler*innen demonstrieren den großen Erfolg aller Mitglieder in den unterschiedlichsten Bereichen und Tätigkeitsfeldern der Universität Regensburg, gemeinsam diese außergewöhnliche und in der Geschichte unserer Alma Mater einzigartige Situation zu meistern.

Den Studierenden und Lehrenden sowie allen weiteren Mitarbeiter*innen der Universität Regensburg in den unterschied-

lichsten Tätigkeitsbereichen gebührt großer Dank für ihr außerordentliches Engagement, ihre hohe Motivation und vor allem auch für ihre Innovationsbereitschaft und ihre Planungsoffenheit in diesen Wochen.

In vielem hat uns diese gegenwärtige Krisensituation auch ein Stück weit näher zusammenrücken lassen – viele gute und vertrauensvolle Gespräche wurden geführt – wir alle erfahren viel gegenseitiges Verständnis und viel gegenseitigen Respekt. Die vor uns liegenden Wochen und Monate können und sollten wir nicht als Zeit der Perfektionierung sehen – sondern als Raum zum Nachdenken über Neues und als Zeit zum Experimentieren mit Innovativem. Vor allen Dingen aber sollten wir diese Periode als eine besondere Zeit des gegenseitigen Zuhörens und des Miteinanders nutzen. In diesem Sinne freuen wir uns alle auf eine persönliche und gesunde Rückkehr auf den Campus der Universität Regensburg – auf seine lebendige Vielfalt und auf die Begegnungen seiner Menschen.

Und unser Dank ist ebenso an den Redaktionsbeirat, das Redaktionsbüro und alle Autor*innen der Ihnen nun vorliegenden Ausgabe des *Blick in die Wissenschaft*

zu richten: Ungeachtet der vielen in Zusammenhang mit der Corona-Pandemie aufgetretenen Herausforderungen erhalten Sie auf den folgenden Seiten in bewährter Weise einen Einblick in das breite Spektrum der Forschung unserer Universität.

Besonderes Augenmerk widmet diese Ausgabe dem deutschlandweit ersten »Centre for Advanced Studies« an einer Theologischen Fakultät – einem Format, das die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) 2007 speziell für die Geisteswissenschaften aufgelegt hat: Unter der Überschrift *Jenseits des Kanons* erforschen und erörtern seit der Eröffnung des Zentrums im Oktober 2018 ortsansässige Wissenschaftler*innen gemeinsam mit über 70 Gelehrten aus aller Welt Texte zu Riten und Dingen, die mit apokryphen Traditionen in Verbindung stehen und eine besondere Wirksamkeit im kirchli-

chen Leben entfaltet haben. Ausgewählte Beiträge aus dem Forschungsverbund gewähren Einblicke in das religiöse Leben jenseits kirchlicher und theologischer Normen und geben zugleich Aufschluss über die tatsächliche Bedeutung des biblischen Kanons.

Weitere Beiträge aus unterschiedlichen Fakultäten spiegeln die Vielfalt der Forschungsaktivitäten an unserer Universität in schon gewohnter Weise wider – von Tocquevilles Mutmaßungen über die Zukunft der Demokratie über die Frage, ob wir ein Grundrecht auf Bundesligafußball haben, bis hin zu Rezepten für gesundes Altern.

Bei der Fertigstellung dieser Ausgabe haben wir mit einigem Erstaunen festgestellt, wie die durch CoVID19 ausgelöste Krise auch die Wahrnehmung von und Auseinandersetzung mit den Inhalten einiger der hier präsentierten Arbeiten verän-

dert wird. Ebenso, wie CoVID 19 unseren privaten und beruflichen Alltag und das gesellschaftliche Miteinander in den vergangenen Wochen auf unterschiedlichsten Ebenen beeinflusst und sicherlich oft auch beeinträchtigt hat, so sehr regt die aktuelle Situation zur Reflexion über viele in der Vergangenheit als selbstverständlich wahrgenommene Lebensumstände und Werte und damit einhergehend den Umgang mit den Herausforderungen dieser Tage an. Mit Ihnen gemeinsam werden wir diese meistern.

Genießen Sie die Lektüre dieser Ausgabe und bleiben Sie gesund.

Prof. Dr. Udo Hebel
Präsident der Universität Regensburg
Prof. Dr. Ralf Wagner
Vorsitzender Redaktionsbeirat

Blick in die Wissenschaft
Forschungsmagazin
der Universität Regensburg
ISSN 0942-928-X
Heft 41
29. Jahrgang

Herausgeber
Prof. Dr. Udo Hebel
Präsident der Universität Regensburg

Redaktionsleitung
Prof. Dr. rer. nat. Ralf Wagner

Redaktionsbeirat
Prof. Dr. jur. Christoph Althammer
Prof. Dr. rer. nat. Ferdinand Evers
Prof. Dr. rer. nat. Stefan Friedl
Prof. Dr. rer. nat. Mark W. Greenlee
Prof. Dr. theol. Andreas Merkt
Prof. Dr. phil. Omar W. Nasim
Prof. Dr. rer. nat. Klaus Richter
Prof. Dr. rer. pol. Daniel Rösch
Prof. Dr. med. Ernst Tamm
Prof. Dr. paed. Oliver Tepner
Prof. Dr. phil. Isabella von Treskow

Universität Regensburg
93040 Regensburg
Telefon (09 41) 9 43-23 00
Telefax (09 41) 9 43-33 10

Verlag
Universitätsverlag Regensburg GmbH
Leibnizstraße 13, 93055 Regensburg
Telefon (09 41) 7 87 85-0
Telefax (09 41) 7 87 85-16
info@univerlag-regensburg.de
www.univerlag-regensburg.de
Geschäftsführer: Dr. Albrecht Weiland

Abonnement-service
Andrea Winkelmayer
bestellung@schnell-und-steiner.de

Anzeigenleitung
Larissa Nevecny
MME-Marquardt
info@mme-marquardt.de

Herstellung
Universitätsverlag Regensburg GmbH
info@univerlag-regensburg.de

Einzelpreis € 7,00

Jahresabonnement
bei zwei Ausgaben pro Jahr
€ 10,00 / ermäßigt € 9,00
Für Schüler, Studierende und Akademiker/innen im Vorbereitungsdienst (inkl. 7 % MwSt.) zzgl. Versandkostenpauschale € 1,64 je Ausgabe. Bestellung beim Verlag. Für **Mitglieder des Vereins der Ehemaligen Studierenden der Universität Regensburg e.V.**, des **Vereins der Freunde der Universität Regensburg e.V.** und des **Vereins ehemaliger Zahnmedizinstudenten Regensburg e.V.** ist der Bezug des Forschungsmagazins im Mitgliedsbeitrag enthalten.



Inhalt



Jenseits des Kanons

4

Tobias Nicklas



Der Fußabdruck Jesu

10

Andreas Merkt



Polymorphic Jesus, Polymorphic Texts

15

Janet E. Spittler



»Thinking in a broader context«

18

Stephanie Hallinger



Moroni und Menelik

21

Predrag Bukovec



In the Shadow of Artemis

25

Janet Downie



Tocquevilles Mutmaßungen über die Zukunft der Demokratie

30

Karlfriedrich Herb und Sarah Rebecca Strömel



Creole City und Cajun Country

35

Ingrid Neumann-Holzschuh



Ein Grundrecht auf Bundesligafußball?

42

Alexander Hellgardt



Ein Rezept für ein gesundes Altern?

47

Katharina Dahmen-Zimmer und Petra Jansen



Wie steuert man ein Mitfahrnetzwerk?

53

Maximilian Lukesch



Molekulare Paläontologie – »Auferweckung« urzeitlicher Proteine

58

Rainer Merkl, Kristina Straub und Reinhard Sterner



Molekulare Paläontologie – »Auferweckung« urzeitlicher Proteine

In-silico-Verfahren gewährt Einblick in die Eigenschaften von Proteinen aus ausgestorbenen Organismen

Rainer Merkl, Kristina Straub und Reinhard Sterner



Foto © Copyright Senckenberg/Tränkner

1 Archaeopteryx Nummer 11, heute im Senckenberg Museum in Frankfurt am Main.

Proteine (Eiweiße) sind die wesentlichen Funktionsträger allen Lebens. Sie bestehen aus einer spezifischen, linearen Abfolge (Sequenz) von unterschiedlichen Aminosäuren. Diese Aminosäuresequenz legt eine räumliche Struktur fest, welche wiederum die Funktion eines Proteins definiert. Es ist eine interessante Frage, wie sich Aminosäuresequenzen und damit die Eigenschaften von einzelnen Proteinen im Laufe der biologischen Evolution verändert haben. In diesem Zusammenhang sind Informationen über Proteine aus dem letzten gemein-

samen Vorfahren aller heute existierenden Lebewesen (englisch: *last universal common ancestor*, LUCA) besonders aufschlussreich. Da der LUCA die Erde bereits vor etwa 3,5 bis 3,8 Milliarden Jahren bevölkerte, sind keine molekularen Fossilien erhalten, die es ermöglichen würden, etwas über die Eigenschaften dieser urzeitlichen Proteine in Erfahrung zu bringen. In den letzten Jahren wurden jedoch Computer-basierte *In-silico*-Verfahren entwickelt, welche die »Auferweckung« und Charakterisierung dieser LUCA-Proteine ermöglichen. Ihr

Vergleich mit »modernen« Proteinen erlaubt Einblicke in die Gesetzmäßigkeiten der Proteinevolution und zusätzlich in den Zusammenhang zwischen der Aminosäuresequenz von Proteinen und ihrer Struktur und Funktion.

Leben in seiner heutigen Komplexität ist aus einfachen Vorstufen in einem jahr-milliardenlangen Prozess entstanden, der als Evolution bezeichnet wird. Einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Evolution leisten Fossilien. Sie stellen den Forschungsgegenstand der Paläontologie dar und erlauben einen direkten Blick in die Vergangenheit. Ein bekanntes Beispiel für eine Fossilie ist der Archaeopteryx oder »Urvogel«, der vor etwa 150 Millionen Jahren gelebt hat und dessen Körperbau ihn als eine Übergangsform zwischen sich zweibeinig fortbewegenden Dinosauriern und den modernen Vögeln ausweist. Bisher wurden 13 Exemplare im Altmühltal nahe Söllnhofen gefunden, ein besonders interessantes Exemplar ist im Senckenberg-Museum in Frankfurt zu bewundern. [1]

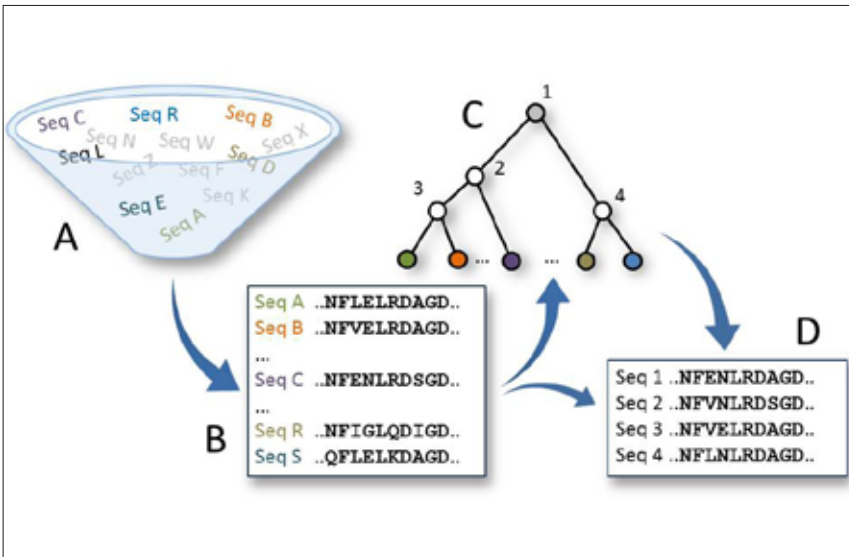
Klassische versus *in-silico*-basierte molekulare Paläontologie

Den am weitesten zurückreichenden Blick in die evolutionäre Vergangenheit erlauben sogenannte Mikrofossilien, die als Gesteinsdünnschliffe unter dem Mikroskop untersucht werden müssen. In Mikrofossilien, die dem Trias (vor ca. 230 Millio-



Foto © Prof. Dr. Wolfgang R. Hess, Genetik und Experimentelle Bioinformatik, Fakultät für Biologie, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

2 Mikrofossilien, die in einem Stromatolithen gefunden wurden. Sie belegen, dass Cyanobakterien zu den ältesten Lebensformen auf der Erde zählen. Dieser Stromatolith aus Kreta (Griechenland) stammt aus dem Erdzeitalter der Trias und ist etwa 230 Millionen Jahre alt.



3 Schema der ASR. (A) Auswahl von verwandten Sequenzen aus Datenbanken. (B) Assemblieren der Sequenzen zu einem multiplen Sequenzalignment (MSA, eine optimale Ausrichtung mehrerer Sequenzen). (C) Berechnung eines phylogenetischen Baumes: Blätter (bunt): rezente Sequenzen; Wurzel (1): gemeinsamer Vorläufer aller Sequenzen; interne Verzweigungspunkte (2-4): letzte gemeinsame Vorläufer der jeweils nachfolgenden Sequenzen. (D) Berechnen der Vorläufersequenzen basierend auf dem MSA und dem zugehörigen Baum. Quelle/Source: Reprinted by permission from Rainer Merkl, Reinhard Sterner. Springer,

BIOSpektrum | 07.15 | 21. Jahrgang (2015), S. 712-714, Molekulare Paläontologie, Rekonstruktion urzeitlicher Proteine. Rainer Merkl, Reinhard Sterner © Springer 2015

nen Jahren) zugeordnet werden, konnten Cyanobakterien identifiziert werden. [2] Cyanobakterien gehören ganz generell zu den ältesten noch erhaltenen Lebensformen; ihre Existenz ist in über drei Milliarden Jahren alten Gesteinen nachzuweisen. Allerdings sind darin die Zellstrukturen nicht mehr erhalten. Belege für die Existenz von Lebewesen in noch weiter zurückliegenden Erdzeitaltern und Details zu deren Morphologie kann die klassische Paläontologie nicht liefern.

Die auf dem Vergleich von makroskopischen Fossilien beruhende »klassische Paläontologie« wird bereits seit dem 18. Jahrhundert wissenschaftlich betrieben. Im Gegensatz dazu ist die auf dem Vergleich von Molekülen basierende »molekulare Paläontologie« ein noch relativ junges Forschungsfeld. Untersuchungsobjekte sind sehr große Moleküle (Makromoleküle), die den Hauptbestandteil von Zellen ausmachen. Eines dieser Makromoleküle ist die Desoxyribonukleinsäure (DNS), welche eine lineare Kette aus vier unterschiedlichen Bausteinen (Nukleotiden) darstellt

und als Informationsspeicher fungiert. Die DNS bildet die Vorlage für die Synthese von Proteinen. Diese bestehen aus einer Kette von 20 unterschiedlichen Aminosäuren, deren Abfolge (Sequenz) letztendlich von der Sequenz der Nukleotide der DNS determiniert wird. Gelingt es, aus Fossilien DNS zu isolieren und deren Nukleotidsequenz zu bestimmen, so kann diese anzestrale DNS mit der von modernen Arten verglichen werden, um Verwandtschaftsbeziehungen zu untersuchen. Ein spektakulärer Erfolg der molekularen Paläontologie war die Entschlüsselung des Erbgutes von fünf Neandertalern, die als Art vor etwa 40 000 Jahren ausstarben. Durch den Vergleich dieser Sequenzen mit den DNS-Sequenzen von modernen Menschen konnte geschlossen werden, dass sich Neandertaler und die Vorfahren heutiger Menschen stärker vermischt haben als bisher angenommen. Ebenso interessant wie die Einblicke in die Evolution des Menschen sind Erkenntnisse

zu Vorgängen, die sich in der frühen Phase der Evolution vor etwa dreieinhalb bis vier Milliarden Jahren (Präkambrium) abgespielt haben. Hier waren der molekularen Paläontologie jedoch bis vor kurzem enge Grenzen gesetzt, da weder DNS noch Proteine über einen so langen Zeitraum stabil sind und deswegen nicht analysiert werden können. Diese Einschränkung konnte durch einen neuen interdisziplinären Ansatz aufgehoben werden, der eine Kombination von bioinformatischen mit biochemischen Verfahren darstellt. Dieser Ansatz wird als »anzestrale Sequenzrekonstruktion« (ASR) bezeichnet, er liefert Informationen über die Sequenzen und die Eigenschaften von sehr alten Makromolekülen. Eine ASR umfasst mehrere Arbeitsschritte. [3]

Zunächst wird ein Protein ausgewählt, dessen Evolution genauer untersucht werden soll. Anschließend wird in einer Datenbank nach Sequenzen gesucht, die diese Proteinfunktion in unterschiedlichsten, heute vorkommenden »modernen« Organismen repräsentieren. [3A] Aufgrund von Mutationsereignissen, die sich im Laufe der Entwicklung der modernen Organismen akkumuliert haben, variiert die Zusammensetzung dieser Sequenzen und ihre Länge. Die ASR beginnt damit, dass die ausgewählten Sequenzen untereinander geschrieben und optimal ausgerichtet (aligniert) werden. [3B] Die in den einzelnen Spalten dieses multiplen Sequenzalignments (MSA) sichtbaren Übereinstimmungen bzw. Unterschiede von Aminosäurehäufigkeiten werden anschließend genutzt, um die stammesgeschichtliche (phylogenetische) Verwandtschaft der Proteinvarianten zu bestimmen. Dazu wird, unter Verwendung eines evolutionären Modells mit dem die Wahrscheinlichkeiten für Mutationsereignisse beschrieben werden, ein Stammbaum berechnet. Die größte Herausforderung dieser aufwändigen Berechnung ist die präzise Festlegung der Baumstruktur. Eindeutig fixiert ist zu Beginn der Berechnung nur die Anzahl der Blätter, die mit den für die Rekonstruktion verwendeten Proteinsequenzen moderner Organismen besetzt werden. [3C] Die Topologie des Baumes ergibt sich im Laufe der Berechnung aufgrund der Sequenzunterschiede und deren Bewertung mithilfe des evolutionären Modells. Jeder phylogenetische Baum enthält zusätzlich zu den Blättern interne Knoten, die durch unterschiedlich lange Kanten miteinander verbunden sind. Die Länge der Kanten korrespondiert mit der Länge evolutionärer Zeiträume, während die Knoten

jeweils den letzten gemeinsamen Vorläufer der nachfolgenden Proteine repräsentieren. Somit steht die Wurzel des Baumes für den letzten gemeinsamen Vorfahren aller Proteine einschließlich derjenigen aus modernen Organismen, die für die Rekonstruktion ausgesucht wurden.

Aufgrund der Darwin'schen Evolutionstheorie gilt es als gesichert, dass alle Lebewesen von einem gemeinsamen Vorfahren abstammen. Deswegen bestimmt die Herkunft der für die Sequenzrekonstruktion ausgewählten Proteinsequenzen, wie weit zurück die Evolution des Proteins verfolgt werden kann: Stammen alle modernen Sequenzen aus nahe verwandten Arten, ist der letzte gemeinsame Vorfahre jüngeren Datums. Werden die Sequenzen allerdings aus phylogenetisch diversen Spezies gewählt, so repräsentiert die Wurzel den letzten gemeinsamen Vorfahren (englisch: *last universal common ancestor*, LUCA), von dem angenommen wird, dass er im Präkambrium existierte.

Ist ein robuster Baum gefunden, werden die der Wurzel und den Verzweigungspunkten entsprechenden Aminosäuresequenzen der verschiedenen anzestral Proteine rekonstruiert. Diese Rechenschritte basieren wiederum auf einem phylogenetischen Modell, mit dem der Übergang von jeder der 20 unterschiedlichen Aminosäuren in eine andere Aminosäure nachgestellt wird. So wird für jede Position in allen anzestral Sequenzen ermittelt, welche Aminosäuren dort mit welcher Häufigkeit vorkommen. Die Sequenzen sind umso eindeutiger bestimmbar, je kürzer die einzelnen Kanten des Baumes sind und je eindeutiger ihre Lage ist. Sind die anzestral Sequenzen berechnet, ist der bioinformatische Teil abgeschlossen. [3D] Im folgenden Schritt werden die anzestral Proteine über den Umweg der Gensynthese (Herstellung einer DNA-Matrize für das spätere Übersetzen in Proteine) hergestellt und mit Hilfe von unterschiedlichen biochemischen, biophysikalischen und strukturbioologischen Methoden charakterisiert, die auch bei »modernen« Proteinen zur Anwendung kommen.

ASR von einfachen Enzymen aus dem Präkambrium

Viele Proteine üben ihre Funktion dadurch aus, dass sie kleine Moleküle binden. Zahlreiche andere Proteine weisen jedoch eine

Phylogenetischer Baum des Lebens

Eine Phylogenie beschreibt die stammesgeschichtliche Entwicklung der Lebewesen. Während früher morphologische Merkmale verglichen wurden, nutzt die moderne Phylogenie die Nukleotidzusammensetzung bestimmter Gene, um daraus einen phylogenetischen Baum abzuleiten. Phylogenetische Bäume werden in der Regel so gezeichnet, dass die Blätter unten und die Wurzel ganz oben zu liegen kommt. In einem phylogenetischen Baum besetzen die modernen Organismen die Blätter, alle internen Knoten repräsentieren (ausgestorbene) Vorläufer.

Alle modernen Organismen werden drei phylogenetischen Domänen zugeordnet. Dies sind die Eukaryoten, d. h. Lebewesen, die einen echten Zellkern besitzen, sowie die Bakterien und die Archaeen. Archaeen besitzen einen außergewöhnlichen Stoffwechsel und werden deswegen zum Beispiel zur Methangewinnung eingesetzt. Da sie als Repräsentanten des frühen Lebens auf der Erde gelten, sind sie für die Forschung von großem Interesse und werden deswegen im Regensburger Archaeenzentrum kultiviert und intensiv untersucht.

höhere Komplexitätsstufe auf, indem sie im Rahmen des Stoffwechsels das von ihnen gebundene Molekül (Substrat) in ein anderes Molekül (Produkt) umwandeln. Derartige Biokatalysatoren werden als Enzyme bezeichnet und ihr für die Katalyse zuständiger Bereich als »aktives Zentrum«. Es ist wichtig zu verstehen, wie aus Bindeproteinen im Laufe der Evolution durch die Umwandlung der Bindestelle in ein aktives Zentrum Enzyme entstanden sind. Dieser Weg wurde mit Hilfe von ASR nachvollzogen. Konkret wurde beispielsweise gezeigt, dass das Enzym Cyclohexadienyldehydratase (CDT) aus Vorläufern entstanden ist, die die kationischen Aminosäuren Lysin und Arginin gebunden haben. ASR zeigte, dass die für das aktive Zentrum wichtigen Aminosäuren schon in den Vorstufen der CDT vorhanden waren und zur Etablierung der Katalyse lediglich schrittweise die Umgebung dieser Aminosäuren optimiert werden musste.

Die katalytischen Eigenschaften der rekonstruierten CDTs deuteten darauf hin, dass der Übergang von Bindeproteinen zu Enzymen ein relativ schneller und effizienter Prozess war. Doch wie war es um die Effizienz der ersten Enzyme bestellt? Eine gängige Hypothese besagt, dass in der Frühzeit der Evolution noch deutlich weniger Enzyme existierten. Das setzt jedoch voraus, dass diese ursprünglichen Enzyme promiskuitiv waren, d. h. den Umsatz nicht nur eines, sondern den mehrerer

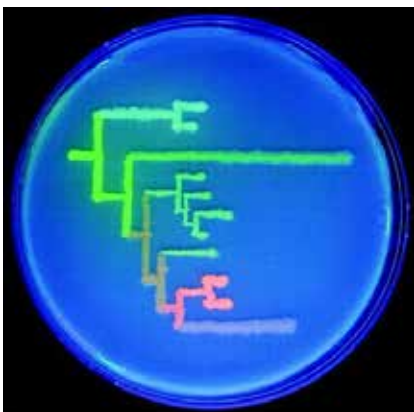
ähnlicher Substrate katalysierten. Diese Vermutung konnte für einige rekonstruierte präkambrische Enzyme experimentell bestätigt werden. Simulationen der Molekülbewegungen mit Hilfe von Computerprogrammen (Moleküldynamiksimulationen) deuten darauf hin, dass die Promiskuität der anzestral Enzyme auf eine erhöhte strukturelle Flexibilität zurückzuführen ist, welche die Bindung unterschiedlicher Substrate am aktiven Zentrum ermöglicht. Interessanterweise besitzen rekonstruierte Proteine aus dem Präkambrium fast immer eine extreme molekulare Hitzebeständigkeit von über 80° C, während die Proteine der meisten Organismen in der Regel bereits bei deutlich niedrigeren Temperaturen ihre Struktur und Funktion einbüßen. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit der weithin akzeptierten Hypothese, dass Leben in der Hitze, vermutlich in heißen Ozeanen, entstanden ist.

ASR zur raschen Charakterisierung von Proteineigenschaften

Das grün fluoreszierende Protein (GFP) stammt aus der Qualle *Aequorea victoria*, besteht aus 238 Aminosäuren und leuchtet bei Anregung mit blauem oder ultraviolettem Licht grün. GFP kann mit anderen Proteinen fusioniert werden, was das Studium

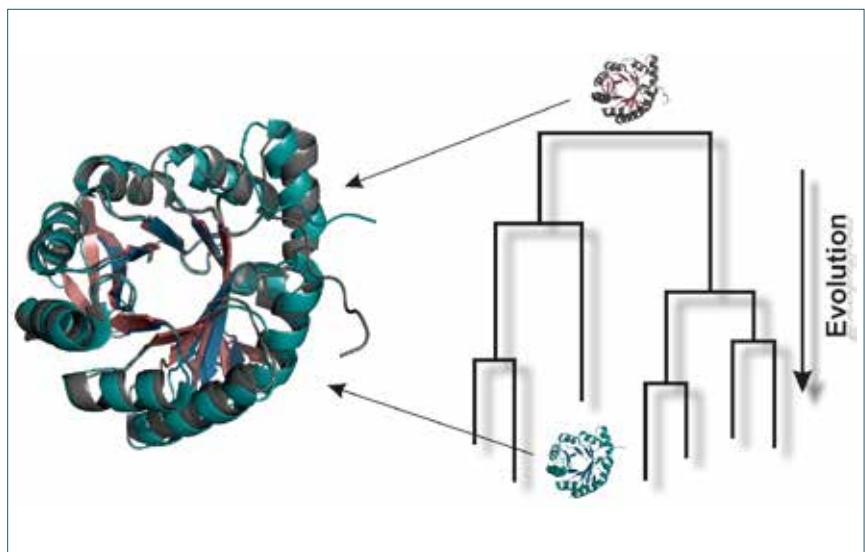
der räumlichen und zeitlichen Verteilung dieser Fusionsproteine in lebenden Zellen, Geweben und ganzen Organismen möglich macht. Zunehmend an Bedeutung gewinnen Varianten des GFPs aus Korallen, die in anderen Wellenlängen fluoreszieren und damit noch komplexere zellbiologische Studien mit zwei oder mehr Fusionsproteinen zulassen. Diese Fluoreszenz ist eine anzestrale Eigenschaft, die sich mit dem Entstehen der ersten Korallenriffe im späten Trias (vor ca. 250 Millionen Jahren) entwickelte. Die Steinkoralle *Montastraea cavernosa* besitzt mehrere Gene, die türkises, kurzwelliges bzw. langwelliges grünes oder rotes Licht emittieren. Um herauszufinden, in welchem Wellenlängenbereich das ursprünglichste der fluoreszierenden Proteine der Korallen emittierte und welche Mutationen für die Wellenlängenveränderungen notwendig sind, wurde eine ASR ausgeführt und die rekonstruierten anzestral Proteine in Bakterien produziert.

[4] Es stellte sich heraus, dass der Vorläufer im Grünen fluoreszierte und sich beispielsweise vom rot emittierenden Nachfolger durch 27 Aminosäuresubstitutionen unterscheidet. Aufgrund einer detaillierten statistischen Analyse von im Labor hergestellten Proteinvarianten konnte diese Anzahl auf zwölf Substitutionen eingeschränkt werden. Werden diese zwölf Veränderungen in das grün leuchtende Vorläuferprotein eingeführt, so leuchtet es rot. Analog konnten die Veränderungen zu anderen



4 Phylogenetischer Baum der GFP-ähnlichen Proteine aus Faviina-Korallen, gezeichnet mithilfe von rekonstruierten und modernen Proteinen. Die Proteine werden hier von Bakterien produziert, die in einer Petrischale wachsen. Der rekonstruierte Vorläufer von elf Korallenproteinen fluoresziert im Grünen.

Quelle/Source: From »Evolution of Coral Pigments Recreated«, Juan A. Ugalde, Belinda S. W. Chang, Mikhail V. Matz, 2004, Volume 305, Issue 5689, Volume number 305, Issue number 5689. Reprinted with permission from The American Association for the Advancement of Science (AAAS)



5 Wiedererweckung eines LUCA-HisF-Proteins. Basierend auf den Sequenzen moderner HisF Proteine aus sieben phylogenetischen Untergruppen wurde zunächst die Sequenz des LUCA-HisF-Proteins rekonstruiert (r.). Dieses Protein wurde im Labor hergestellt und mit biophysikalischen und biochemischen Methoden charakterisiert. Die Proteinraumstruktur des LUCA-HisF Proteins (grau und braun) unterscheidet sich nur in Details von der eines modernen HisF-Proteins (grün und blau). Beide Proteinraumstrukturen sind abstrahiert dargestellt, um typische Elemente hervorzuheben.

Abbildung © Kristina Straub, Universität Regensburg

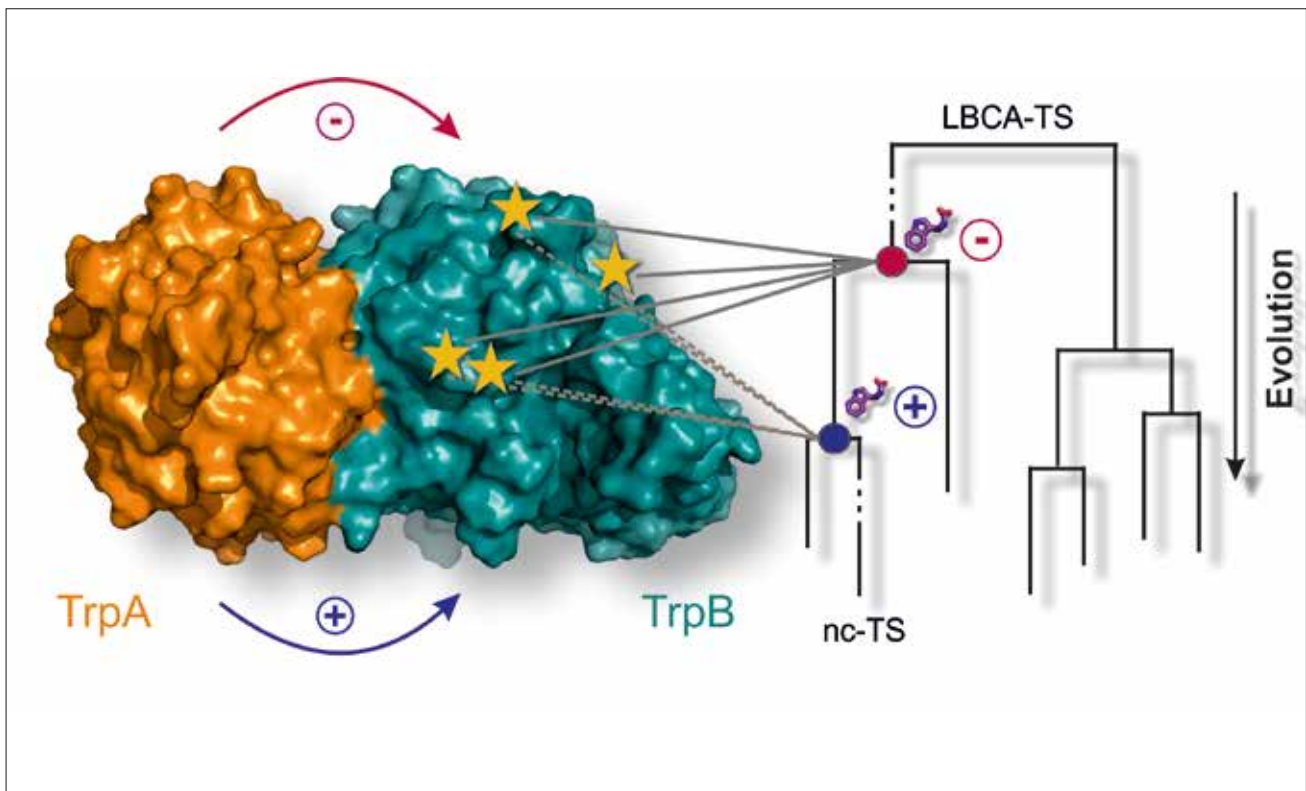


Abbildung © Kristina Straub, Universität Regensburg

6 Untersuchung der Signalweiterleitung in der Tryptophansynthase (TS). Dieser Enzymkomplex besteht aus den zwei Untereinheiten TrpA (orange) und TrpB (türkis). In der rekonstruierten LBCA-TS und zwei, im Baum benachbarten ancestralen TS tritt eine Hemmung der TrpB-Aktivität durch TrpA auf (-). Im Gegensatz dazu aktiviert im unmittelbar nächsten Nachfahren TrpA die TrpB-Untereinheit (+), ähnlich wie in der modernen TS Variante (nc-TS) zu beobachten. Mithilfe einer Kombination von Sequenzanalysen und biochemischen Kontrollen konnte gezeigt werden, dass ein Austausch von nur vier Aminosäuren ausreicht, um die Hemmung der Signalweiterleitung aufzuheben.

Farben nachvollzogen werden. [4] Dieses Beispiel macht deutlich, dass die ASR einen wichtigen Beitrag zur Charakterisierung von Proteineigenschaften leisten kann: Die Anzahl von Proteinvarianten, die im Labor untersucht werden müssen, kann drastisch reduziert werden, weil sich die durch ASR erzeugten Proteinsequenzen durch wesentlich weniger Mutationen voneinander unterscheiden als moderne Varianten.

ASR von Enzymkomplexen

Wie auch andere Proteine können Enzyme aus einer einzigen Aminosäurekette bestehen und werden entsprechend als Monomere bezeichnet. In vielen Fällen lagern sich jedoch mehrere gleiche oder unterschiedliche Ketten zu Homo-Oligomeren bzw. Hetero-Oligomeren zusammen. Da einige Gruppen bereits ancestrale Sequenzrekonstruktion mit relativ einfachen monomeren Enzymen durchgeführt hatten, erfolgte unser Einstieg in die ASR über einen Enzymkomplex, die Imidazolglycerinphosphat-Synthase. Dieses Enzym

besteht aus zwei Proteinen, der Cyclase HisF und der Glutaminase HisH, und katalysiert einen zentralen Stoffwechselschritt in der Biosynthese der Aminosäure Histidin. Zunächst haben wir einen stammesgeschichtlichen Baum für 87 »moderne« HisF-Sequenzen aus sieben phylogenetischen Untergruppen berechnet und auf seiner Basis die HisF-Aminosäuresequenz des letzten gemeinsamen Vorfahren dieser Proteine rekonstruiert. Dieses LUCA-HisF-Protein wurde dann hergestellt und charakterisiert. Es zeigte sich, dass LUCA-HisF bereits alle Eigenschaften moderner HisF-Proteine in sich trug: Das Enzym bildete über denselben Mechanismus wie Proteine aus heutigen Bakterien eine definierte räumliche Struktur aus [5] und katalysierte dieselbe Reaktion mit hoher Effizienz und Spezifität. Interessanterweise war LUCA-HisF, ebenso wie andere Enzyme aus dem Präkambrium, extrem hitzebeständig und verlor seine Struktur erst bei sehr hohen Temperaturen.

Wir konnten weiter zeigen, dass LUCA-HisF einen Komplex mit einem modernen HisH-Protein bildet und mit diesem Protein

auch funktionell wechselwirkt. Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass bereits zu Zeiten des LUCA, d. h. vor 3,5 bis 3,8 Milliarden Jahren effiziente Enzyme existiert haben. Leider war jedoch das in analoger Weise wie LUCA-HisF rekonstruierte LUCA-HisH-Enzym instabil und ließ sich deshalb nicht charakterisieren. Deshalb konnte an dieser Stelle nicht eindeutig belegt werden, ob im LUCA bereits funktionelle Enzymkomplexe existierten. Aus diesem Grunde haben wir anschließend mit der Tryptophansynthase (TS) einen weiteren Enzymkomplex »aufgeweckt«. Die TS katalysiert den letzten Schritt in der Biosynthese der Aminosäure Tryptophan und besteht aus den Proteinen TrpA und TrpB. In diesem Fall gelang uns, auf der Basis eines MSAs von 52 TrpA- und TrpB-Sequenzen, eine komplette Rekonstruktion der TS aus dem letzten gemeinsamen Vorfahren aller Bakterien (LBCA). Die Raumstruktur dieses LBCA-TS-Komplexes war modernen TS-Komplexen sehr ähnlich. Zudem waren sowohl TrpA als auch TrpB ebenso wie HisF sehr stabile Proteine. Funktionell zeigte sich jedoch eine interessante Auffälligkeit.

Während sich die TrpA- und TrpB-Proteine in modernen TS-Komplexen wechselseitig aktivieren (positive Signalweiterleitung), führte die Anwesenheit von LBCA-TrpA zu einer Abschwächung der katalytischen Aktivität von LBCA-TrpB (negative Signalweiterleitung). Dies deutet darauf hin, dass im LBCA, der vor etwa 3,5 Milliarden Jahren existierte, das Zusammenspiel der beiden Proteinketten noch nicht optimal ausgeprägt war. Dies veranlasste uns nun, alle anzeustralen TS an den inneren Verzweigungspunkten des Baumes, die den LBCA-TS mit der TS aus einem heute existierenden Bakterium *Neptuniibacter caesariensis* (nc-TS) verbinden, ebenfalls zu charakterisieren. Wir fanden, dass neben dem LBCA-TS zwei weitere TS, die durch die beiden benachbarten Knoten repräsentiert werden, eine negative Signalweiterleitung aufwiesen. Alle weiteren internen Knoten auf dem Weg zu nc-TS zeigten dagegen eine positive Signalweiterleitung. Dies bedeutet, dass im Laufe der Evolution die Signalweiterleitung am Übergang zweier interner Knoten von negativ auf positiv drehte, also die beiden Proteine des TS-Komplexes das in modernen TS beobachtete produktive Zusammenspiel entwickelten. Nun war bis jetzt nicht bekannt, welche Aminosäuren in den TrpA- und TrpB-Proteinen für dieses positive Zusammenspiel verantwortlich sind. Auf der Basis des Vergleichs der anzeustralen TS zwischen denen der Wechsel im Zusammenspiel stattfand, konnten wir zunächst den Effekt auf Veränderungen in den TrpB-Proteinen einschränken sowie im Weiteren zeigen, dass der Austausch von nur vier Aminosäuren ausreicht, um die Hemmung der Signalweiterleitung aufzuheben. Somit musste innerhalb der Evolution nur ein Bruchteil der Aminosäuresequenz der TrpB-Proteine verändert werden, um ein optimales Zusammenspiel von TrpA und TrpB zu erreichen. [6] Intuitiv würde eine größere Veränderung angenommen werden, wodurch diese Erkenntnis besonders interessant wird und entscheidend zum Verständnis der Wirkungsweise eines wichtigen Enzymkomplexes beiträgt.

Literatur

Bernd Reisinger, Josef Sperl, Alexandra Holinski, Veronika Schmid, Chitra Rajendran, Linn Carstensen, Sandra Schlee, Samuel Blanquart, Rainer Merkl, Reinhard Sterner, Evidence for the existence of elaborate complexes in the paleoarchaean area. *Journal of the American Chemical Society* 136 (2014), S. 122–129.

Rainer Merkl, Reinhard Sterner, Ancestral protein reconstruction: techniques and applications. *Biological Chemistry* 397 (2016), S. 1–21.

Florian Busch, Chitra Rajendra, Kristina Heyn, Sandra Schlee, Rainer Merkl, Reinhard Sterner,

Ancestral tryptophan synthase reveals functional sophistication of primordial enzyme complexes. *Cell Chemical Biology* 23 (2016), S. 709–715.

Ben E. Clifton, Joe A. Kaczmarek, Paul D. Carr, Monica L. Gerth, Nobuhiko Tokuriki, Colin J. Jackson, Evolution of cyclohexadienyl dehydratase from an ancestral solute-binding protein. *Nature Chemical Biology* 14 (2018), S. 542–547.

Michael Schupfner, Kristina Straub, Florian Busch, Rainer Merkl, Reinhard Sterner, Analysis of allosteric communication in a multi-enzyme complex by ancestral sequence reconstruction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 117 (2020), S. 346–354.



Foto © privat

Prof. Dr. rer. nat. **Rainer Merkl** studierte biomedizinische Technik sowie Informatik und promovierte an der Universität Göttingen. Seit 2005 ist er an der Universität Regensburg tätig und leitet als außerplanmäßiger Professor eine Arbeitsgruppe für Bioinformatik. Seine **wissenschaftlichen Interessen** liegen im Bereich Proteinevolution und Enzymdesign.



Foto © privat

Dr. rer. nat. **Kristina Straub** studierte Physik und promovierte in Bioinformatik an der Universität Regensburg. Seit Beginn ihrer Dissertation 2014 arbeitet sie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. rer. nat. Rainer Merkl. Ihr **Forschungsschwerpunkt** liegt im Bereich der anzeustralen Sequenzrekonstruktion. Zu ihren weiteren Interessen gehört das Enzymdesign.



Foto © privat

Prof. Dr. rer. nat. **Reinhard Sterner** studierte Biologie und promovierte an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Danach arbeitete er als Postdoktorand an der Universität Basel (Schweiz), als Heisenberg-Stipendiat an der Universität Göttingen und als Professor für Biochemie an der Universität zu Köln. Seit 2004 hat er einen Lehrstuhl für Biochemie an der Universität Regensburg inne. Seine **wissenschaftlichen Schwerpunkte** sind die Evolution und das Design von Enzymen, sowie die Signalweiterleitung in allosterischen Multienzymkomplexen.