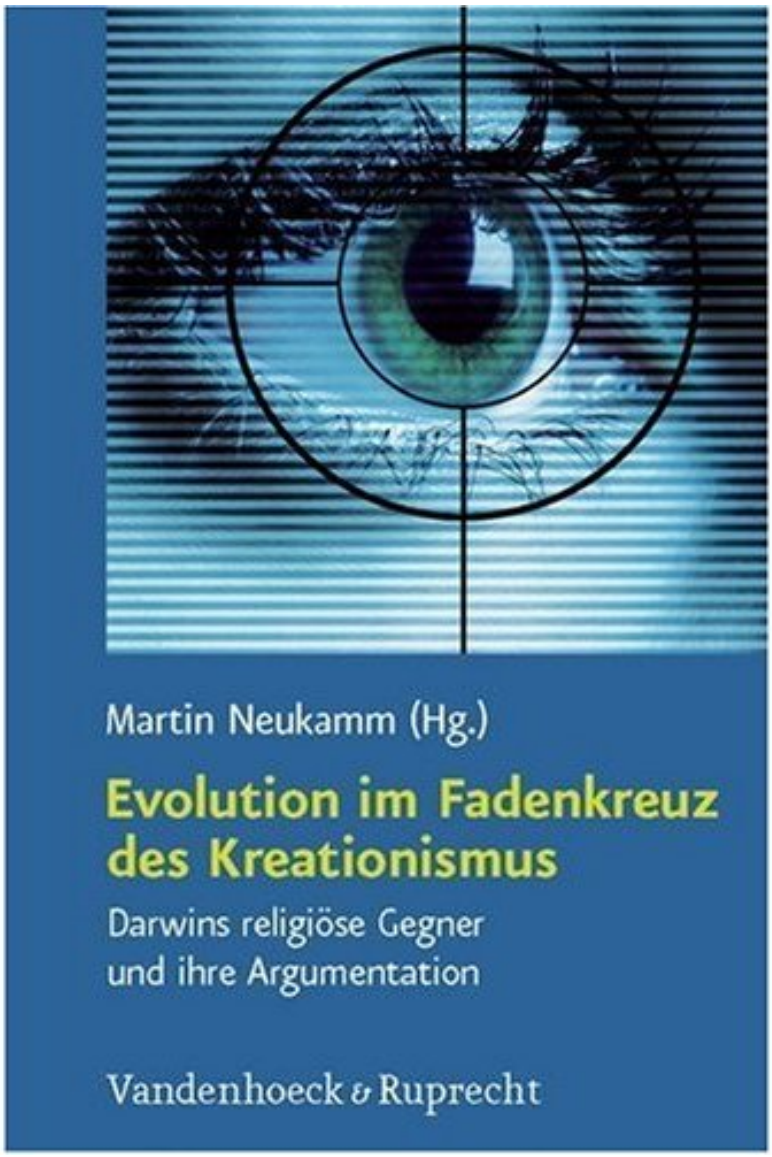
Evolution im Fadenkreuz des Kreationismus

Darwins religiöse Gegner und ihre Argumentation



Herausgeber: Martin Neukamm

IX. Was die Selektion angeblich nicht leisten kann

Diskussion von drei Paradebeispielen

3. Die bakterielle Flagelle – Stand der Forschung zu molekularem Aufbau, Diversität und Evolution

JOHANNES SIKORSKI

> Wissenschaft ist eine endlose Suche nach Wahrheit. Jede Darstellung der Realität kann nur unvollständig sein. Es gibt keine endgültige Einsicht, manchmal nicht einmal ein ideale Darstellung. Es gibt nur ein immer tieferes Verständnis, immer aufschlussreichere Darstellungen (WOESE 2004; Übersetzung J.S.).[1]

Die bakterielle Flagelle ist eine hochkomplexe, molekulare „Maschine“, mittels derer sich Bakterien wie mit einem Schiffspropeller fortbewegen können. Kritiker zweifeln an ihrer Evolution, nach ihrer Meinung kann die Herkunft der Flagelle nur mittels eines Schöpfers oder eines so genannten „Intelligenten Designers“ erklärt werden. Um dem Leser die Bildung einer eigenen, fundierten Meinung zu ermöglichen, soll in diesem Kapitel der aktuelle Wissensstand über den molekularen Aufbau, die Evolution und die Vielfalt der bakteriellen Flagellensysteme vermittelt werden. Der Leser erhält die Möglichkeit, anhand der meist frei im Internet verfügbaren Originalpublikationen den gegenwärtigen Stand nachzuvollziehen. Abschließend werden einige Einwände erörtert, mit denen versucht wird, die Evolution der bakteriellen Flagelle in Frage zu stellen.

3.1 Kurzeinführung und Positionen

Die bakterielle Flagelle besteht aus einem langen, dünnen Filament, das aus dem Zellkörper herausragt (Abb. 56). Die Flagelle ist aus drei Grundelementen aufgebaut: einem Motor, einem Propeller und einem Verbindungsstück, dem Haken. Der Motor besteht aus einem Rotor sowie aus einer Rotor-Halterung (Stator), die sich beide in der Zell-Membran befinden, einem Stab, welcher als Hauptantriebswelle fungiert und bis in die äußere Membran hineinreicht sowie aus einem Proteinkomplex, der um den äußeren Teil der Antriebswelle herum eine Pore in der äußeren Membran bildet.

[1] www.life.uiuc.edu/micro/faculty/faculty_woese.htm. (Auf alle in diesem Kapitel erwähnten Internet-Adressen wurde am 23. Januar 2009 zugegriffen.)

Der Propeller ist ein langes, helikales Filament, welches aus bis zu 20.000 Untereinheiten von ein und demselben Filament-Protein bestehen kann. Der Haken verbindet die Hauptantriebswelle des Motors mit dem Propeller (dem Filament). Über die Hauptantriebswelle versetzt der Motor somit den Haken in Rotation, so dass das Filament als Schraube fungieren kann.

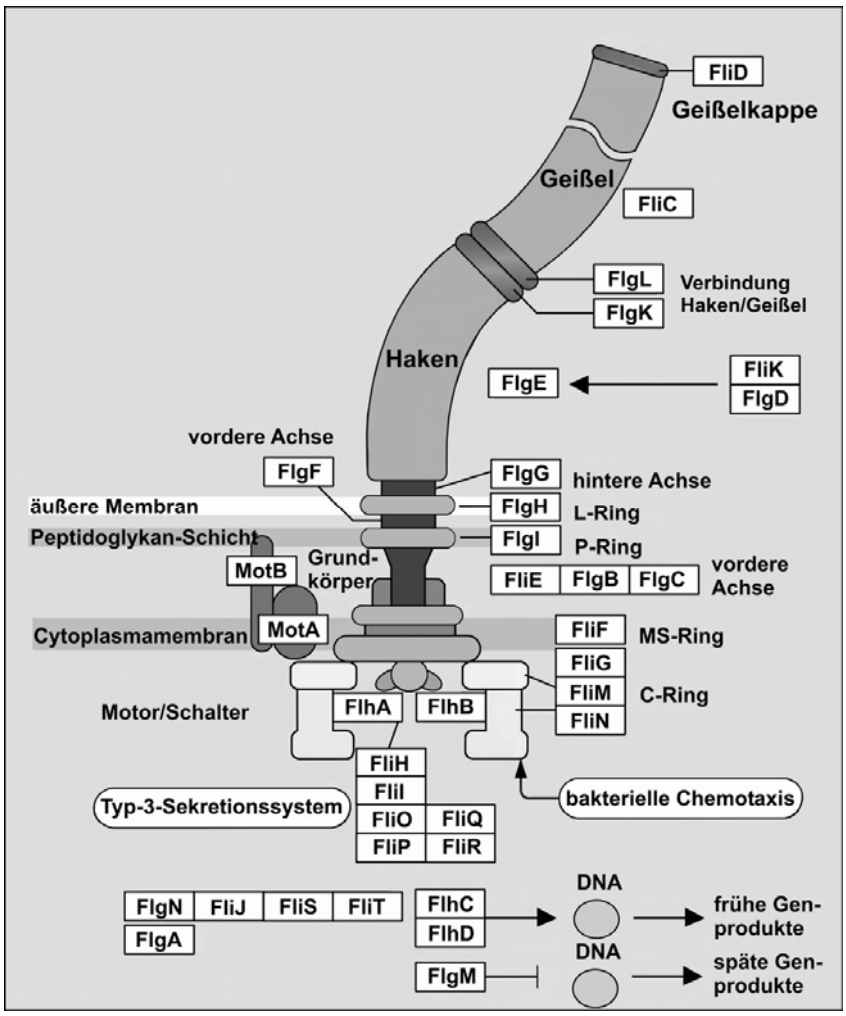


Abb. 56 Diese Grafik wurde der KEGG-Datenbank[2] entnommen und verändert (vornehmlich wurden die Begriffe ins Deutsche übersetzt).[3] Sie bildet auch die Grundlage für Abb. 9.28 in JUNKER/SCHERER (2006). Die Bezeichnungen in den Rechtecken stellen die Namen der an der Flagelle beteiligten Proteine dar.

[2] Die KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) ist eine frei zugängliche Datenbank mit Informationen über Strukturen von Biomolekülen, Medikamenten, Reaktionsgleichungen, Stoffwechselwegen, Genen und der funktionalen Hierarchie biologischer Systeme in verschiedenen Organismen (www.genome.ad.jp/kegg/).

[3] www.genome.jp/dbget-bin/get_pathway?org_name=stm&mapno=02040

Bei dem am besten untersuchten Flagellensystem, dem von *Salmonella typhimurium*, ist eine präzise Koordination von mehr als 60 Genen notwendig, um eine funktionierende Flagelle auszubilden (CHEVANCE/HUGHES 2008). Der Grundaufbau der Flagelle ist in Abb. 56 am Beispiel von *S. typhimurium* gezeigt. Dem gesamten System liegt ein Protein-Exportsystem (ein sog. Typ-3-Sekretions-System, T3SS)[4] zugrunde, welches für den Export der Flagellenproteine aus der Zelle zuständig ist.

Nach Ansicht der Evolutionskritiker kann die Evolutionswissenschaft zurzeit keine Erklärung für die Entstehung der Flagelle anbieten (JUNKER/SCHERER 2006). Diese Auffassung wird mithilfe des Arguments der sog. „irreduziblen Komplexität" begründet, welches besagt, dass alle an der Flagelle beteiligten Proteine unabdingbar notwendig seien, um ihre Funktion zu erfüllen. Da aber nicht alle Komponenten der Flagelle „auf einen Schlag" haben evolvieren können, deute die Entstehung der Flagelle auf einen schöpferischen Akt hin. Die Möglichkeit, dass die Flagelle über Zwischenstufen mit möglicherweise anderen selektierbaren Funktionen als der heutigen Funktion der Flagelle hat evolvieren können, wird nicht in Betracht gezogen – zumindest nicht in der Art, dass eine graduelle, schrittweise Entstehung des Flagellenkomplexes für möglich gehalten wird. So lesen wir bei BEHE (1996, 73):

> Als die Biologen damit begannen, scheinbar einfache Strukturen, wie Cilium und Flagellum zu untersuchen, stießen sie auf eine erstaunlich hohe Komplexität, auf Systeme bestehend aus dutzenden bis hunderten präzise aufeinander abgestimmten Teilen [...] Je größer die Zahl der für eine Funktion benötigten Teile, desto unüberwindlicher sind die Schwierigkeiten gradueller Evolution und desto mehr stürzt die Plausibilität indirekter Evolutions-Szenarien in den Keller. Darwin steht mehr und mehr auf verlorenem Posten [...] Die Darwinsche Evolution lieferte keine Erklärung für die Entstehung des Ciliums bzw. der Flagelle. Die enorme Komplexität der schwimmenden Systeme drängt uns zu der Überzeugung, dass es nie eine Erklärung geben wird.

Evolutionsbiologen sind dagegen der Überzeugung, dass nach aktuellem Kenntnisstand nichts gegen eine Entstehung der bakteriellen Flagelle mittels der bekannten molekularen Evolutionsmechanismen spricht und dass keinesfalls der Beitrag eines göttlichen oder Intelligenten Designers als notwendig erachtet wer-

[4] Es gibt 6 grundlegend verschiedene Typen des Proteinexports bei Bakterien. Diese Klassifikation beruht auf der molekularen Struktur des Exportsystems und der Art des durchgeführten Transportvorganges. Vier dieser Systeme werden als Typ I, II, III und IV bezeichnet. Eine ausgezeichnete Übersicht über die sechs Systeme findet sich bei LEE/SCHNEEWIND (2001), mit Verweis auf weiterführende Literatur.

den muss. Im Gegenteil, je mehr Daten gewonnen werden, desto mehr erhärtet sich die Auffassung der Evolutionsbiologen.

3.2 Molekulare Evolutionsmechanismen: Ein paar Grundlagen

Es ist weitgehend Konsens, dass „Makroevolution“ keine grundlegend anderen Mechanismen erfordert als „Mikroevolution“. Nach heutiger Erkenntnis sind die genetischen Wechselwirkungen, spezifisch für jeden Organismus (bzw. seine Population) so weit abwandelbar, dass ein breites Spektrum von Möglichkeiten entsteht, so dass auch eine scharfe Abgrenzung weder sinnvoll noch möglich erscheint. Selbstverständlich sind längst nicht alle Details bekannt, und es wird wahrscheinlich niemals bis in alle Einzelheiten geklärt werden, welche kleinen oder mittelgroßen Evolutionsschritte aufeinander folgten, um eine so komplexe Struktur wie die Flagelle hervorzubringen. Der oft gezogene Umkehrschluss, Makroevolution sei nicht auf kumulative Ereignisse rückführbar, ist jedoch in keiner Weise belegt und daher unzulässig.

Um Makroevolution zu verstehen, muss also klar sein, wie Mikroevolution vonstatten geht. Und alle Vorgänge der Mikroevolution sind letztlich auf die Prinzipien der Populationsgenetik rückführbar (HARTL/CLARK 2007)[5]. Genauer: Jegliche Daten-Interpretation unter evolutiven Gesichtspunkten muss mit den Grundlagen der Populationsgenetik vereinbar sein (LYNCH/CONERY 2003; AYALA 2007; LYNCH 2007b). Wie wir wissen, ist Evolution die zeitliche Veränderung von Populationen mittels Vererbung, Variation und Selektion (englisch: descent with modification) (FUTUYMA 2005). Weitere treibende Kräfte der Evolution sind Rekombination, genetische Drift und Migration. Natürliche Selektion ist ein Ausleseprozess, bezogen auf den differenziellen Reproduktionserfolg von Individuen, der von der „Fitness“ der Individuen in ihrer jeweiligen Umwelt abhängt (BOCK 2003). Es ist das große Verdienst von Charles DARWIN, natürliche Selektion als eine Triebfeder der Evolution erkannt zu haben. Natürliche Selektion kann aber nur dann wirken, wenn in Populationen Vielfalt herrscht, wenn also qualitativ neue Strukturen entstehen, die der Auslese „angeboten“ werden können. Daher sind Mutation und Rekombination als Variabilität erzeugende Mechanismen nicht weniger wichtig als die natürliche Selektion.

Mittels Punktmutationen sowie durch das Einfügen kleinerer DNA-Sequenzen (Insertion), dem Entfernen von DNA (Deletion) oder infolge des umgekehrten Einbaus einer DNA-Sequenz (Inversion) können sich die Eigenschaften der Genprodukte verändern. Dies kann natürlich zum Verlust der Eigenschaften des ursprünglichen Genproduktes führen, welches zum Nachteil des Organismus sein kann. Hat sich das Gen jedoch vorher verdoppelt (die genetischen Mechanismen

[5] www.sinauer.com/detail.php?id=3082

zur Genduplikation sind sehr gut bekannt; s. HURLES 2004) und finden die mutativen Genveränderungen nur in einer der beiden Kopien statt, so werden zwei Fliegen mit einer Klappe geschlagen: Der Organismus erfährt dadurch keinen Nachteil, da das originäre Gen weiterhin seine ursprüngliche Funktion erfüllt, wohingegen die Kopie durch Mutationen gefahrlos neue Eigenschaften entwickeln kann. Die Evolution kann auf diese Weise „ausprobieren", ob sich eine der Eigenschaften unter bestimmten Umweltbedingungen bewährt.

Aber ist ein solches Genduplikations-Szenario überhaupt Erfolg versprechend? JUNKER/SCHERER (2006) (kurz: J/S) bezweifeln dies in ihrem „kritischen Lehrbuch" (Seite 154/155). Die wissenschaftliche Fachwelt sieht dies anders und skizziert drei verschiedene Szenarien: Entweder teilen sich beide Genkopien die originäre Aufgabe (*subfunctionalization*) oder die Kopie übernimmt eine neue Funktion (*neofunctionalization*). Die dritte Möglichkeit ist, dass die Kopie später wieder verloren geht (*nonfunctionalization* oder *pseudogenization*).

Die Wahrscheinlichkeiten für den Erhalt der Genkopien sind ebenso wie die funktionellen Zusammenhänge von „neofunctionalization" und „subfunctionalization" in theoretischen Arbeiten gut untersucht worden (LYNCH et al. 2001; KAREV et al. 2004; RASTOGI/LIBERLES 2005; SHAKHNOVICH/KOONIN 2006), wenn sie zum Teil auch kontrovers diskutiert werden (GIBSON/GOLDBERG 2009). Für „neofunctionalization" und „subfunctionalization" ist es nicht notwendig, zuerst den Weg der Pseudogenisierung zu beschreiten (der einzige Weg, den J/S potenziell für gangbar halten; vgl. S. 155). Unter Berücksichtigung populationsgenetischer Erkenntnisse ist gerade bei Bakterien die Wahrscheinlichkeit für „neofunctionalization" größer als in Eukaryonten wie Tieren und Pflanzen (LYNCH/CONERY 2004). Unabhängig von theoretischen Studien ist die Bedeutung der Genduplikation in der Evolution aber auch vielfach *empirisch* belegt (WOLLENBERG/SWAFFIELD 2001; TRUE/CARROLL 2002; BRIDGHAM et al. 2006; HITTINGER/CARROLL 2007; WAGNER 2008). Beispiele für „neofunctionalization" bei Bakterien liegen ebenfalls reichlich vor (LEIPE et al. 2000; PONOMAREV et al. 2003), ebenso sind viele Genduplikationen im menschlichen Genom belegt (LANDER et al. 2001; LEVY et al. 2007). Die öffentlich verfügbare Literaturdatenbank PubMed[6] verweist auf eine Vielzahl originärer Forschungsarbeiten, in denen durch positive Selektion duplizierte Gene zu neuen Funktionen führten (HITTINGER/CARROLL 2007; WATANABE et al. 2007; FAN et al. 2008; NORRIS/WHAN 2008; SCANNELL/WOLFE 2008). Neue Funktionen können aber auch ohne Genduplikation evolvieren (MEIER et al. 2007; MCLOUGHLIN/COPLEY 2008).

[6] www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez. Der Leser kann sich durch Eingabe des Stichworts „gene duplication" in die Suchzeile einen Eindruck über die gesamte Literatur verschaffen.

Aber wozu sollte sich die Evolution die Mühe machen und unablässig Funktionen *de novo* entwickeln, wenn das Gute, vielleicht sogar das viel Bessere, bereits in anderen Organismen existiert? Im Prinzip steht den Bakterien durch sog. *horizontalen Gentransfer* (HGT, „bakterieller Sex“) der gesamte, weltweite Gen-Pool zur Verfügung (LERAT et al. 2005), und das schon seit Milliarden von Jahren (WOESE 2004). Bakterien sind „hemmungslos“, was die Wahl ihrer „Sexualpartner“ betrifft (LEVIN/BERGSTROM 2000). Die dafür benötigten genetischen Mechanismen sind ebenfalls wohldokumentiert und im Labor experimentell sehr detailliert untersucht worden (THOMAS/NIELSEN 2005). Insofern stellen die heutigen Genome von Bakterien eine mosaikartige Zusammenstellung an Genen dar. Die Evolution vieler zentraler und komplexer physiologischer Merkmale (z. B. Photosynthese, aerobe Atmung, Stickstoff-Fixierung, Sulfat-Reduktion etc.) zeichnet sich durch massiven Gentransfer aus (DOOLITTLE 1999; GOGARTEN et al. 2002; BOUCHER et al. 2003; DOOLITTLE/BAPTESTE 2007).

Was geschieht nun mit den neuen Strukturen, die durch „neofunctionalization“ oder horizontalen Gentransfer entstanden sind? Der Nobelpreisträger Francois JACOB hat dafür das Wort „bricolage“ verwendet, um den flickschusterartigen Charakter vieler biologischer Strukturen zu beschreiben (JACOB 1977). Damit ist gemeint, dass biologische Substrukturen häufig in den unterschiedlichsten Systemen und Funktionszusammenhängen verwendet werden. So sind im Laufe der Evolution z. B. die Knöchelchen des Mittelohres aus Kieferknochen entstanden (LUO et al. 2007). Auf molekularer Ebene wurde beispielsweise das Funktionsprinzip von ATPasen zu verschiedenen Zwecken sowohl in der Zellmembran als auch z. B. in dem Transkriptionsterminator Rho verwirklicht (CIAMPI 2006; MULKIDJANIAN et al. 2007). Weitere Beispiele von „bricolage“ und der mehrfachen Verwertung und Weiterentwicklung von bestehenden Modulen finden sich unter anderem im DNA-Metabolismus bei Bakterien. So sind funktionell verschiedene Proteine häufig in ihrer Aminosäure-Sequenz sehr ähnlich und damit auf einen gemeinsamen Ursprung zurückzuführen (KELMAN/O'DONNELL 1995; KOONIN 1997; VISWANATHAN/LOVETT 1999; ARAVIND et al. 2000; THOMS et al. 2008).[7]

Die bisher diskutierten Mechanismen der Evolution (Diversifizierung durch Mutation und Rekombination mit anschließender Selektion der vorteilhaften Varianten) sind einigermaßen verständlich, doch spätestens damit endet das Wissen des Laien und damit auch der Horizont der öffentlichen Diskussion. Die vierte Kraft, nämlich die genetische Drift, wird meist übergangen oder völlig falsch gewichtet. Genetische Drift ist, wie natürliche Selektion, eine bedeutende evolutive Triebfeder, die ebenfalls darüber befindet, welche Individuen in einer Population

[7] Die Fülle der heute bekannten Beispiele für Genduplikation und „molecular bricolage“ anzuführen würde den Rahmen dieser Arbeit um ein Vielfaches sprengen. Die Bahn brechenden Arbeiten von Eugene KOONIN und Mitarbeitern zu diesem Thema sind auf seiner Webseite aufgelistet (www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Koonin/index.html).

ihre Eigenschaften an die nächste Generation weitervererben. Allerdings ist genetische Drift, im Gegensatz zur natürlichen Selektion, keine Funktion der Fitness der Individuen. Genetische Drift ist die Wirkung des puren Zufalls, sie kann also dazu führen, dass eigentlich positiv selektierbare Eigenschaften verloren gehen (HARTL/CLARK 2007). Ebenso kann Drift dazu führen, dass nachteilige Eigenschaften sich in einer Population verbreiten (man beachte, dass nachteilige Eigenschaften nicht zwangsläufig auch letal sein müssen) (HARTL/CLARK 2007).

Wir sehen also, dass das *Zusammenspiel* von Selektion und Drift darüber entscheidet, welche Eigenschaften sich letztendlich in einer Population etablieren (im Fachjargon: fixiert werden) (AYALA 2007); wer meint, die natürliche Selektion sei die allmächtige, alles erklärende Kraft, liegt falsch (GOULD/LEWONTIN 1979; BARTON/PARTRIDGE 2000). Tatsächlich lässt sich die Entstehung etlicher Merkmale weitaus besser unter dem Einfluss genetischer Drift als durch Selektion erklären (LYNCH 2007b). Wer allerdings glaubt, die heutige Artenvielfalt sei *ausschließlich* das Produkt des Zufalls, ohne den Mechanismus der Selektion zu berücksichtigen, der hat die grundlegenden Prinzipien der Evolution nicht weniger missverstanden. Deswegen laufen auch alle Versuche der Evolutionskritiker, mittels obskurer statistischer Ansätze auf der Basis des Zufalls die Evolution von etwas Neuem für unwahrscheinlich zu erklären, fachlich völlig ins Leere (s. Kapitel IV).

Wie groß ist nun der Einfluss der Gendrift auf die Evolution? Die Antwort hängt von der Größe der betreffenden Populationen ab. In Abhängigkeit davon entfalten Selektion und genetische Drift eine sehr unterschiedliche Wirkung. Die entsprechenden mathematischen Zusammenhänge sind seit langem sehr detailliert ausgearbeitet (KIMURA 1983; BÜRGER 2000). Im Prinzip gilt: Je kleiner die (effektive) Größe der Population, desto größer ist der Einfluss von genetischer Drift (HARTL/CLARK 2007). So lassen sich Unterschiede in den Strukturen der Genome von Bakterien, einzelligen Eukaryonten und komplexeren Mehrzellern (wie uns Menschen) in größerem Umfang besser mittels Drift als mit natürlicher Selektion erklären (LYNCH/CONERY 2003; TAUTZ/LASSIG 2004; LYNCH 2007a)[8]. Dass ein unbedingt durchgehender positiver Selektionsdruck auf allen Zwischenstufen in der Evolution von einfachen zur komplexen Eigenschaften nicht notwendig ist, ja dass einzelne Zwischenschritte auch nachteilig sein und trotzdem als essenzielle Zwischenschritte („stepping stones“) fungieren können, zeigte sich in Experimenten zur Evolution digitaler Organismen, wie kürzlich von LENSKI und Kollegen in dem angesehenen Wissenschaftsjournal „Nature“ publiziert (LENSKI et al. 2003).

[8] Eine ausgezeichnete Zusammenfassung der historischen Entwicklung unseres Verständnisses hinsichtlich der komplexen Zusammenhänge in der Evolution ist von Arlin STOLTZFUS erstellt worden (STOLTZFUS 2006; www.molevol.org/camel/publications).

3.3 Die bakterielle Flagelle: Stand der Wissenschaft

In beiden bedeutenden Domänen der Prokaryonten (dem Reich der *Bacteria* und der *Archaea*) gibt es Flagellen. Oberflächlich gesehen ähneln sich die Flagellen beider Domänen, molekular betrachtet sind sie jedoch grundverschieden (JARRELL/MCBRIDE 2008). Auch ist der molekulare Aufbau der Flagellen von Archaeen längst noch nicht so gut erforscht wie bei den Bakterien. In diesem Kapitel wird nur die *bakterielle* Flagelle besprochen, da sich die Evolutionskritik interessanterweise nur gegen die *bakterielle* Flagelle richtet (möglicherweise wird man die kritische Argumentation später auch auf die Flagelle der *Archaea* ausdehnen, wenn die Forschung zeigen kann, wie komplex diese sind).

Seit 35 Jahren weiß die Forschung um die Bedeutung der Flagelle für die Fortbewegung im flüssigen Milieu (BERG/ANDERSON 1973). Zumeist wird die Flagelle auch nur im Rahmen *genau dieser* Funktion betrachtet – tatsächlich aber muss das Thema viel weiter gefasst werden. Mechanistisch wird die Flagelle unter dem Stichwort *Proteinsekretion* eingeordnet: Bakterien müssen aus verschiedensten Gründen (z. B. Entgiftung, Kommunikation, Aufnahme wichtiger Stoffe wie z. B. Eisen) Proteine durch Kanäle in ihrer Zellmembran in das Außenmedium transportieren (mittels so genannter Sekretionssysteme). Unter den verschiedenen Transportsystemen, die den Prokaryonten zur Verfügung stehen (CHRISTIE/CASCALES 2005; HOLLAND et al. 2005; JOURNET et al. 2005; STEPHENSON 2005; THANASSI et al. 2005), ist hier besonders das Typ-3-Sekretionssystem (T3SS) (JOURNET et al. 2005) von Bedeutung (die Proteine FliH, FliI, FliO, FliP, FliQ, FliR, FlhA, FlhB; Abb. 56). Eine charakteristische Aufgabe des T3SS besteht darin, die Filamentproteine der Flagelle nach außen zu transportieren, um sie dort an die Zelle „anzubauen“. Eine weitere charakteristische Aufgabe des T3SS besteht im Export der Proteine des so genannten bakteriellen Injektisoms[9] (CORNELIS 2006). Das Injektisom ist im Prinzip eine Art Nadel, mit der ein pathogenes Bakterium in eine Pflanzen- oder Tierzelle einstechen und sog. Effektorproteine (u. a. Toxine) in die Zielzelle einspritzen kann. Mit Blick auf diese beiden Funktionen unterscheidet man flagellierte (f-) und nicht-flagellierte (nf-) T3SS (PALLEN et al. 2005c).

Die Flagelle muss aber auch im Kontext der Vielfalt von Bewegungs- (Motilitäts-)Systemen gesehen werden. Für Bakterien bieten sich überraschend viele Möglichkeiten, sich sowohl in Flüssigkeiten als auch auf festen Oberflächen fortzubewegen (BARDY et al. 2003; JARRELL/MCBRIDE 2008). Mitunter verfügen Bakterien über mehrere Motilitätssysteme gleichzeitig, so kann sich z. B. *Pseudomonas*

[9] www.genome.jp/dbget-bin/get_pathway?org_name=ko&mapno=03070

aeruginosa sowohl mittels einer Flagelle als auch durch „twitching motility“[10] mithilfe von Typ-IV-Pili[11] fortbewegen. Die Flagelle ermöglicht aber nicht nur verschiedene Formen der Motilität wie Schwimmen und Schwärmen, sie ist oft auch essenziell für Virulenz und Adhäsion (Anheftung des Bakteriums an eine Oberfläche) (McCarter 2006; Inglis et al. 2003; Rabaan et al. 2001; Lanois et al. 2008). Es gibt sogar Hinweise, die dafür sprechen, dass die Flagelle völlig unabhängig von der Funktion als Fortbewegungsorgan das Einschleusen von Virulenz-Proteinen in Wirtszellen bewerkstelligen kann (Young et al. 1999) – eine Aufgabe, die eigentlich charakteristisch für nf-T3SS ist. Es herrscht somit *Multifunktionalität*; unterschiedliche Selektionsdrücke wirken auf die Entstehung und den Erhalt der Flagelle ein.

Nachdem wir besprochen haben, in welchen funktionellen Kontext die Flagellen einzuordnen sind, widmen wir uns nun der Darstellung des molekularen Aufbaus. Dazu muss noch einmal klargestellt werden, dass sehr verschiedene Bakterienarten über Flagellen verfügen. Bisher ist nur von einigen wenigen Modellorganismen der molekulare Aufbau der Flagelle annähernd gut erforscht worden, über die Flagellen vieler anderer[12] Bakterien wissen wir derzeit noch sehr wenig. Selbst von den wenigen der besser untersuchten Modellorganismen wie *Salmonella typhimurium* und *Escherichia coli* ist das Wissen über die mechanistischen Details noch unvollständig. So musste erst kürzlich unser Wissen über die Aufgabe der ATPase, die sie in dem Komplex T3SS erfüllt, grundlegend revidiert werden (ATPasen sind in der Lage, den molekularen Energieträger ATP zu spalten und damit Energie für bestimmte Zwecke bereitzustellen). Während man bis vor kurzem der Auffassung war, dass ATPasen die Energie für den Export der Flagellenproteine bereitstellen, weiß man heute, das die Energie aus dem Protonengradienten entlang der Zellmembranen gewonnen wird. Die durch die ATPase gewonnene Energie dient lediglich dazu, die für den Export vorgesehenen Proteine zu entfalten, so dass sie in den Exportkanal hineingefädelt werden können (Minamino/Namba 2008; Paul et al. 2008).

Erst ansatzweise beginnt die Wissenschaft, die mechanistischen Details der Flagellen anderer Bakterien zu untersuchen. Dieser zeitliche Verzug beruht darauf, dass sich viele molekularbiologische Untersuchungsmethoden erst in den

---

[10] „Twitching motility“ ist eine flagellen-unabhängige Fortbewegungsart, in der Bakterien sich mit Hilfe von Pili über eine Oberfläche ziehen (www.youtube.com/watch?v=m1vJKz_bV7U).

[11] de.wikipedia.org/wiki/Pilus

[12] In diesem Kapitel werden mehrere Bakterienarten erwähnt. Zurzeit sind ca. 12.000 prokaryontische Arten taxonomisch beschrieben. Ein Überblick über die verwandtschaftlichen Beziehungen der Arten kann unter www.arb-silva.de/living-tree/ heruntergeladen werden.

letzten 20 Jahren etabliert haben und der Forschungsfokus sich zuerst auf die etablierten Modellorganismen *Salmonella* und *E. coli* konzentriert hat. Dabei förderten die bisher durchgeführten Untersuchungen eine erstaunliche Vielfalt hinsichtlich Form und Struktur der Flagellen zutage. So zeigte sich, dass insgesamt nur ein Satz von ca. 24 Genen den absolut notwendigen Kern einer funktionierenden Flagelle kodiert (LIU/OCHMAN 2007). Ein erheblicher Anteil der Flagellen-Gene ist jeweils nur in bestimmten Bakterienarten vorhanden. So fehlen z. B. die Gene *flgH* und *flgI*, die für die L- und P-Ring-Proteine kodieren (Abb. 56), bei den als *Firmicutes* bezeichneten Bakterien völlig. Der Grund ist einfach: diese Bakterien besitzen keine äußere Zellmembran. In der KEGG Datenbank kann sich der Leser selber ein Bild machen, welches Bakterium über welche Flagellen-Gene verfügt[13] und somit einen Eindruck der molekularen Vielfalt gewinnen.

Die Vielfalt an unterschiedlichen Genausstattungen für die Flagelle führt auch zu unterschiedlichen biochemischen und morphologischen Strukturen. So gibt es Flagellen, die sich am Ende der Zelle befinden (polare Position), andere gehen von der Zellmitte aus (lateral). Für beide Flagellensysteme gibt es unterschiedliche Sätze von Genen, z. T. sogar innerhalb des gleichen Organismus (*Vibrio parahaemolyticus*) (MCCARTER 2004). Interessanterweise kann auch die zur Rotation benötigte Art der Energiegewinnung der beiden Flagellensysteme variieren: mal ist es der Gradient von Wasserstoffionen (Protonen), mal kommen Natriumionen zum Einsatz (MCCARTER 2004). Eine ganz faszinierende (und auch im Prinzip recht „unintelligente“) Variante stellt z. B. die Flagelle von Spirochäten dar. Hier ragt die Flagelle nicht einmal in die Zellumgebung; stattdessen ist sie zwischen der inneren und äußeren Zellmembran lokalisiert. Insofern ist die Flagelle in ihrer Funktion als Propeller sehr ineffizient, gleichwohl bewirkt die korkenzieherartige Rotation der Flagellen um den Zellkörper herum eine gewisse Beweglichkeit[14].

Fazit: Im Rahmen der Diskussion über die Evolution der Flagelle muss unbedingt bedacht werden, dass das „Grundmuster“ aller bisher bekannten bakteriellen Flagellen im Prinzip zwar gleich ist (dabei aber anders als die deutlich unterschiedlich gestalteten Flagellen der *Archaea* und der *Eukaryonten*), jedoch auf verblüffend vielfältige Art und Weise variiert. Wie viele Variationsmöglichkeiten es gibt, lässt sich heute noch kaum abschätzen. Heute kennt man über 85 Hauptgruppen[15] von Bakterien, von denen der größte Teil nicht kultivierbar ist, also molekular bisher nicht im Detail untersucht werden kann. Bisher wurden die Genomsequenzen von über 900 Bakterien entschlüsselt, die Genomsequenzen von ca. 2.200 weiteren Bakterien werden zurzeit ermittelt[16]. Doch 82% der be-

[13] www.genome.ad.jp/kegg/pathway/eco/eco02040.html
[14] www.youtube.com/watch?v=O0y7X5acK8M
[15] www.arb-silva.de/fileadmin/silva_databases/living_tree/LTP_tree_s93.svg
[16] www.genomesonline.org

arbeiteten Genomsequenzen erstrecken sich auf ganze drei der 85 Hauptgruppen (*Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*)[17]. Die molekular am besten untersuchten Flagellensysteme (*E. coli*, *S. typhimurium* und *Vibrio alginolyticus*) gehören sämtlich zur Untergruppe „γ“ der Proteobakterien. Dies ist alles andere als repräsentativ für die Vielfalt der Bakterien. Insofern ist die aktuelle Datenbasis zur Flagelle extrem gering, so dass es bisher noch nicht möglich ist, detailliert die Evolution der Flagellen und T3SS nachzuzeichnen. Aber gerade aufgrund der geringen Datenbasis sind Behauptungen, dass die Flagellen und T3SS kaum das Ergebnis von Evolution sein könnten, nicht nachvollziehbar. In anderen Worten: Die oft vorgenommene Fokussierung auf den Flagellentyp von *S. typhimurium* ist kaum angemessen, wenn es um die Frage der Evoluierbarkeit der Flagelle im Allgemeinen geht.

Sind Flagellensysteme irreduzibel komplex?

Es ist sicher so, dass die Flagellensysteme individueller Zellen meist irreduzibel komplex sind in dem Sinne, dass die Entfernung nur eines an der Flagellenausbildung beteiligten Proteins dazu führt, dass keine funktionelle Flagelle ausgebildet werden kann. Allerdings gibt es vereinzelt Ausnahmen. Das Flagellen-Protein FliL beispielsweise ist in den Flagellensystemen vieler Bakterien vorhanden und oftmals auch essenziell für die Motilität (BELAS/SUVANASUTHI 2005). Bei *Salmonella enterica* jedoch führt eine komplette Entfernung von FliL nur zu einem Verlust der Fähigkeit zum Schwärmen, während die Schwimmfunktion nahezu vollständig aufrechterhalten wird (ATTMANNSPACHER et al. 2008). Dies legt den Schluss nahe, dass das System „Flagelle“ in seiner Funktion in den unterschiedlichsten Bakterien durchaus flexibel ist. So können sich essenzielle Komponenten im Bakterium der Art X als entbehrlich im Bakterium der Art Y erweisen. Ein weiteres Beispiel sind die Motorproteine von *V. alginolyticus*. Zusätzlich zu den bekannten Motorproteinen MotA und MotB (bei *V. alginolyticus* werden diese als PomA und PomB bezeichnet) benötigt dieser Organismus unbedingt noch die Proteine MotX und MotY für eine funktionierende Flagellenrotation (OKABE et al. 2005). Interessanterweise werden diese Proteine bei den molekular detailliert untersuchten flagellaren Modellsystemen aber nicht benötigt. Abgesehen von einem Kern an essenziellen Flagellenproteinen sind also je nach Bakterienart verschiedene Flagellenkomponenten entbehrlich[18] (PALLEN et al. 2005b; PALLEN/MATZKE 2006; LIU/OCHMAN 2007; PALLEN/GOPHNA 2007).

---

[17] www.genomesonline.org/gold_statistics.htm; Abb. 4: Phylogenetic Distribution of Bacterial Genome Projects; Abb. 8: Bacteria Phyla with Genome Projects

[18] www.genome.ad.jp/kegg/ortholog/tab02040.html

Wie flexibel / robust sind Flagellensysteme? Könnten mutative Störungen durch andere Mutationen ausgeglichen werden?

Bei *E. coli* treiben die Proteine MotA und MotB die Hauptantriebswelle („vordere Achse“, Abb. 56) an und versetzten somit die Flagelle in Rotation. Entfernt man MotB vollständig, so wird zwar eine komplette Flagelle ausgebildet. Diese kann sich aber wegen des Fehlens eines zentralen Motor-Proteins (MotB) nicht drehen (BERG 2003). Entfernt man MotB nicht vollständig, sondern erzeugt nur Mutationen im Gen, welches für MotB kodiert, führt dies in ebenfalls fast allen Fällen zu einem vollständigen Verlust der Beweglichkeit (BLAIR et al. 1991). Einige Forscher fragten sich nun, ob Mutationen in MotA oder anderen Motor-assoziierten Proteinen (FliG, FliM and FliN) die MotB- Mutationen „supprimieren“ könnten (der Fachausdruck für ein funktionelles Ausgleichen oder „Abfangen“ der MotB- Mutationen durch eine neue zusätzliche Mutationen in anderen Genen). In der Tat: Etliche der im Labor mutierten MotA-Proteine (aber auch FliG und FliM, Komponenten der Hauptantriebswelle) konnten in Kombination mit verschiedenen mutierten MotB-Varianten die Beweglichkeit vollständig wiederherstellen (GARZA et al. 1995; GARZA et al. 1996). Ein Beispiel für eine weitere Suppressions-Reparatur findet sich bei *Campylobacter jejuni*. Die erste „zerstörerische“ Mutation im Gen *flgS* führte dazu, dass eine Flagelle gar nicht erst aufgebaut werden konnte. Verschiedene zusätzliche Mutationen (entweder in *flgS*, oder auch in einem zweiten Gen, *flgR*) führten jedoch wieder zu flagellierten und beweglichen Zellen (HENDRIXSON 2008). Dies sind klare Hinweise darauf, dass die mutative Zerstörung essenzieller Flagellen-Gene durch anschließende Mutationen in anderen Flagellen-Genen aufgefangen werden kann.

Das wiederum bedeutet zweierlei: Erstens scheint das „System Flagelle“ nicht so leicht durch Mutationen *irreversibel* zerstörbar zu sein. Was für die heutige Flagelle gilt, trifft wohl auch auf die jeweiligen Zwischenstufen in der Evolution der Flagelle zu. Zweitens tragen Suppressor-Mutanten, die ohne einen vorherigen Funktionsverlust nicht hätten positiv selektiert werden können, auf diesem *indirekten* Weg zur Vielfalt der Flagellensysteme bei und könnten dadurch möglicherweise der Flagelle neue evolutionäre Entwicklungswege eröffnen.

Evolution von T3SS: Was war zuerst da, Flagelle oder Injektisom?

Die Flagelle (f-T3SS) und das Injektisom (nf-T3SS) erfüllen sehr verschiedene Aufgaben, werden aber beide mittels eines Typ-3-Sekretionssystems (T3SS) in das Zelläußere exportiert. f-T3SS kommen sowohl in grampositiven als auch in gramnegativen Bakterien vor, nf-T3SS existieren vornehmlich in gramnegativen Bakterien und werden dort hauptsächlich mit tier- oder pflanzenpathogenen Bakterien in Verbindung gebracht. Damit stellt sich die Frage, ob zuerst die nf-T3SS

evolviert sind, so dass aus diesen dann die f-T3SS entstanden sind (Szenario 1, Abb. 57)? Oder war die Reihenfolge umgekehrt (Szenario 2, Abb. 57)? Oder evolvierten f-T3SS und nf-T3SS unabhängig voneinander aus einem bisher nicht näher spezifizierten T3SS-Export-System (Szenario 3, Abb. 57)? Interessanterweise ist diese Frage noch nicht geklärt. Die Argumente für die einzelnen Positionen werden hier schlaglichtartig dargestellt.

Szenario 1, wonach zuerst die nf-T3SS (Injektisomen) und aus diesen dann die f-T3SS (Flagellen) entstanden sind, wird in der wissenschaftlichen Literatur so gut wie nicht vertreten. Interessanterweise ist es aber das einzige Modell, das J/S diskutieren, und es entsteht in dem Kapitel (S. 160) der falsche Eindruck, dass hauptsächlich dieses Modell von den Wissenschaftern in Erwägung gezogen würde (nähere Erläuterungen weiter unten). Tatsächlich aber werden nur die Szenarien 2 und 3 ernsthaft diskutiert.

GALÁN/COLLMER (1999); MACNAB (1999); NGUYEN et al. (2000); SAIER (2004) vertreten Szenario 2. Für dieses spricht, dass die f-T3SS sehr verbreitet sind (sowohl bei grampositiven als auch bei gramnegativen Bakterien), während die nf-T3SS nur bei gramnegativen Bakterien zu finden sind. Zudem findet man nf-T3SS vornehmlich in tier- und pflanzenpathogenen Bakterien. Die Wirtsorganismen (Tiere und Pflanzen) sind evolutiv allerdings erst viel später entstanden als die Bakterien. Somit sei gegenwärtig kein Selektionsdruck erkennbar, wonach sich erst die nf-T3SS entwickelt haben und daraus dann die f-T3SS entstanden sein sollten.

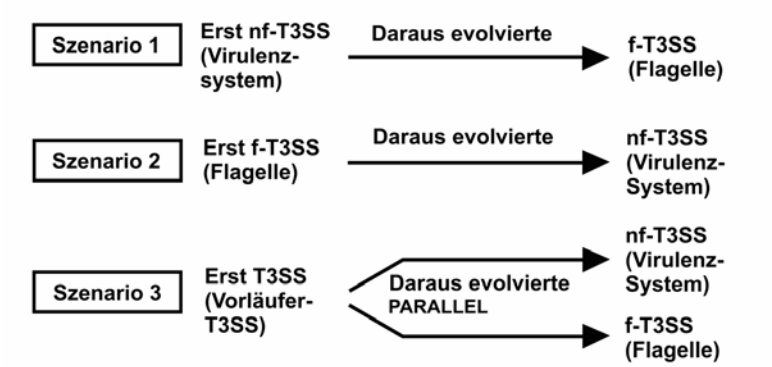


Abb. 57 Szenarien der evolutionären Abfolge von f-T3SS und nf-T3SS.

Diese Hypothese wird von Vertretern von Szenario 3 kritisiert (AIZAWA 2001; GOPHNA et al. 2003; PALLEN et al. 2005c; PALLEN/GOPHNA 2007). Diese berufen sich unter anderem darauf, dass die evolutionäre Ableitung eines nf-T3SS aus einem flagellierten T3SS erheblich aufwändiger wäre als eine unabhängige Evolution beider Systeme von einem gemeinsamen Vorfahren. So würde Szenario 2 sieben Schritte erfordern: Erst hätte sich der Motor, dann der Chemotaxis-Apparat und dann die Expressionsregulation entwickeln müssen. Anschließend aber hätten in der Entwicklungslinie, die zum letzten gemeinsame Vorfahren aller

nf-T3SS-Systeme führte, all diese Merkmale wieder verloren gehen müssen (PALLEN et al. 2005c). Es ist einsichtig, dass ein solches Szenario aus Parsimonie-Gründen[19] nicht den Top-Favoriten darstellt, denn eine parallele Evolution von f-T3SS und nf-T3SS würde nur vier Schritte erfordern: Die Entwicklung des Motors, des Chemotaxis-Apparats und dann jeweils parallel dazu die Entwicklung der f-T3SS-spezifischen Expressionsregulation sowie des nf-T3SS-spezifischen Translokations-Apparats (PALLEN et al. 2005c). Es bleibt somit festzuhalten, dass wissenschaftlich noch nicht völlig klar ist, in welcher Reihenfolge f-T3SS und nf-T3SS evolvierten. Es muss aber auch betont werden, dass – unabhängig von der Frage, ob Szenario 2 oder 3 zutrifft – ein ganzes Bündel von Belegen für die evolutionäre Verwandtschaft beider Systeme spricht, was in der Fachwelt auch niemand bezweifelt.

Welche Elemente innerhalb von f- und nf-T3SS spiegeln die Einwirkung bekannter Evolutionsmechanismen wieder?

Wie oben erläutert, sind horizontaler Gentransfer, Genduplikation und „molekulare Flickschusterei“ (molecular bricolage) zentrale molekulare Mechanismen der Evolution. Diese Mechanismen, die häufig auch im Verbund wirken, wurden weiter oben anhand mehrer Beispiele erörtert, die nicht im Zusammenhang mit der Flagelle stehen. Lässt sich der Einfluss dieser Mechanismen auch in der Flagellenevolution nachweisen? Dies ist, wie im Folgenden anhand einiger Beispiele besprochen werden soll, tatsächlich der Fall.

- **Horizontaler Gentransfer**

Das Bakterium *Rhodospirillum centenum* besitzt zwei Flagellensysteme, eines für polare, das andere für seitlich (lateral) ausgebildete Flagellen. Jedes dieser Flagellensysteme besitzt einen eigenen Satz der Rotorproteine FliG, FliM und FliN (Abb. 56). Mittels Sequenzvergleich konnte gezeigt werden, dass diese Proteine sehr eng miteinander verwandt und daher offenbar durch Genduplikation entstanden sind (MCCLAIN et al. 2002). Zum Rotieren der Flagellen sind aber nicht nur Rotorproteine, sondern auch sog. Stator-Proteine nötig, welche den eigentlichen Motor (den molekularen Ursprung der Antriebskraft) darstellen (MotA und MotB). Hier konnte bei *Rhodospirillum centenum* gezeigt werden, dass die Proteinsätze MotA und MotB für die beiden Flagellensysteme desselben Organismus nicht durch eine Genduplikation entstanden sind, sondern dass MotAB für die polare Flagelle ganz offensichtlich durch horizontalen Gentransfer von verwandt-

[19] Dieses Sparsamkeitsprinzip besagt, dass von mehreren Hypothesen, die den gleichen Sachverhalt erklären, die einfachste zu bevorzugen ist(de.wikipedia.org/wiki/Parsimonie).

schaftlich relativ weit entfernten Bakterien rekrutiert wurde (McCLAIN et al. 2002). Auch das Bakterium *Rhodobacter sphaeroides* besitzt zwei Flagellensysteme – hier wurde das zweite Flagellensystem gar *als Ganzes* durch horizontalen Gentransfer erworben (POGGIO et al. 2007).

- **„Molecular bricolage“**

(I) Die Proteine des L- and P- Rings werden nicht durch das T3SS exportiert, sondern durch den Sec-abhängigen Protein-Transportweg (CHEVANCE/HUGHES 2008). Das heißt, es werden verschiedene Protein-Exportsysteme verwendet, um eine einzige biologische Struktur, nämlich die funktionierende Flagelle, zu exportieren.

(II) Zum Motor: die Verwendung von Protonengradienten entlang der Zellmembran ist das zentrale Prinzip bakterieller Energiegewinnung (SAIER 2000; POSTLE/KADNER 2003).[20] Die membranständigen Proteine ExbBD und TolQR, welche der Nährstoffaufnahme dienen, sind eng mit MotA und MotB, den Motorproteinen der Flagelle, verwandt (CASCALES et al. 2001; ZHAI et al. 2003); die entsprechenden Gensequenzen weisen einen derart hohen Grad an Übereinstimmung auf, dass von einem gemeinsamen Ursprung auszugehen ist (SAIER 2003). Im gleichen Maß wie ExbBD und TolQR nutzen auch MotA und MotB den Protonengradienten aus, aber eben nicht zum Transport von Nährstoffen, sondern um die Rotation der Flagelle zu bewerkstelligen! Es ist daher offensichtlich, dass sich in der Evolution der bakteriellen Flagelle kein eigenständiges Motorsystem zu entwickeln brauchte. Stattdessen könnte sehr wohl die für die ExbBD- und TolQR-Systeme charakteristische Eigenschaft (strukturelle Änderung der Proteine infolge des Protonentransports durch die Zellmembran) einfach für die Rotation der Flagelle rekrutiert worden sein. Das Protein MotA ist dem ExbB sehr ähnlich, besitzt dieselbe 3D-Struktur und besitzt auch die gleichen zentralen Aminosäuren zur Protonenübertragung (BRAUN et al. 1996; KOJIMA/BLAIR 2001). Es interagiert direkt mit FliG, einem Protein der Hauptantriebswelle (KOJIMA/BLAIR 2004).

Am einfachsten kann man sich das Funktionsprinzip mithilfe eines plakativen Vergleichs vorstellen: Man denke an den legendären Tritt von Jürgen KLINSMANN in eine Werbetonne[21], als er bei einem Spiel von Bayern München von seinem Trainer Giovanni TRAPPATONI ausgewechselt wurde. Hätte er die Tonne seitlich gestreift, wäre sie ins Rotieren geraten. Nun stelle man sich vor, die Tonne repräsentiere die Hauptantriebswelle (rod) der Flagelle und Klinsmann das Protein MotA. Jedes Mal, wenn Klinsmann ein Proton aufnimmt, prallt sein Fuß aufgrund

[20] www.genome.jp/dbget-bin/get_pathway?org_name=ko&mapno=00190
[21] video.google.com/videoplay?docid=-8289766033896071017

einer strukturellen Veränderung gegen die Tonne: die Tonne dreht sich. Gibt er das Proton wieder ab, zieht sich der Fuß wieder zurück. Kurz darauf nimmt er ein neues Proton auf usw. Auf diese Weise gerät die Tonne dauerhaft ins Rotieren. Die Rotation wird vermutlich jedoch nicht durch eine direkte, mechanische Interaktion von MotA mit FliG in Gang gesetzt wird, sondern eher durch Anziehung/Abstoßung mittels elektrostatischer Wechselwirkung aufgrund des Protonen-Flusses. Die entsprechenden Modelle werden zurzeit in der Fachliteratur diskutiert (KOJIMA/BLAIR 2004).

(III) Bei alledem gibt es nicht nur Hinweise auf *molekulare* Flickschusterei, auch *funktionelle* Flickschusterei scheint möglich zu sein. Wie oben betont wurde, fungiert die Flagelle des Bakteriums *Yersinia enterocolitica* nicht nur als Antriebseinheit, sondern kann unabhängig davon auch dazu genutzt werden, Proteine in Wirtszellen zu injizieren („Doppelfunktion") (YOUNG et al. 1999) – eine Aufgabe, die eigentlich charakteristisch für nf-T3SS ist.

- **Genduplikation**

Die Proteine des f-T3SS (FlgB, FlgC, FlgE, FlgF, FlgG und Hap1/FlgK) sind so sequenzähnlich, dass die Abstammung von einem gemeinsamen „Urgen" evident ist (HOMMA et al. 1990; PALLEN et al. 2005b). Auch in nf-T3SS gibt es Hinweise für Genduplikation mit anschließender Diversifikation: Die Proteine PrgI bzw. MxiH und PrgH bzw. MxiI, welche allesamt am Aufbau des Nadelkomplexes beteiligt sind, entstammen jeweils einer Genduplikation (PALLEN et al. 2005a). Die Genduplikation, die zu den Rotorproteinen jeweils für polare und laterale Flagelle bei *Rhodospirillum centenum* führte (MCCLAIN et al. 2002), wurde oben schon erläutert.

Welche Modelle zur Evolution der f-/nf-T3SS stehen heute zur Verfügung?

Es verbleibt die zentrale Frage: Wie genau evolvierte die bakterielle Flagelle (und ihr kongenialer Partner, das bakterielle Injektisom)? Obwohl die heutigen Erkenntnisse die enge Verwandtschaft der Flagelle mit dem Injektisom belegen, lässt sich aufgrund mangelnder Datenbasis der *detaillierte* Verlauf der Evolution noch nicht mit Sicherheit rekonstruieren. Es ist nicht einmal klar, ob dies jemals möglich sein wird. Dies ist aber auch nicht der Punkt, um den es hier geht. Die Frage, die sich der Biowissenschaftler stellen muss, lautet: Kann die Wissenschaft plausible und belastbare *Modelle* aufstellen, die eine Evolution der Flagelle (bzw. einen möglichen Evolutionsweg) *erklären* können? Diese Frage ist eindeutig mit „ja" zu beantworten. Ein solcher Evolutionsweg soll im Folgenden vorge-

stellt werden. Dabei wird sich zeigen, dass heute ausreichend Kenntnisse vorliegen, um den Schluss zu rechtfertigen, dass die Evolution der Flagelle *möglich* ist, auch wenn wir die letzten Details ganz sicher niemals rekonstruieren werden.

Die Erstellung eines Evolutionsmodells muss zwangsläufig erst einmal spekulativ sein. Spekulationen (Hypothesen) sind der Stoff, aus dem Ideen für weitere wissenschaftliche Forschungen gewonnen werden. Jeder Wissenschaftler erstellt Hypothesen und Modelle in seiner täglichen Arbeit, denen er dann experimentell nachgeht. Nicholas MATZKE[22] hat mit profundem Fachwissen ein beeindruckendes und belastbares Modell zur Evolution des bakteriellen Flagellensystems erarbeitet und im Internet veröffentlicht[23].

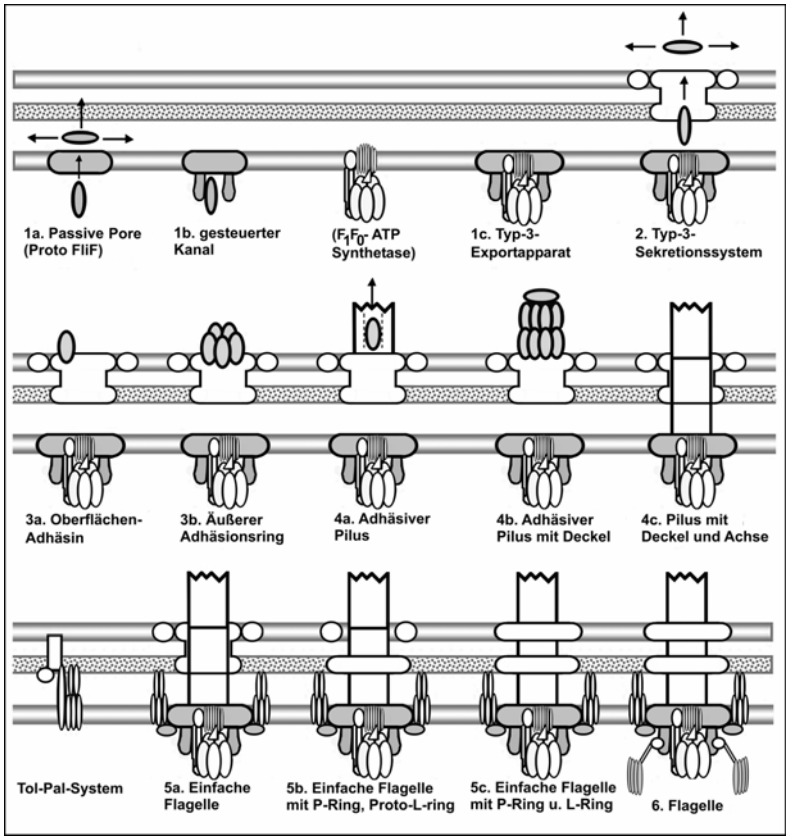


Abb. 58 Hypothetisches Szenario der Evolution der bakteriellen Flagelle (Abb. 7 aus dem Essay von Nicholas MATZKE „Evolution in Brownian Space“, verändert).

MATZKE postuliert folgenden Evolutionsweg (Abb. 58): Die Evolution der Flagelle beginnt mit der Entwicklung einer passiven Pore in der inneren Zellmembran, die durch das Hinzufügen einer (*im Genbestand bereits vorhandenen!*) Energiepumpe (ATPase) zu einem aktiven Transporter wurde – einem sehr primitiven Typ-3-Exportapparat. Dieser Apparat kann Stoffe in den periplasmatischen Raum (der

[22] en.wikipedia.org/wiki/Nick_Matzke
[23] www.talkreason.org/articles/flag.pdf

zwischen der inneren und der äußeren Zellmembran liegt) ausschleusen. Damit ist ein Selektionsdruck denkbar, der diesen ersten Schritt belohnen konnte. Entsteht zu einem späteren Zeitpunkt durch Hinzufügen eines Sekretins zusätzlich eine Pore in der *äußeren* Zellmembran, können die Stoffe aktiv in die Zellumgebung transportiert werden. Über Adhäsions-Proteine („Adhäsine"), welche sich dann an dem äußeren Ring anlagern, kann sich die Zelle auch an andere Oberflächen anlagern und z. B. so die Biofilmbildung bewirken (Biofilme repräsentieren eine Art Sozialleben von Bakterien, das ihnen verschiedene Vorteile verschafft, z. B. Schutz vor Antibiotika und vor Fressfeinden).

Der selektierbare Vorteil von Adhäsinen – die Anheftung an andere Oberflächen – würde natürlich noch dadurch verstärkt, wenn das Adhäsin mittels fadenförmiger Zellfortsätze noch weiter in die Umgebung des Bakteriums herausragen könnte, z. B. indem die Adhäsine die Fähigkeit entwickeln, aneinander zu kleben, also Fortsätze zu bilden. Diese Zellfortsätze nennt man „Pilus"[24], und es ist in der Tat Konsens, dass „Pili" zur verbesserten Adhäsion evolvierten (TELFORD et al. 2006). Durch Anlagerung weiterer (Adhäsin-) Proteine könnte dieser Pilus stufenlos in seiner Struktur optimiert worden sein[25]. So ist seit langem bekannt, dass sich Adhäsine an der Spitze von Pili befinden können (LINDBERG et al. 1987). Adhäsion kann aber auch durch den Basisbaustein von Flagellenfilamenten, das Protein FliC, vermittelt werden (LILLEHOJ et al. 2002)

Wird zu einem späteren Zeitpunkt die „Ankerfunktion" des Pilus nicht genutzt, bringt die Rekrutierung bestimmter Proteine aus dem oben erwähnten Tol/Pal-System (ExbBD und TolQR) weitere entscheidende Selektionsvorteile, da sie aufgrund ihrer Fähigkeit, ihre Struktur abwechselnd in einer bestimmten Weise zu verändern, einen Pilus in Rotation versetzen können: ein einfaches Flagellensystem ist entstanden. Um die Rotation effizienter zu gestalten, verloren die Sekretine später ihre feste Bindung zu dem axialen Filament des Pilus und bildeten sich zu P- und L-Ring um. In den letzten Schritten verband sich dieses System mit dem Signal-Transduktionsweg der Chemotaxis. Damit ist eine schrittweise Evolution der Flagelle möglich, wobei praktisch jeder Zwischenschritt durch die Selektion belohnt wird.

Doch wie wahrscheinlich ist das dargelegte Szenario? William A. DEMBSKI, einer der überzeugtesten Verfechter des Intelligent Design, lehnt das Szenario ab und bezeichnet es recht despektierlich als „another exercise in Darwinian storytelling"[26] – eine weitere DARWINsche Geschichte. Hat DEMBSKI recht mit dieser Behauptung? Ja und nein. Es ist in der Tat richtig, dass das hier dargelegte Modell *eine* Möglichkeit, *eine* der möglichen „Geschichten" darüber ist, wie es sich

[24] de.wikipedia.org/wiki/Pilus
[25] www.youtube.com/watch?v=SdwTwNPyR9w
[26] www.arn.org/docs/dembski/wd_biologusubjunctive.htm

einst zugetragen haben könnte. (Und natürlich beruht auch das lineare Szenario der Evolutionsgegner auf „story-telling“!) In der Tat ist noch nicht klar, ob dieses hypothetische Evolutionsszenario von MATZKE historisch tatsächlich im Detail korrekt ist – es ist eben ein Modell. Dies aber ist, und das hat DEMBSKI offensichtlich nicht verstanden, gar nicht unbedingt der Punkt! Ein sehr wichtiges Ziel naturwissenschaftlicher Forschung ist die Modellbildung. Worauf es hierbei ankommt, ist, dass jedes Modell, jede Geschichte über die möglichen Wege der Evolution molekularbiologisch *begründbar* sein muss, während ein detailgetreues Nachzeichnen der tatsächlich erfolgten molekularbiologischen Schritte für die Plausibilität eines Modells zwar wünschenswert, aber nicht zwingend notwendig ist. MATZKEs Modell *ist* molekularbiologisch begründet, da alle notwendigen molekularbiologischen Mechanismen bekannt und die im Modell enthaltenen Randbedingungen entsprechen, wie das vorliegende Kapitel zu zeigen beabsichtigt, biologischem Hintergrundwissen.

Nachdem eine Reihe von Modellen über den Verlauf der Evolution erstellt wurde, müssen die verschiedenen Szenarien („Darwinian stories“) gegeneinander abgewogen bzw. anhand der Daten überprüft werden (PENNOCK 2004)[27]. Bezüglich des Modells von MATZKE stellt sich folgende Frage: Lassen sich die einzelnen (hypothetisch postulierten) Abfolgen mit den heute bekannten und empirisch belegten Evolutionsmechanismen erklären und mit den empirischen Daten in Einklang bringen? Wenn dies gelingt, dann hat sich das Modell bewährt. Die Kritiker des Modells müssten dann versuchen, es zu falsifizieren, also anhand entsprechender Daten zeigen, dass sich die Evolution doch nicht auf diese Weise vollzogen haben kann.

MATZKE begründet sein Szenario hauptsächlich damit, dass viele der von ihm postulierten Zwischenstufen so oder in einer ähnlichen Weise noch in den heutigen Bakterien existieren. Beispielsweise sind biologische Strukturen, welche (energiegetrieben oder passiv) den Export von Substanzen aus der Zelle heraus ermöglichen, in heutigen Bakterien in einer Vielzahl von Ausformungen (von ganz einfach bis schon recht komplex) realisiert (MATZKE, Abb. 7, Schritte 1–2; SAIER 2000). Die Vielfalt der bakteriellen Export-Systeme ist seit langem bekannt (FATH/KOLTER 1993) und wurde in einer Datenbank katalogisiert[28]. Ebenso wurden Transporter-Systeme beschrieben, die mal mit einem Protonengradienten (PMF), mal aber auch mit einer ATPase betrieben werden (SAIER 2000). Weiterhin sind zahlreiche Mechanismen bekannt, mit denen sich Bakterien an Oberflächen anheften können (MATZKE, Abb. 7, Schritt 3; O'TOOLE et al. 2000).

Natürlich gibt es auch diverse real existierende Beispiele für die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen mittels verschiedener Pilin-Systeme (MATZKE, Abb.

[27] www.msu.edu/~pennock5/research/papers/Pennock_TeachingEvoNatureSci.pdf

[28] www.biology.ucsd.edu/~msaier/transport/

7, Schritt 4; SAUER et al. 2000; KOEBNIK 2001; MATTICK 2002). Ebenso ist bekannt, dass Flagellen-Systeme selber an Adhäsionen beteiligt sind (RABAAN et al. 2001; INGLIS et al. 2003; KIROV et al. 2004).[29] Die molekulare Grundlage der adhäsiven Wirkung von Flagellen ist bisher unbekannt (ERDEM et al. 2007), allerdings wurde erst kürzlich gezeigt, dass die Adhäsion von *E. coli*-Flagellen an eukaryontische Wirtszellen nur mittels eines nach außen sekretierten adhäsiven „Vermittler-Proteins“ (ROY et al. 2008 a,b) erfolgt. Möglicherweise war somit gar keine separate Entstehung einer adhäsiven Protein-Domäne in Flagellen- (oder Pilin-) Proteinen notwendig. Stattdessen wurde einfach ein schon vorhandenes adhäsives Element (das „Vermittler-Protein“) wiederverwendet („molecular bricolage“).

Der Übergang von einer Pilus-artigen Struktur zu einer sich drehenden Flagelle ist zwar noch weitestgehend ungeklärt, die verblüffende Ähnlichkeit zwischen der Flagelle der Archaea und den Typ-IV-Pili der Bakterien zeigt aber auf, dass grundsätzlich eine Rekrutierung von Pili-Systemen für Flagellen-Systeme möglich ist (PEABODY et al. 2003; TRACHTENBERG et al. 2006). Wenn also DEMBSKI auf seiner Webseite (s. Fußnote) schreibt, dass keiner der postulierten Zwischenschritte anhand rezenter Systeme nachvollzogen werden könne, geschweige denn positiv von der Selektion bewertet würde, so zeugt dies im besten Falle von erschreckendem, fachlichem Unwissen.

Wie lassen sich nun die evolutionären Übergänge mithilfe molekularer Mechanismen erklären? Die Evolution von Transporter-Systemen ist beschrieben worden (SAIER 2003), inklusive der Einbindung von wahlweise PMF oder ATPase als Energiesystem (SAIER 2000). Das Prinzip der „molecular bricolage“ ist seit langem bekannt (JACOB 1977) und wird individuenübergreifend auch durch horizontalen Gentransfer ermöglicht. Die Evolution strukturell neuer bzw. mit neuen Funktionen ausgestatteter Proteine ist auch bekannt, wie weiter unten noch detaillierter erläutert wird (CORDES et al. 2000; MEIER et al. 2007; YEATES 2007). Genduplikation ermöglicht, dass neue Protein-Varianten ohne Risiko erprobt werden können (das Risiko besteht nur für das Individuum, welches eine nachteilige Modifikation der duplizierten Genkopie nicht überleben wird, aber nicht für die Art).

---

[29] Adhäsion an Oberflächen ist eine unter Bakterien sehr weit verbreitete Eigenschaft. Tatsächlich gibt es so gut wie keine Bakterienarten, von denen bekannt ist, dass sie sich nicht mithilfe von Adhäsinen an Oberflächen anheften können (AN/FRIEDMAN 2000; DUNNE 2002). Während für eine einfache Erst-Adhäsion simple elektrostatische Wechselwirkungen ausreichen (RAZATOS et al. 1998) gibt es für eine feste Adhäsion ein immens großes Spektrum an Adhäsions-Molekülen (PIZARRO-CERDÁ/COSSART 2006).

Dass manche Bakterien in Teilen augenscheinlich unsinnige Genkombinationen zeigen, verdeutlicht einmal mehr das Prinzip „Spielwiese der Evolution“. So hat das Bakterium *Leptospira interrogans* eine periplasmatische Flagelle (das heißt sie befindet sich zwischen innerer und äußerer Zellmembran) (CHARON/GOLDSTEIN 2002), besitzt aber ebenfalls die Gene für die L- und P-Ringe[30] in der äußeren Zellmembran (PALLEN et al. 2005b). Dies ergibt aus der Sicht eines Ingenieurs bzw. Designers keinen Sinn, denn wozu bräuchte *L. interrogans* Flagellen-Löcher in der äußeren Membran, wo sich die Flagelle doch im Periplasma[31] befindet? Was dem auf maximale Effektivität und rationelles Design bedachten Menschen als unsinnig erscheinen mag, ist aus naturwissenschaftlicher Sicht nur eine Momentaufnahme evolutiver Spielerei, die aktuell nicht vorteilhaft zu sein scheint, aber auch nicht so nachteilig ist, dass sie durch Selektion ausgemerzt wird.[32]

Die Logik, nach der MATZKE sein Gedankenmodell zur Evolution der Flagelle aufbaut, folgt einem ganz zentralen und wichtigen wissenschaftlichen Prinzip, nämlich dem Parsimonie-Prinzip. Nach diesem Prinzip wird mit Blick auf die Datenlage immer die sparsamste und schlüssigste Erklärung bevorzugt. Insofern konstruiert MATZKE ein Modell, welches sehr geradlinig, vom einfachen zum komplexen, die Bestandteile der Flagelle (bei voller Gewährleistung der Funktionalität aller Zwischenstufen) aneinander fügt.

Gibt es nun, außer den oben geschilderten Daten, noch weitere Belege für MATZKEs Modell? Ja, und die Daten liefert die Flagelle selbst: Der Aufbau der Flagelle und der molekulare Zusammenbau aller Komponenten vollziehen sich natürlich nicht in einem einzigen Schritt. Vielmehr muss der Aufbau zeitlich und räumlich sehr präzise koordiniert werden. Es ist experimentell ermittelt worden, in welcher Reihenfolge die Komponenten des Flagellenapparats zusammen gebaut werden. Es ist bemerkenswert, dass die Abfolge der einzelnen Schritte in ihrer zeitlichen und räumlichen Ausprägung dem MATZKE-Modell zur Evolution der Flagelle grundsätzlich sehr ähnelt. Zuerst wird ein Loch in die innere Cytoplasmamembran getrieben, welches dann zu einem T3SS ausgebaut wird. Dann wird die Hauptantriebswelle erstellt, anschließend die Flagelle mit ihrem Haken exportiert, und zum Schluss werden die Motorproteine angebaut (KOJIMA/BLAIR 2004).

---

[30] www.genome.jp/dbget-bin/get_pathway?org_name=lil&mapno=02040

[31] gsbs.utmb.edu/microbook/images/fig35_2.JPG

[32] Es ist auch nicht auszuschließen, dass die vormaligen „Flagellen-Löcher“ in der Außenmembran andere Aufgaben erfüllten, z. B. den Durchtritt von Metaboliten ermöglichten.

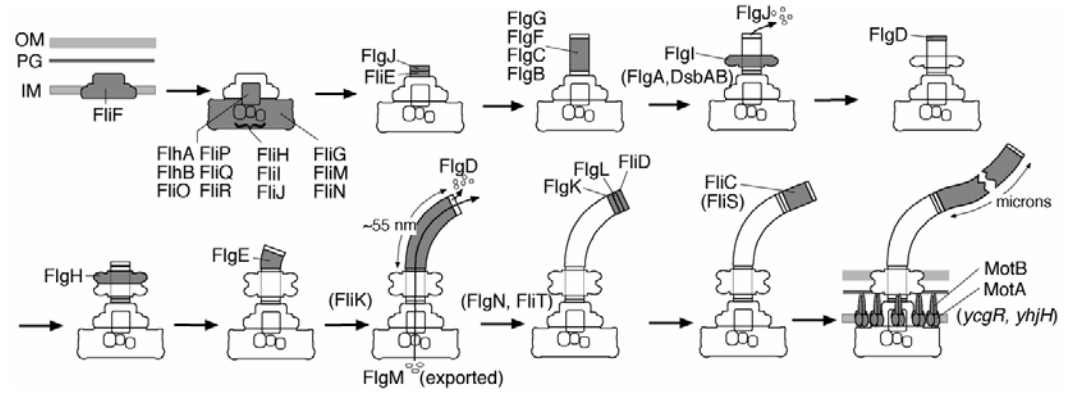


Abb. 59 Zeitlicher Ablauf des zellulären Aufbaus einer Flagelle. Die Reihenfolge spiegelt nach heutigem Wissensstand ungefähr das gegenwärtig postulierte evolutionäre Szenario wieder. Reproduktion aus KOJIMA/BLAIR (2004), mit freundlicher Genehmigung von David BLAIR. OM bedeutet „äußere Membran"; IM ist „innere Membran"; PG ist die Peptidoglykan-Schicht im Periplasma, dem Raum zwischen innerer und äußerer Membran.

Die experimentelle Prüfung eines postulierten Szenarios der Flagellenevolution

Die bisherigen experimentellen Erkenntnisse geben keinerlei Anlass, MATZKES Szenario zur Evolution der Flagelle zu verwerfen. Gleichwohl ist das Szenario nur ein vereinfachtes Modell, das keinen Anspruch auf *Vollständigkeit* oder gar „sichere Beweisbarkeit" erhebt – letzteres existiert in der empirischen Wissenschaft gar nicht. Eine solche wird jedoch oft von Evolutionskritikern eingefordert – wohl wissend, dass man Jahrmillionen der Evolution selbstverständlich nicht im Labor nachvollziehen kann. Allerdings scheinen sich in absehbarer Zeit revolutionär neue Verfahren anzukündigen, um sich experimentell einer Rekonstruktion der Flagellenevolution zu nähern. Man müsste dazu in der Lage sein, die postulierten Zwischenstufen im Labor gezielt „nachzubauen" und auf ihre Funktionalität zu testen. Die technischen Fortschritte legen nahe, dass dies in Zukunft möglich sein wird. So hat die Bioinformatik mittlerweile eine Reihe von Algorithmen entwickelt (HALL 2006), um aus den rezenten DNA-Sequenzen recht zuverlässige Rückschlüsse auf die Sequenzen der entsprechenden Vorfahren zu ziehen. Solche Vorfahren-Proteine sind im Labor schon nachgebaut und erfolgreich auf ihre Wirkungsweise und weitere funktionelle Evolution hin untersucht worden (CHANG et al. 2002; CAI et al. 2004; UGALDE et al. 2004; CHANG et al. 2005; YOKOYAMA et al. 2008). Erst kürzlich ist es gelungen, die gesamte Erbinformation in einer Zelle auszutauschen (LARTIGUE et al. 2007). Es gelang sogar, ein komplettes Genom im Labor künstlich herzustellen (GIBSON et al. 2008). So erschreckend es für manche klingen mag, aber der Schritt zur Erzeugung eines künstlichen Bakteriums,

mit einer Genausstattung nach Wahl des Forschers, ist nicht mehr allzu weit[33]. Das Potenzial ist vorhanden, um jeden einzelnen postulierten Zwischenschritt in der Evolution der Flagelle im Labor gezielt nachzubauen und auf seine Funktionsfähigkeit sowie Evolvierbarkeit hin zum nächsten postulierten Schritt zu testen. Ein erfolgreicher Test wäre zwar kein unumstößlicher Beweis für ein spezifisches historisches Evolutionsszenario. Er würde allerdings der meist unsachgemäßen Kritik an der Flagellenevolution noch weiter den Boden entziehen.

3.4 Evolutionskritik an der „bakteriellen Flagelle“

Wie schon erwähnt, wird im Buch „Evolution – ein kritisches Lehrbuch“ (JUNKER/SCHERER 2006) die „hypothetische“ Evolution einer bakteriellen Flagelle kritisch diskutiert. Diese wird mittels der bekannten molekularen Evolutionsmechanismen als gegenwärtig nicht erklärbar dargestellt. Allerdings trägt die Argumentation von J/S nicht dem aktuellen Wissensstand Rechnung, auch nicht dem Stand der Forschung zum Zeitpunkt der Drucklegung (2005/2006). In welchen Bereichen es J/S versäumen, das heutige Fachwissen korrekt darzustellen, soll auf den kommenden Seiten vor dem Hintergrund der oben dargelegten Fakten und Belege erörtert werden.

J/S schreiben:

> Falls ein T3-Sekretionsapparat evolutionär gesehen vor dem Motor vorhanden war (was aus verschiedenen Gründen eher unwahrscheinlich ist), dann könnten die Proteine des T3SS als präadaptiert für Motorproteine aufgefasst werden [...] (S. 160).

Vom Textverlauf her, insbesondere unter Einbeziehung von Abb. 9.32 (Seite 159) verstehen J/S unter „T3-Sekretionsapparat“ ein nf-T3SS heutiger Prägung, nämlich ein bakterielles Injektisom (CORNELIS 2006), welches Toxine in Tier- oder Pflanzenzellen einspritzen kann. Somit beziehen sich J/S auf das Szenario 1 (Abb. 57). Zu Recht bezeichnen J/S dieses Szenario als „unwahrscheinlich“. Doch übergehen sie, dass ein solches Szenario auch so gut wie kein Flagellenforscher postuliert. Wie oben dargelegt wurde, werden in der Fachliteratur ganz andere Szenarien diskutiert (nämlich Szenarien 2 und 3, Abb. 57) – diese werden von J/S jedoch nicht erwähnt. J/S präsentieren also ein Evolutionsmodell, welches unter Flagellen-Evolutionsforschern keinen Rückhalt findet, kritisieren dieses als unwahrscheinlich und bauen dadurch ein sachlich unkorrektes Argument gegen die Flagellenevolution auf.

Des Weiteren diskutieren J/S die molekularen Mechanismen, explizit Genduplikationen, die für den Aufbau neuer Protein-Funktionen in Frage kommen

[33] DER SPIEGEL 49/2002, „Zauberer der Gene“, 204–206.

(Abb. 9.26, Seite 154). J/S lehnen einen „langsamen Umbau“ (Seite 154) des kopierten Gens als unwahrscheinlich ab, da „die Übergangsformen schädlich für den Organismus wären“. Diese Aussage wird von J/S jedoch ohne Begründung in den Raum gestellt. Das einzige Schicksal des kopierten Genes sei es, als Pseudogen stillgelegt zu werden. Nur so könne es, befreit von negativer Selektion, durch Mutation eine andere Funktion erwerben. Allerdings dürfte es bis dahin so viele schädliche Mutationen angesammelt haben, dass es zweifelhaft erscheine,

> [...] ob in duplizierten, stillgelegten Genen wirklich neuartige Proteine entstehen können (S. 155).

Damit lehnen J/S eine „subfunctionalization“ oder „neofunctionalization“ als unwahrscheinlich ab. Obwohl vielfach in der wissenschaftlichen Fachliteratur diskutiert (LYNCH/CONERY 2000; LONG et al. 2001; RASTOGI/LIBERLES 2005), versäumen sie es, darauf hinzuweisen, dass es genügend Beispiele gibt (wie weiter oben auch detailliert ausgeführt), die zeigen, dass der „langsame Umbau“ keineswegs schädlich sein muss, sondern neue funktionelle Varianten tatsächlich hervorbringen kann. Da die Autoren dies aber nicht akzeptieren, müsse nach deren Ansicht schon das ursprüngliche Gen selbst verändert werden, damit eine neue Funktion entstehen könne, und sie erläutern die statistischen Zusammenhänge, unter denen ein Protein eine neue Funktion übernehmen könnte. Hierzu zitieren J/S zwei Forschungsarbeiten[34] (DWYER et al. 2004; PARK et al. 2006), in denen die Funktion eines Proteins durch verschiedene Formen der Mutagenese verändert wurde (Seite 160/161). In diesen Arbeiten waren eine Vielzahl gleichzeitiger Veränderungen notwendig, woraus J/S folgern, dass für eine Veränderung der Funktion eines Proteins eine Mindestanzahl von 10 Mutationen notwendig sei. Unter Einbezug einer Mutationsrate von 10^{-6} errechnen sie damit eine Gesamtwahrscheinlichkeit von 10^{-60}, dass die 10 notwendigen Mutationen während einer Generationszeit in einer Zelle auftreten (Seite 162).

In die Alltagssprache übersetzt bedeutet dies so viel wie: Ein solcher Evolutionsschritt ist praktisch unmöglich. Jeder Evolutionsbiologe wird dem zustimmen. Allerdings begehen J/S hier gleich zwei Fehler, nämlich einen konzeptionellen und einen inhaltlichen. Der konzeptionelle Fehler besteht darin, dass die zitierten Forschungsarbeiten gar nicht in den diskutierten Kontext passen. Wie J/S selbst schreiben, haben die Autoren beider Artikel nämlich *zielgerichtet* gearbeitet, denn sie *wollten* Proteine mit einer *bestimmten* Zielfunktion erschaffen. Aus diesem Grund war die hohe Anzahl an bestimmten und gleichzeitig einzuführenden Veränderungen notwendig. Evolution als natürlicher Prozess arbeitet aber

[34] Dwyer et al. haben ihre Forschungsarbeit mittlerweile zurückgezogen, siehe auch www.sciencemag.org/cgi/content/full/sci;319/5863/569b sowie die zugehörigen Kommentare, www.sciencemag.org/cgi/eletters/319/5863/569b#10627.

grundlegend anders. Evolution ist *nicht zielgerichtet*. Sie *muss* keine *bestimmte* Funktion „anvisieren“, sondern kann in der „Fitnesslandschaft“ *irgendeinen* benachbarten Hügel erklimmen, also *irgendeinen* Vorteil erbringen. Insofern ist der Verweis auf diese beiden Artikel aus dem Bereich von „directed evolution“ im Zusammenhang mit natürlichen Evolutionsprozessen gänzlich deplatziert.

Der *inhaltliche* Fehler, den J/S begehen, besteht in der Annahme der Notwendigkeit einer gleichzeitig zu erfolgenden 10-fach-Mutation. Kein Evolutionsforscher geht davon aus, dass die von J/S als notwendig erachteten 10 Mutationen *in einem Schritt* zu erfolgen haben, ganz zu schweigen davon, dass tatsächlich 10 Mutationen für einen Funktionswechsel anzunehmen wären. Nicht einmal die Notwendigkeit einer Doppelmutation wird in den theoretischen Modellen der Populationsgenetiker ernsthaft diskutiert (ORR 2005a; 2005b). Evolutionsforscher gehen davon aus, dass die Mutationen *nacheinander* in *verschiedenen* Generationen erfolgen. Es ist experimentell gezeigt worden, dass bereits einzelne Mutationen neue Funktionen hervorbringen können, wobei sich mit jeder weiteren Mutation der adaptive Vorteil bis zum Maximum erhöhte. Es ist sogar möglich, dass diese Mutationen in unterschiedlicher Reihenfolge auftreten können (WEINREICH et al. 2006). Zudem muss die jeweilige Einzelmutation gar nicht in der Population *fixiert* werden (also bei *allen* Mitgliedern einer Population vorhanden sein). Es genügt, wenn der Träger der Mutation, den Prinzipien der Populationsgenetik folgend (HARTL/CLARK 2007), eine so hohe Häufigkeit in der Population erreicht, dass die nächste Mutation erfolgen kann. Unter Berücksichtigung der hohen effektiven und absoluten Populationsgrößen der Bakterien (LYNCH/CONERY 2003; KOEPPEL et al. 2008) ist dieses Szenario viel wahrscheinlicher.

Wie zutreffend ist nun die Aussage von J/S, dass *mindestens* 10 simultane Veränderungen in einem Protein für einen Funktionswechsel benötigt werden (Seite 161/162)? J/S schreiben hierzu:

> Leider gibt es dazu keine experimentellen Studien [...] (S. 161).

Diese Aussage ist nicht korrekt, denn schon länger hat die Struktur-Biologie Szenarien beschrieben, in denen mittels einzelner Mutationen Proteine über so genannte „evolutionary bridges“ (evolutive Brücken) von einer Struktur zu einer anderen gelangen und sich somit auch funktionell verändern können (CORDES et al. 2000). Dass der Austausch einzelner Aminosäuren grundlegende Struktur- und Funktionsänderungen mit enormen evolutiven Konsequenzen bewirken kann, ist vor kurzem im Experiment gezeigt worden (MEIER et al. 2007; YEATES 2007). Die Autoren konnten die Evolution eines Minikollagen-Proteins, welches maßgeblich an der Härtung von Nesselkapseln von Süßwasserpolypen beteiligt ist, nachvollziehen. Während die ursprüngliche Variante nur die Bildung einer giftgefüllten Kugel bewirkt, die beim Kontakt zerplatzt, trug die neue Variante zu einer kon-

trollierten Verhärtung der Nesselkapsel bei, welches dann wohl die Evolution komplexerer und so hocheffizienter Stilett-Waffen wie die heutigen Nesselkapseln ermöglichte.

Interessant ist, dass nur zwei Aminosäureaustausche notwendig waren, um von der alten (ineffizienteren) Minikollagen-Variante zu der neuen, adaptiven und somit positiv selektierbaren Variante zu gelangen. Die beiden Mutationen mussten auch nicht simultan auftreten, wie J/S in ihrem Szenario postulieren. Nur eine einzige Veränderung führte schon dazu, dass das entstehende Protein *beide* Strukturformen (alt und neu) annehmen konnte („Doppelfunktion" eines Proteins). Dieses stellt eine ebenfalls schon evolutiv selektierbare Übergangsform dar. Eine weitere Mutation genügte, um endgültig den Übergang zur effizienteren Form zu vollziehen, die dann einen Durchbruch in der Evolution eines solch komplexen Konstrukts wie der Nesselkapsel erlaubte.

Kurzum: Schon einzelne Punktmutationen können signifikante Funktionsänderungen von Proteinen bewirken (siehe auch MEIER et al. 2007[35] ; YAETES 2007; SARAVANAN et al. 2008). Ebenso scheint es so zu sein, dass die entsprechenden Mutationen nicht *in einem Schritt* „zusammen gewürfelt" werden müssen, da sich entlang „neutraler Pfade" *zusätzliche* Funktionsstrukturen ausbilden können, ohne dass die Funktionen der bereits vorhandenen Strukturen gestört werden (SCHULTES/BARTEL 2000; AHARONI et al. 2005). Erneut präsentieren J/S hier also ein unzutreffendes Evolutionsszenario, nämlich die Notwendigkeit von mindestens 10 simultanen Mutationen, und bauen so ein weiteres sachlich unkorrektes Argument gegen die Evolution einer bakteriellen Flagelle auf.

Basierend auf der Annahme, dass die Flagelle durch Mutation und Selektion nicht habe evolvieren können, fragen J/S nun, ob die Flagelle stattdessen durch *neutrale* Evolution hätte entstehen können (Seite 162/163). Nach ihrer Ansicht entstehen gemäß der Neutralen Theorie der Evolution hauptsächlich neutrale oder nachteilige Mutationen. Die nachteiligen Mutationen werden durch negative Selektion aus der Population entfernt. Die neutralen Mutationen sollen dagegen (wenn überhaupt) rein durch genetische Drift fixiert werden. Gemäß J/S muss man zu der Auffassung kommen, dass es der Neutralen Theorie zufolge keine positive Selektion gibt, oder dass sie letztendlich ohne Auswirkung ist (Seite 162); dies ist jedoch nicht zutreffend. Die Neutrale Theorie der Evolution[36] wurde durch den Japaner Motoo KIMURA[37] begründet (KIMURA 1968; KIMURA 1983, 1991) und besagt, dass ein Großteil der in Populationen zu beobachtenden, genetischen Diversität selektiv neutral sei. Dies war ein Schock für den bis dato vorherrschenden Selektionismus, der die Auffassung vertrat, dass der größte Teil der

[35] Siehe auch www.spektrum.de/artikel/947198
[36] de.wikipedia.org/wiki/Neutrale_Theorie_der_molekularen_Evolution
[37] en.wikipedia.org/wiki/Motoo_Kimura

genetischen Diversität die Folge von positiver Selektion sei. Im Kapitel zur Neutralen Evolution (Seite 139–142) schreiben J/S:

> Die positive Darwinsche Selektion wird damit nicht als wesentliche Ursache für den (makro-)evolutiven Wandel angesehen, denn Allele breiten sich auch durch Drift in einer Population aus, ohne dass sie ihrem Träger einen Selektionsvorteil verschaffen. Für die Fixierung eines Allels (d.h.: die vollständige Ersetzung eines Allels im Genpool durch ein anderes = Gensubstitution) ist nach der Neutralen Theorie normalerweise die *Gendrift* verantwortlich.

Laut J/S würde sich Selektion gemäß der Neutralen Theorie vornehmlich in der Eliminierung negativer Mutationen auswirken. Weiter schreiben J/S: „Positive Mutationen mit einem hinreichend großen Selektionsvorteil werden dagegen als sehr selten angesehen“. Damit räumen J/S auf den Seiten 139–142 und insbesondere 162/163 der positiven Selektion in der Neutralen Theorie *de facto* keinen Handlungsspielraum ein.

Die Neutrale Theorie behauptet aber gar nicht, dass der Einfluss positiver Selektion vernachlässigbar oder bedeutungslos wäre, wie J/S auf S. 162f implizieren. So baut KIMURA *explizit* die positive Selektion vorteilhafter Mutationen als essenziellen Faktor in sein Evolutionsmodell der Neutralen Theorie ein (KIMURA 1991), auch wenn er ihnen insgesamt deutlich weniger Gewicht beimisst, als es die Selektionisten tun. Dies ist kongruent mit der Grundaussage der Neutralen Theorie, dass der Großteil der molekularen Diversität selektionsneutral sei.[38] Die Schlussfolgerung von J/S, dass die Neutrale Theorie der Evolution „keine Lösung für die Entstehung des Bakterienmotors“ bieten könne, beruht somit auf einem fundamentalen Missverständnis der Neutralen Theorie der Evolution, so wie ihr Gründer, Motoo KIMURA, sie verstanden hat und wie sie auch noch heute verstanden wird. Außerdem gibt es keine Aussagen in der Fachliteratur, wonach die Flagelle *allein* durch „neutrale Evolution“ entstanden sein soll. Auch hier kritisieren J/S wieder ein evolutives Szenario, welches so gar nicht in der Fachliteratur vertreten wird.

J/S bezeichnen zu Recht heutige Flagellensysteme individueller Organismen als irreduzibel komplex, von Ausnahmen abgesehen (ATTMANNSPACHER et al. 2008). Für den Fall des Verlusts der Funktionsfähigkeit schreiben J/S:

> Ein solches Bakterium wird im Selektionsprozess nicht bestehen können, sondern aussterben und so für weitere Evolutionsexperimente nicht mehr zur Verfügung stehen (S. 157).

[38] www.pnas.org/content/88/14/5969.full.pdf+html

Dies gilt aber nur dann, wenn der negative Selektionsdruck durch den Flagellenverlust *unverzüglich tödlich* für das Bakterium ist. Dies ist aber nicht notwendigerweise der Fall, da man aus Umweltproben durchaus unbewegliche Formen (die weder schwimmen noch schwärmen können) von prinzipiell flagellierten Arten isolieren kann (RÖMLING et al. 2005). Die Daten zeigen außerdem, dass nach dem Verlust der Funktionsfähigkeit sekundäre Mutationen („Suppressor-Mutationen") die Funktionsfähigkeit wieder herstellen können, interessanterweise in einer zum Teil substantiell anderen molekularen Zusammenstellung als ursprünglich (GARZA et al. 1995; GARZA et al. 1996; HENDRIXSON 2008). Das aber ist *das genaue Gegenteil* dessen, was J/S behaupten: Bakterien ohne funktionierenden Motor sterben nicht nur nicht aus, sondern ermöglichen unter Umständen den Start eines weiteren Evolutionsexperiments. Die neue, ungewöhnliche Flagellen-Variante hätte ohne einen vorherigen Funktionsverlust also gar nicht entstehen und positiv selektiert werden können.

J/S diskutieren ebenfalls nicht die Möglichkeit, dass der Selektionsdruck auf den Erhalt der Flagelle auch hinfällig werden kann. Warum sollte eine bakterielle Art, die keine funktionsfähige Flagelle mehr hat, aussterben, wenn der Selektionsdruck auf den Erhalt gar nicht mehr vorhanden ist? Es gibt zahlreiche Beispiele für funktionsunfähig gewordene Injektisomen, die ja ähnlich komplex sind wie Flagellen, ohne dass sie auf ein „Aussterben" des entsprechenden Bakteriums hinweisen (PALLEN et al. 2005c). Ein entsprechendes Beispiel für die Flagelle ist *Buchnera aphidicola*. Dieses Bakterium ist ein obligat intrazellulärer Insekten-Symbiont. Es ist seit langem bekannt, dass *Buchnera* keine funktionsfähige Flagelle (SHIGENOBU et al. 2000), jedoch noch viele, wenn auch nicht alle der Flagellen-Gene besitzt. Viele der nächsten Verwandten von *Buchnera aphidicola* (z. B. *E. coli*, *S. typhimurium*, *Enterobacter*, *Yersinia*) haben funktionsfähige Flagellen. Dies legt nahe, dass *Buchnera* einst eine funktionsfähige Flagelle besaß, aber durch die enge, symbiotische Lebensweise mit den Insekten existiert kein Selektionsdruck mehr, der eine funktionsfähige Flagelle bewahren würde – *Buchnera* besitzt nur noch ein Siebentel der Genomgröße eines seiner nächsten, frei lebenden Verwandten, *Escherichia coli* (Shigenobu et al. 2000). Laut Aussage von J/S (Seite 157) wäre *Buchnera* durch den Verlust der Flagelle doch eigentlich zum Aussterben verurteilt.

Nun ist *Buchnera* beileibe kein Einzelfall. Mittlerweile sind durch Gesamtgenom-Analysen 23 bakterielle Arten bekannt, die unvollständige Flagellen-Gensätze besitzen (SNYDER et al. 2009). Und es ist doch sehr bemerkenswert, dass *Buchnera* ausgerechnet die wenigen Gene, die für die Motorproteine und das Flagellenfilament kodieren, verloren hat, während alle anderen Gene, insbesondere diejenigen, die für den Protein-Export zuständig sind, nicht nur erhalten geblieben sind, sondern auch abgelesen und in Proteine umgewandelt werden! So ist die Zell-Oberfläche von *Buchnera* mit hunderten von membranständigen

Flagellen-Grundkörpern übersäht (MAEZAWA et al. 2006), denen jedoch die Flagelle selbst fehlt. Aber welche Funktion kann denn eine solche „halbe“ Flagelle haben? Nun, die Wissenschaftler gehen davon aus, dass die „halbe“ Flagelle den Protein-Austausch zwischen den endosymbiontisch lebenden Bakterien und ihren eukaryotischen Wirten bewerkstelligt (MAEZAWA et al. 2006; TOFT/FARES 2008). Der Selektionsdruck auf die Flagellen-Gene hat sich also ganz offensichtlich gewandelt. Während es früher die (induzierbare) Motilität war, so ist es heute der konstitutive Proteinaustausch in der obligat symbiontischen Beziehung zu einem Wirt. Eine derartige Nutzbarmachung einer Eigenschaft für eine Funktion, für die sie ursprünglich nicht entstanden war, wird als „Exaption“ bezeichnet (GOULD/VRBA 1982).

Auch wenn das *Buchnera*-System ein Abkömmling des komplexeren Flagellenapparates ist, bringt es doch Licht ins Dunkel der Flagellen-Evolution, da es anschaulich zeigt, wie ein einfacherer Vorfahre der heutigen Flagellen ausgesehen haben mag – ein Vorfahre, dessen einzige Aufgabe der Proteinexport und nicht die Motilität darstellt (siehe Schema von MATZKE, Abb. 58). Und was sich in mehreren Schritten, *unter voller Gewährleistung von biologischer Funktionalität*, abbauen lässt (die Flagelle von *Buchnera*), das lässt sich umgekehrt auf demselben Wege auch schrittweise aufbauen, womit die obige Aussage von J/S (S. 157) sowie die gesamte darauf aufbauende Argumentation klar widerlegt wäre.

J/S fassen ihre Ansichten zur Evolution der bakteriellen Flagelle wie folgt zusammen (Seite 163):

> Trotz aller Kenntnislücken zeichnet sich immer deutlicher ab, dass die bekannten molekularen Evolutionsmechanismen den Ursprung einer komplexen Struktur wie des Bakterienmotors nicht erklären können.

Allerdings gelangen J/S nur deshalb zu diesem Schluss, da sie erstens die bekannten molekularen Evolutionsmechanismen unvollständig und auch oft unzutreffend erläutern und zweitens, indem sie sehr unwahrscheinliche, von der wissenschaftlichen Fachliteratur nicht gedeckte Szenarien entwickeln, um mit ihnen dann die angebliche Unwahrscheinlichkeit der Evolution der bakteriellen Flagelle zu belegen. Das Modell von N. MATZKE, das einen möglichen Evolutionsweg nachzeichnet, wird gar nicht erst erwähnt – gemessen am Anspruch einer kompetenten Darstellung der Thematik ist dieses Vorgehen, vorsichtig ausgedrückt, doch sehr fragwürdig. So wie der Beitrag von MATZKE so ist ein Großteil der in diesem Kapitel zitierten und essenziell themenrelevanten Fachliteratur vor 2005 publiziert worden, also deutlich vor der Drucklegung der 6. Auflage des „kritischen Lehrbuchs“ und hätte somit J/S bekannt sein müssen. Sie fehlt im „evolutionskritischen Lehrbuch“ ebenfalls.

3.5 Schlussbemerkung

Dieses Kapitel sollte einen Kurzüberblick über die aktuellen Erkenntnisse zur Vielfalt und zu den Mechanismen der Evolution der bakteriellen Flagelle geben. Der Leser wird erkennen, dass trotz der bisher noch lange nicht vollständigen Kenntnisse doch schon recht robuste Einsichten erarbeitet wurden. Wo steht die Forschung heute? Es gibt vier mögliche Antworten.

1) Die Evolution der Flagelle konnte vollständig aufgeklärt werden.
2) Die Evolution der Flagelle ist nach heutigem Kenntnisstand erklärbar, aber nicht vollständig aufgeklärt.
3) Die Evolution der Flagelle ist nach heutigem Kenntnisstand nicht erklärbar, möglicherweise jedoch dann, wenn neue Evolutionsmechanismen bekannt werden.
4) Die Evolution der Flagelle ist unmöglich und muss daher das Produkt eines göttlichen oder Intelligenten Designers sein.

Position 4 wird nicht im Geringsten durch wissenschaftliche Erkenntnisse unterstützt. Auch Position 3, die JUNKER/SCHERER vertreten, ist nicht haltbar, da die zurzeit bekannten Evolutionsmechanismen sehr wohl die grundlegenden Schritte in der Evolution der Flagelle erklären können, wenn auch eine detaillierte Rekonstruktion bei weitem nicht erreicht ist. Daher ist Position 2 zutreffend. Sir Austin HILL (1965) hat sehr treffend bemerkt: „Alle wissenschaftliche Arbeit ist unvollständig – sei sie experimentell oder aus der Beobachtung abgeleitet. Jegliche wissenschaftliche Erkenntnis muss damit rechnen, durch weiteren Wissenszuwachs entweder modifiziert oder gar umgestoßen zu werden. Dies darf uns aber nicht zu der Freiheit verleiten, bestehende Kenntnis zu ignorieren oder entsprechend notwendige Handlungen zu verschieben.“[39] Mit jeder Woche steigt die Anzahl wissenschaftlicher Publikationen, welche einen Beitrag zu Position 2 leisten. Es ist unklar, ob jemals Position 1 erreicht werden kann.

3.6 Literatur

AHARONI, A./GAIDUKOV, L. et al. (2005) The 'evolvability' of promiscuous protein functions. Nature Genetics 37, 73–76. nature.com/ng/journal/v37/n1/abs/ng1482.html

AIZAWA, S.I. (2001) Bacterial flagella and type III secretion systems. FEMS Microbiol Lett 202, 157–164. dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10797.x

[39] „All scientific work is incomplete – whether it be observational or experimental. All scientific work is liable to be upset or modified by advancing knowledge. That does not confer upon us a freedom to ignore the knowledge we already have, or to postpone the action that it appears to demand at a given time.“

AN, Y.H./ FRIEDMAN, R.J. (2000) Handbook of bacterial adhesion: principles, methods, and applications. London.

ARAVIND, L./MAKAROVA, K.S. et al. (2000) Holliday junction resolvases and related nucleases: identification of new families, phyletic distribution and evolutionary trajectories. Nucleic Acids Res 28, 3417–3432. nar.oxfordjournals.org/cgi/reprint/28/18/3417

ATTMANNSPACHER, U./SCHARF, B.E. et al. (2008) FliL is essential for swarming: motor rotation in absence of FliL fractures the flagellar rod in swarmer cells of *Salmonella enterica*. Mol Microbiol 68, 328 –341. dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06170.x

AYALA, F.J. (2007) Darwin's greatest discovery: design without designer. PNAS 104, 8567–8573. dx.doi.org/10.1073/pnas.0701072104

BARDY, S.L./NG, S.Y.M. et al. (2003) Prokaryotic motility structures. Microbiology 149, 295–304. dx.doi.org/10.1099/mic.0.25948-0

BARTON, N./PARTRIDGE, L. (2000) Limits to natural selection. Bioessays 22, 1075–1084. www3.interscience.wiley.com/journal/75501491/abstract

BEHE, M. (1996) Darwin's black box. New York.

BELAS, R./SUVANASUTHI, R. (2005) The ability of *Proteus mirabilis* to sense surfaces and regulate virulence gene expression involves FliL, a flagellar basal body protein. J Bacteriol 187, 6789–6803. dx.doi.org/10.1128/JB.187.19.6789-6803.2005

BERG, H.C. (2003) The rotary motor of bacterial flagella. Annu Rev Biochem 72, 19–54. dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161737

BERG, H.C./ANDERSON, R.A. (1973) Bacteria swim by rotating their flagellar filaments. Nature 245, 380–382. dx.doi.org/10.1038/245380a0

BLAIR, D.F./KIM, D.Y. et al. (1991) Mutant MotB proteins in *Escherichia coli*. J Bacteriol 173, 4049–4055. jb.asm.org/cgi/content/abstract/173/13/4049

BOCK, W.J. (2003) Ecological aspects of the evolutionary processes. Zool Sci 20, 279–289. www.jstage.jst.go.jp/article/zsj/20/3/20_279/_article/-char/en

BOUCHER, Y./DOUADY, C.J. et al. (2003) Lateral gene transfer and the origins of prokaryotic groups. Ann Rev Genetics 37, 283–328. dx.doi.org/10.1146/annurev.genet.37.050503.084247

BRAUN, V./GAISSER, S. et al. (1996) Energy-coupled transport across the outer membrane of *Escherichia coli*: ExbB binds ExbD and TonB in vitro, and leucine 132 in the periplasmic region and aspartate 25 in the transmembrane region are important for ExbD activity. J Bacteriol 178, 2836–2845. jb.asm.org/cgi/content/abstract/178/10/2836

BRIDGHAM, J.T./CARROLL, S.M. et al. (2006) Evolution of hormone-receptor complexity by molecular exploitation. Science 312, 97–101. science-mag.org/cgi/content/abstract/312/5770/97

BÜRGER, R. (2000) The mathematical theory of selection, mutation, and recombination. New York. eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0471986534.html

CAI, W./PEI, J. et al. (2004) Reconstruction of ancestral protein sequences and its applications. BMC Evolutionary Biology 4, 33. biomedcentral.com/1471-2148/4/33

CASCALES, E./LLOUBES, R. et al. (2001) The TolQ-TolR proteins energize TolA and share homologies with the flagellar motor proteins MotA-MotB. Mol Microbiol 42, 795–807. www3.interscience.wiley.com/journal/120709669/abstract

CHANG, B.S.W./JONSSON, K. et al. (2002) Recreating a functional ancestral archosaur visual pigment. Mol Biol Evol 19, 1483–1489. mbe.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/19/9/1483

CHANG, B.S.W./UGALDE, J.A. et al. (2005) Applications of ancestral protein reconstruction in understanding protein function: GFP-Like Proteins. Methods in Enzymology 395, 652–670. dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(05)95034-9

CHARON, N.W./GOLDSTEIN, S.F. (2002) Genetics of motility and chemotaxis of a fascinating group of bacteria: the Spirochetes. Ann Rev Genetics 36, 47–73. dx.doi.org/10.1146/annurev.genet.36.041602.134359

CHEVANCE, F.F.V./HUGHES, K.T. (2008) Coordinating assembly of a bacterial macromolecular machine. Nat Rev Micro 6, 455–465. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1887

CHRISTIE, P.J./CASCALES, E. (2005) Structural and dynamic properties of bacterial Type IV secretion systems (Review). Mol Membrane Biol 22, 51–61. www.informaworld.com/10.1080/09687860500063316

CIAMPI, M.S. (2006) Rho-dependent terminators and transcription termination. Microbiology 152, 2515–2528. dx.doi.org/10.1099/mic.0.28982-0

CORDES, M.H.J./BURTON, R.E. et al. (2000) An evolutionary bridge to a new protein fold. Nat Struct Mol Biol 7, 1129–1132. dx.doi.org/10.1038/81985

CORNELIS, G.R. (2006) The type III secretion injectisome. Nat Rev Micro 4, 811–825. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1526

DOOLITTLE, W. (1999) Phylogenetic classification and the universal tree. Science 284, 2124–2129. sciencemag.org/cgi/content/abstract/284/5423/2124

DOOLITTLE, W./BAPTESTE, E. (2007) Pattern pluralism and the tree of life hypothesis. PNAS 104, 2043–2049. www.pnas.org/content/104/7/2043

DUNNE, W.M. Jr. (2002) Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? Clin Microbiol Rev 15, 155–166. cmr.asm.org/cgi/content/abstract/15/2/155

DWYER, M.A./LOOGER, L.L. et al. (2004) Computational design of a biologically active enzyme. Science 304, 1967–1971. dx.doi.org/10.1126/science.1098432

ERDEM, A.L./AVELINO, F. et al. (2007) Host protein binding and adhesive properties of H6 and H7 flagella of attaching and effacing *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 189, 7426–7435. jb.asm.org/cgi/content/abstract/189/20/7426

FAN, C./CHEN, Y. et al. (2008) Recurrent tandem gene duplication gave rise to functionally divergent genes in *Drosophila*. Mol Biol Evol 25, 1451–1458. dx.doi.org/10.1093/molbev/msn089

FATH, M.J./KOLTER, R. (1993) ABC transporters: bacterial exporters. Microbiol Mol Biol Rev 57, 995–1017. mmbr.asm.org/cgi/content/abstract/57/4/995

FUTUYMA, D.J. (2005) Evolution. Sunderland, Mass. www.sinauer.com/detail.php?id=1872

GALÁN, J.E./COLLMER, A. (1999) Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. Science 284, 1322–1328. science-mag.org/cgi/content/abstract/284/5418/1322

GARZA, A.G./HARRIS-HALLER, L.W. et al. (1995) Motility protein interactions in the bacterial flagellar motor. PNAS 92, 1970–1974. pnas.org/content/92/6/1970

GARZA, A.G./BIRAN, R. et al. (1996) Mutations in motB suppressible by changes in stator or rotor components of the bacterial flagellar motor. J Mol Biol 258, 270–285. dx.doi.org/10.1006/jmbi.1996.0249

GIBSON, D.G./BENDERS, G.A. et al. (2008) Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. Science 319, 1215–1220. science-mag.org/cgi/content/abstract/319/5867/1215

GIBSON, T.A./GOLDBERG, D.S. (2009) Questioning the ubiquity of neofunctionalization. PLoS Computational Biology 5, e1000252. dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pcbi.1000252

GOGARTEN, J.P./DOOLITTLE, W.F. et al. (2002) Prokaryotic evolution in light of gene transfer. Mol Biol Evol 19, 2226–2238. mbe.oxfordjournals.org/cgi/content/full/19/12/2226

GOPHNA, U./RON, E.Z. et al. (2003) Bacterial type III secretion systems are ancient and evolved by multiple horizontal-transfer events. Gene 312, 151–163. dx.doi.org/10.1016/S0378-1119(03)00612-7

GOULD, S.J./LEWONTIN, R. (1979) The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. Proc R Soc Lond B Biol Sci 205, 581–598. www.life.uiuc.edu/ib/443/Gould%20&%20Lewontin.pdf

GOULD, S.J./VRBA, E.S. (1982) Exaptation: a missing term in the science of form. Paleobiology 8, 4–15. www.jstor.org/pss/2400563

HALL, B.G. (2006) Simple and accurate estimation of ancestral protein sequences. PNAS 103, 5431–5436. pnas.org/content/103/14/5431

HARTL, D.L./CLARK, A.G. (2007) Principles of population genetics. Sunderland, Mass. sinauer.com/detail.php?id=3082

HENDRIXSON, D.R. (2008) Restoration of flagellar biosynthesis by varied mutational events in *Campylobacter jejuni*. Mol Microbiol 70, 519–536. dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06428.x

HILL, B.A. (1965) The environment and disease: association or causation? Proc Royal Society of Medicine 28, 295–300. pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1898525&blobtype=pdf

HITTINGER, C.T./CARROLL, S.B. (2007) Gene duplication and the adaptive evolution of a classic genetic switch. Nature 449, 677–681. nature.com/nature/journal/v449/n7163/abs/nature06151.html

HOLLAND, I.B./SCHMITT, L. et al. (2005) Type 1 protein secretion in bacteria, the ABC-transporter dependent pathway (Review). Mol Membrane Biol 22, 29–39. informaworld.com/10.1080/09687860500042013

HOMMA, M./KUTSUKAKE, K. et al. (1990) FlgB, FlgC, FlgF and FlgG. A family of structurally related proteins in the flagellar basal body of *Salmonella typhimurium*. J Mol Biol 211, 465–477. dx.doi.org/10.1016/0022-2836(90)90365-S

HURLES, M. (2004) Gene duplication: the genomic trade in spare parts. PLoS Biology 2, e206. dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pbio.0020206

INGLIS, T.J./ROBERTSON, T. et al. (2003) Flagellum-mediated adhesion by *Burkholderia pseudomallei* precedes invasion of *Acanthamoeba astronyxis*. Infect Immun 71, 2280–2282. iai.asm.org/cgi/content/abstract/71/4/2280

JACOB, F. (1977) Evolution and tinkering. Science 196, 1161–1166. dx.doi.org/10.1126/science.860134

JARRELL, K.F./MCBRIDE, M.J. (2008) The surprisingly diverse ways that prokaryotes move. Nat Rev Micro 6, 466–476. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1900

JOURNET, L./HUGHES, K.T. et al. (2005) Type III secretion: a secretory pathway serving both motility and virulence (Review). Mol Membrane Biol 22, 41–50. informa-world.com/10.1080/09687860500041858

JUNKER, R./SCHERER, S. ([6]2006) Evolution. Ein kritisches Lehrbuch. Gießen. evolutionslehr-buch.wort-und-wissen.de

KAREV, G.P./WOLF, Y.I. et al. (2004) Gene family evolution: an in-depth theoretical and simulation analysis of non-linear birth-death-innovation models. BMC Evol Biol 4, 32. biomedcentral.com/1471-2148/4/32

KELMAN, Z./O'DONNELL, M. (1995) DNA polymerase III holoenzyme: structure and function of a chromosomal replicating machine. Annu Rev Biochem 64, 171–200. dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.64.070195.001131

KIMURA, M. (1968) Evolutionary rate at the molecular level. Nature 217, 624–626. na-ture.com/nature/journal/v217/n5129/abs/217624a0.html

KIMURA, M. (1983) The neutral theory of molecular evolution. Cambridge. as-sets.cambridge.org/97805213/17931/toc/9780521317931_toc.pdf

KIMURA, M. (1991) Recent development of the neutral theory viewed from the Wrightian tradition of theoretical population genetics. PNAS 88, 5969–5973. pnas.org/cgi/content/abstract/88/14/5969

KIROV, S.M./CASTRISIOS, M. et al. (2004) *Aeromonas flagella* (polar and lateral) are en-terocyte adhesins that contribute to biofilm formation on surfaces. Infect Immun 72, 1939–1945. iai.asm.org/cgi/content/abstract/72/4/1939

KOEBNIK, R. (2001) The role of bacterial pili in protein and DNA translocation. Trends Mi-crobiol 9, 586–590. dx.doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02255-7

KOEPPEL, A./PERRY, E.B. et al. (2008) Identifying the fundamental units of bacterial diver-sity: a paradigm shift to incorporate ecology into bacterial systematics. PNAS 105, 2504–2509. pnas.org/content/105/7/2504

KOJIMA, S./BLAIR, D.F. (2001) Conformational change in the stator of the bacterial flagel-lar motor. Biochemistry 40, 13041–13050. dx.doi.org/10.1021/bi011263o

KOJIMA, S./BLAIR, D.F. (2004) The bacterial flagellar motor: structure and function of a complex molecular machine. Int Rev Cytol 233, 93–134. dx.doi.org/10.1016/S0074-7696(04)33003-2

KOONIN, E.V. (1997) A conserved ancient domain joins the growing superfamily of 3'-5' exonucleases. Curr Biol 7, R604–606. ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9368736?dopt=Citation

LANDER, E.S./LINTON, L.M. et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409, 860–921. nature.com/nature/journal/v409/n6822/pdf/409860a0.pdf

LANOIS, A./JUBELIN, G. et al. (2008) FliZ, a flagellar regulator, is at the crossroads between motility, haemolysin expression and virulence in the insect pathogenic bacterium *Xenorhabdus*. Mol Microbiol 68, 516–533. www3.interscience.wiley.com/journal/119409042/abstract

LARTIGUE, C./GLASS, J.I. et al. (2007) Genome transplantation in bacteria: changing one species to another. Science 317, 632–638. sciencemag.org/cgi/content/abstract/317/5838/632

LEE, V.T./SCHNEEWIND, O. (2001) Protein secretion and the pathogenesis of bacterial infections. Genes Dev. 15, 1725–1752. genesdev.cshlp.org/cgi/content/full/15/14/1725

LEIPE, D.D./ARAVIND, L. et al. (2000) The bacterial replicative helicase DnaB evolved from a RecA duplication. Genome Res 10, 5–16. genome.cshlp.org/cgi/content/full/10/1/5

LENSKI, R.E./OFRIA, C. et al. (2003) The evolutionary origin of complex features. Nature 423, 139–144. dx.doi.org/10.1038/nature01568

LERAT, E./DAUBIN, V. et al. (2005) Evolutionary origins of genomic repertoires in bacteria. PLoS Biology 3, e130. dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.0030130

LEVIN, B.R./BERGSTROM, C.T. (2000) Bacteria are different: observations, interpretations, speculations, and opinions about the mechanisms of adaptive evolution in prokaryotes. PNAS 97, 6981–6985. pnas.org/content/97/13/6981

LEVY, S./SUTTON, G. et al. (2007) The diploid genome sequence of an individual human. PLoS Biology 5, e254. dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pbio.0050254

LILLEHOJ, E.P./KIM, B.T. et al. (2002) Identification of *Pseudomonas aeruginosa* flagellin as an adhesin for Muc1 mucin. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 282, L751–756. ajplung.physiology.org/cgi/content/full/282/4/L751

LINDBERG, F./LUND, B. et al. (1987) Localization of the receptor-binding protein adhesin at the tip of the bacterial pilus. Nature 328, 84–87. nature.com/nature/journal/v328/n6125/abs/328084a0.html

LIU, R./OCHMAN, H. (2007) Stepwise formation of the bacterial flagellar system. PNAS 104, 7116–7121. pnas.org/content/104/17/7116

LONG, M./THORNTON, K. et al. (2001) Gene duplication and evolution. Science 293, 1551. sciencemag.org/cgi/content/full/293/5535/1551a

LUO, Z.-X./CHEN, P. et al. (2007) A new eutriconodont mammal and evolutionary development in early mammals. Nature 446, 288–293. dx.doi.org/10.1038/nature05627

LYNCH, M. (2007a) The evolution of genetic networks by non-adaptive processes. Nat Rev Genet 8, 803–813. dx.doi.org/10.1038/nrg2192

LYNCH, M. (2007b) The frailty of adaptive hypotheses for the origins of organismal complexity. PNAS 104, 8597–8604. pnas.org/content/104/suppl.1/8597.abstract

LYNCH, M./CONERY, J.S. (2000) The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. Science 290, 1151–1155. sciencemag.org/cgi/content/abstract/290/5494/1151

LYNCH, M./CONERY, J.S. (2003) The origins of genome complexity. Science 302, 1401–1404. sciencemag.org/cgi/content/abstract/302/5649/1401

LYNCH, M./CONERY, J.S. (2004) Response to comment on „the origins of genome complexity“. Science 306, 978. dx.doi.org/10.1126/science.1100559

LYNCH, M./O'HELY, M. et al. (2001) The probability of preservation of a newly arisen gene duplicate. Genetics 159, 1789–1804. genetics.org/cgi/content/abstract/159/4/1789

MACNAB, R.M. (1999) The bacterial flagellum: reversible rotary propellor and type III export apparatus. J Bacteriol 181, 7149–7153. jb.asm.org/cgi/content/full/181/23/7149

MAEZAWA, K./SHIGENOBU, S. et al. (2006) Hundreds of flagellar basal bodies cover the cell surface of the endosymbiotic bacterium *Buchnera aphidicola* sp. strain APS. J Bacteriol 188, 6539–6543. jb.asm.org/cgi/reprint/188/18/6539

MATTICK, J.S. (2002) Type IV pili and twitching motility. Annu Rev Microbiol 56, 289–314. dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160938

MCCARTER, L.L. (2004) Dual flagellar systems enable motility under different circumstances. J Mol Microbiol Biotechnol 7, 18–29. dx.doi.org/10.1159/000077866

MCCARTER, L.L. (2006) Regulation of flagella. Curr Opin Microbiol 9, 180–186. dx.doi.org/10.1016/j.mib.2006.02.001

MCCLAIN, J./ROLLO, D.R. et al. (2002) *Rhodospirillum centenum* utilizes separate motor and switch components to control lateral and polar flagellum rotation. J Bacteriol 184, 2429–2438. jb.asm.org/cgi/content/full/184/9/2429

MCLOUGHLIN, S.Y./COPLEY, S.D. (2008) A compromise required by gene sharing enables survival: implications for evolution of new enzyme activities. PNAS 105, 13497–13502. dx.doi.org/10.1073/pnas.0804804105

MEIER, S./JENSEN, P.R. et al. (2007) Continuous molecular evolution of protein-domain structures by single amino acid changes. Curr Biol 17, 173–178. dx.doi.org/10.1016/j.cub.2006.10.063

MINAMINO, T./NAMBA, K. (2008) Distinct roles of the FliI ATPase and proton motive force in bacterial flagellar protein export. Nature 451, 485–488. dx.doi.org/10.1038/nature06449

MULKIDJANIAN, A.Y./MAKAROVA, K.S. et al. (2007) Inventing the dynamo machine: the evolution of the F-type and V-type ATPases. Nat Rev Micro 5, 892–899. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1767

NGUYEN, L./PAULSEN, I.T. et al. (2000) Phylogenetic analyses of the constituents of Type III protein secretion systems. J Mol Microbiol Biotechnol 2, 125–144. horizonpress.com/jmmb/v2/v2n2/02.pdf

NORRIS, B.J./WHAN, V.A. (2008) A gene duplication affecting expression of the ovine ASIP gene is responsible for white and black sheep. Genome Res. 18, 1282–1293. genome.cshlp.org/content/18/8/1282

OKABE, M./YAKUSHI, T. et al. (2005) Interactions of MotX with MotY and with the PomA/PomB sodium ion channel complex of the *Vibrio alginolyticus* polar flagellum. J Biol Chem 280, 25659–25664. dx.doi.org/10.1074/jbc.M500263200

ORR, H.A. (2005a) Theories of adaptation: what they do and don't say. Genetica 123, 3–13. springerlink.com/content/u8664u817ukx5h37

ORR, H.A. (2005b) The genetic theory of adaptation: a brief history. Nat Rev Genet 6, 119–127. dx.doi.org/10.1038/nrg1523

O'TOOLE, G./KAPLAN, H.B. et al. (2000) Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol 54, 49–79. dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49

PALLEN, M./BEATSON, S. et al. (2005a) Bioinformatics analysis of the locus for enterocyte effacement provides novel insights into type-III secretion. BMC Microbiology 5, 9. biomedcentral.com/1471-2180/5/9

PALLEN, M.J./PENN, C.W. et al. (2005b) Bacterial flagellar diversity in the post-genomic era. Trends Microbiol 13, 143–149. dx.doi.org/10.1016/j.tim.2005.02.008

PALLEN, M.J./BEATSON, S.A. et al. (2005c) Bioinformatics, genomics and evolution of non-flagellar type-III secretion systems: a Darwinian perspective. FEMS Microbiol Rev 29, 201–229. dx.doi.org/10.1016/j.femsre.2005.01.001

PALLEN, M.J./MATZKE, N.J. (2006) From the origin of species to the origin of bacterial flagella. Nat Rev Microbiol 4, 784–790. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1493

PALLEN, M.J./GOPHNA, U. (2007) Bacterial flagella and type III secretion: case studies in the evolution of complexity. In: VOLFF, J.N. (ed) Gene and Protein Evolution. Genome Dynamics. Basel.

PARK, H.S./NAM, S.H. et al. (2006) Design and evolution of new catalytic activity with an existing protein scaffold. Science 311, 535–538. sciencemag.org/cgi/content/abstract/311/5760/535

PAUL, K./ERHARDT, M. et al. (2008) Energy source of flagellar type III secretion. Nature 451, 489–492. dx.doi.org/10.1038/nature06497

PEABODY, C.R./CHUNG, Y.J. et al. (2003) Type II protein secretion and its relationship to bacterial type IV pili and archaeal flagella. Microbiology 149, 3051–3072. mic.sgmjournals.org/cgi/content/full/149/11/3051

PENNOCK, R.T. (2004) Evolutionary science and society: educating a new generation. Part I: introduction in evolutionary thinking. Chicago, IL. msu.edu/~pennock5/research/papers/Pennock_TeachingEvoNatureSci.pdf

PIZARRO-CERDÁ, J./COSSART, P. (2006) Bacterial adhesion and entry into host cells. Cell 124, 715–727. www.cell.com/retrieve/pii/S0092867406001875

POGGIO, S./ABREU-GOODGER, C. et al. (2007) A complete set of flagellar genes acquired by horizontal transfer coexists with the endogenous flagellar system in *Rhodobacter sphaeroides*. J Bacteriol 189, 3208–3216. jb.asm.org/cgi/content/full/189/8/3208

PONOMAREV, V.A./MAKAROVA, K.S. et al. (2003) Gene duplication with displacement and rearrangement: origin of the bacterial replication protein PriB from the single-stranded DNA-binding protein Ssb. J Mol Microbiol Biotechnol 5, 225–229. dx.doi.org/10.1159/000071074

POSTLE, K./KADNER, R.J. (2003) Touch and go: tying TonB to transport. Mol Microbiol 49, 869–882. dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03629.x

RABAAN, A.A./GRYLLOS, I. et al. (2001) Motility and the polar flagellum are required for *Aeromonas caviae* adherence to HEp-2 cells. Infect Immun 69, 4257–4267. iai.asm.org/cgi/content/full/69/7/4257

RASTOGI, S./LIBERLES, D. (2005) Subfunctionalization of duplicated genes as a transition state to neofunctionalization. BMC Evolutionary Biology 5, 28. biomedcentral.com/1471-2148/5/28

RAZATOS, A./ONG, Y.-L. et al. (1998) Molecular determinants of bacterial adhesion monitored by atomic force microscopy. PNAS 95, 11059–11064. pnas.org/content/95/19/11059.abstract

RÖMLING, U./KADER, A. et al. (2005) Worldwide distribution of *Pseudomonas aeruginosa* clone C strains in the aquatic environment and cystic fibrosis patients. Environ Microbiol 7, 1029–1038. dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00780.x

ROY, K./HILLIARD, G.M. et al. (2008a) Enterotoxigenic *Escherichia coli* EtpA mediates adhesion between flagella and host cells. Nature, advance online publication. dx.doi.org/10.1038/nature07568

ROY, K./HAMILTON, D. et al. (2008b) The EtpA exoprotein of enterotoxigenic *Escherichia coli* promotes intestinal colonization and is a protective antigen in an experimental model of murine infection. Infect. Immun. 76, 2106–2112. iai.asm.org/cgi/content/abstract/76/5/2106

SAIER, M.H. (2000) A functional-phylogenetic classification system for transmembrane solute transporters. Microbiol Mol Biol Rev 64, 354–411. mmbr.asm.org/cgi/content/abstract/64/2/354

SAIER, M.H. (2003) Tracing pathways of transport protein evolution. Molecular Microbiology 48, 1145–1156. dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03499.x

SAIER, M.H. (2004) Evolution of bacterial type III protein secretion systems. Trends Microbiol 12, 113–115. dx.doi.org/10.1016/j.tim.2004.01.003

SARAVANAN, M./VASU, K. et al. (2008) Evolution of sequence specificity in a restriction endonuclease by a point mutation. PNAS 105, 10344–10347. pnas.org/content/105/30/10344.abstract

SAUER, F.G./BARNHART, M. et al. (2000) Chaperone-assisted pilus assembly and bacterial attachment. Curr Opinion Struct Biology 10, 548–556. dx.doi.org/10.1016/S0959-440X(00)00129-9

SCANNELL, D.R./WOLFE, K.H. (2008) A burst of protein sequence evolution and a prolonged period of asymmetric evolution follow gene duplication in yeast. Genome Res. 18, 137–147. genome.cshlp.org/cgi/content/full/18/1/137

SCHULTES, E.A./BARTEL, D.P. (2000) One sequence, two ribozymes: implications for the emergence of new ribozyme folds. Science 289, 448–452. dx.doi.org/10.1126/science.289.5478.448

SHAKHNOVICH, B.E./KOONIN, E.V. (2006) Origins and impact of constraints in evolution of gene families. Genome Res 16, 1529–1536. genome.cshlp.org/cgi/content/full/16/12/1529

SHIGENOBU, S./WATANABE, H. et al. (2000) Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. Nature 407, 81–86. dx.doi.org/10.1038/35024074

SNYDER, L.A.S./LOMAN, N.J. et al. (2009) Bacterial flagellar diversity and evolution: seek simplicity and distrust it? Trends in Microbiology 17, 1–5. dx.doi.org/10.1016/j.tim.2008.10.002

STEPHENSON, K. (2005) Sec-dependent protein translocation across biological membranes: evolutionary conservation of an essential protein transport pathway (Review). Mol Membrane Biol 22, 17–28. www.informaworld.com/10.1080/09687860500063308

STOLTZFUS, A. (2006) Mutationism and the dual causation of evolutionary change. Evolution & Development 8, 304–317. dx.doi.org/10.1111/j.1525-142X.2006.00101.x

TAUTZ, D./LASSIG, M. (2004) Of statistics and genomes. Trends Genet 20, 344–346. dx.doi.org/10.1016/j.tig.2004.06.002

TELFORD, J.L./BAROCCHI, M.A. et al. (2006) Pili in gram-positive pathogens. Nat Rev Microbiol 4, 509v–v519. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1443

THANASSI, D.G./STATHOPOULOS, C. et al. (2005) Protein secretion in the absence of ATP: the autotransporter, two-partner secretion and chaperone/usher pathways of Gram-negative bacteria (Review). Mol Membrane Biol 22, 63–72. informaworld.com/10.1080/09687860500063290

THOMAS, C.M./NIELSEN, K.M. (2005) Mechanisms of, and barrierers to, Horizontal Gene Transfer between bacteria. Nat Rev Micro 3, 711–721. dx.doi.org/10.1038/nrmicro1234

THOMS, B./BORCHERS, I. et al. (2008) Effects of single-strand DNases ExoI, RecJ, ExoVII, and SbcCD on homologous recombination of recBCD+ strains of *Escherichia coli* and roles of SbcB15 and XonA2 ExoI mutant enzymes. J Bacteriol 190, 179–192. jb.asm.org/cgi/content/abstract/190/1/179

TOFT, C./FARES, M.A. (2008) The evolution of the flagellar assembly pathway in endosymbiotic bacterial genomes. Mol Biol Evol 25, 2069–2076. mbe.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/25/9/2069

TRACHTENBERG, S./COHEN-KRAUSZ, S. (2006) The archaeabacterial flagellar filament: a bacterial propeller with a pilus-like structure. J Mol Microbiol Biotechnol 11, 208–220. dx.doi.org/10.1159/000094055

TRUE, J.R./CARROLL, S.B. (2002) Gene co-option in physiological and morphological evolution. Ann Rev Cell Develop Biol 18, 53–80. dx.doi.org/10.1146/annurev.cellbio.18.020402.140619

UGALDE, J.A./CHANG, B.S.W. et al. (2004) Evolution of coral pigments recreated. Science 305, 1433. dx.doi.org/10.1126/science.1099597

VISWANATHAN, M./LOVETT, S.T. (1999) Exonuclease X of *Escherichia coli*. A novel 3'-5' DNase and Dnaq superfamily member involved in DNA repair. J Biol Chem 274, 30094–30100. jbc.org/cgi/content/full/274/42/30094

WAGNER, A. (2008) Gene duplications, robustness and evolutionary innovations. BioEssays 30, 367–373. dx.doi.org/10.1002/bies.20728

WATANABE, M./HIRAIDE, K. et al. (2007) Functional diversification of kir7.1 in cichlids accelerated by gene duplication. Gene 399, 46–52. dx.doi.org/10.1016/j.gene.2007.04.024

WEINREICH, D.M./DELANEY, N.F. et al. (2006) Darwinian evolution can follow only very few mutational paths to fitter proteins. Science 312, 111–114. dx.doi.org/10.1126/science.1123539

WOESE, C.R. (2004) A new biology for a new century. Microbiol Mol Biol Rev 68, 173–186. mmbr.asm.org/cgi/content/full/68/2/173

WOLLENBERG, K./SWAFFIELD, J.C. (2001) Evolution of proteasomal ATPases. Mol Biol Evol 18, 962–974. mbe.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/18/6/962

YEATES, T.O. (2007) Protein structure: evolutionary bridges to new folds. Curr Biol 17, R48–50. dx.doi.org/10.1016/j.cub.2006.12.003

YOKOYAMA, S./TADA, T. et al. (2008) Elucidation of phenotypic adaptations: Molecular analyses of dim-light vision proteins in vertebrates. PNAS 105, 13480–13485. pnas.org/content/105/36/13480.abstract

YOUNG, G.M./SCHMIEL, D.H. et al. (1999) A new pathway for the secretion of virulence factors by bacteria: the flagellar export apparatus functions as a protein-secretion system. PNAS 96, 6456–6461. pnas.org/content/96/11/6456

ZHAI, Y.F./HEIJNE, W. et al. (2003) Molecular modelling of the bacterial outer membrane receptor energizer, ExbBD/TonB, based on homology with the flagellar motor, MotAB. Biochim Biophys Acta 1614, 201–210. dx.doi.org/10.1016/S0005-2736(03)00176-7