

## **Zusammenfassung**

Mikrosporidien sind sporenbildende Parasiten, die verschiedene Organismen infizieren. Die Mikrosporidiose beeinträchtigt nicht nur die Agrarökonomie, sondern führt auch zu humanmedizinischen Krankheitsbildern. Etwa 1.400 Mikrosporidien wurden bislang beschrieben. Davon sind mindestens 14 Mikrosporidien bekannt, welche potenziell lebensbedrohliche infektiöse Krankheiten sowohl bei Menschen verursachen. Mikrosporidien wurden erstmals 1857 von Naegeli als Pilz klassifiziert. Einige detaillierte morphologische Untersuchungen gaben später starke Evidenzen für die Platzierung der Mikrosporidien innerhalb des Archezoa-Reiches. In den letzten Jahren wurde die Verwandtschaft zwischen Pilzen und Mikrosporidien erstmals durch molekulare phylogenetische Studien unterstützt.

Die exakte Position der Mikrosporidien bleibt aber im Speziesbaum der Pilze immer noch ungelöst. Dabei wird die Bestimmung des Ursprungs der Mikrosporidien durch deren reduzierten Genome weiter erschwert. Als obligate intrazelluläre Parasiten verminderten die Mikrosporidien ihre Genome soweit, dass deren Größe im Bereich bakterieller Genome liegt. Die geringe Anzahl von protein-kodierenden Genen deutet darauf hin, dass die Genome der Mikrosporidien nur Gene enthalten, die für ihr Überleben und ihre Entwicklung essentiell sind. Darüber hinaus fehlen den Mikrosporidien mehrere Stoffwechselwege, wie der Zitronensäurezyklus, die oxidative Phosphorylierung oder die *de novo* Biosynthese von Nukleotiden. Dies führt zu einer obligaten Abhängigkeit vom Wirt für viele primäre Metabolite. Das Vorhandensein des hsp70-Proteins setzt jedoch ein komplexeres Genom des mikrosporidischen Vorfahren voraus. Folglich ist die Reduktion der mikrosporidischen Genome und Stoffwechselwege auf Sekundärprozesse zurückzuführen. Es bleibt jedoch unklar, ob der mikrosporidische letzte gemeinsame Vorfahr (LCA) bereits reduziert wurde oder ob die Genomkomprimierung linienspezifisch war und von einem komplexeren LCA ausging.

Wir untersuchten daher die Entwicklungsgeschichte der heutigen Mikrosporidien durch die Rekonstruktion und Untersuchung ihres LCAs. Im ersten Schritt unserer Analyse haben wir ein Programm für eine intuitive Datenanalyse eines großen phylogenetischen Profils entwickelt. Außer dem An- und Abwesenheitsmuster des Profils, erlaubt das Programm die Einbindung von zusätzlichen Informationsebenen, wie beispielsweise der Feature Architektur Ähnlichkeit (FAS) zwischen dem untersuchten Protein und seinen Orthologen. Mit PhyloProfile können diese phylogenetischen Profile nun dynamisch visualisiert und untersucht werden. Im nächsten Schritt haben wir uns mit dem Problem befasst, wie man eine funktionale Annotation von einem Protein zum anderen übertragen kann. Dafür entwickelten wir HamFAS, einen neuen Ansatz der eine gezielte Orthologen-Suche basierend auf dem HamStR-Algorithmus mit einer gewichteten Bewertung von Feature Architektur Ähnlichkeiten (FAS) zwischen Orthologen integriert. Wir benchmarkten die Performance von HamFAS mit einem manuell kuratierten, KEGG-Ortholog-

annotierten, Hefeprotein-Set. Im Vergleich zu zwei häufig genutzten Annotationsprogrammen KAAS und BlastKOALA, erzielte HamFAS die beste Genauigkeit (98,5%) und zeigte eine höhere Sensitivität; HamFAS annotierte im Durchschnitt fast 50% mehr Proteine als die anderen Programme.

Mit diesen beiden Programmen haben wir die Entwicklungsgeschichte der Mikrosporidien rekonstruiert. Wir identifizierten ein evolutionär konserviertes mikrosporidisches Genset, welches aus 80 eins-zu-eins- Orthologen Gruppen besteht. Anschließend erstellten wir eine robuste Phylogenie der Mikrosporidien aus dem Genset zusammen mit den Daten von 48 Pilzen und 13 zusätzlich Spezies von weiter entfernten Verwandten, wie Tieren und Pflanzen. Diese Maximum-Likelihood-Analyse unterstützte die Hypothese, dass Mikrosporidien die Schwestergruppe der Pilze bilden. Die analysierten Daten erklären diese Verwandtschaftshypothese zwischen Mikrosporidien und Pilzen signifikant besser als alle anderen Hypothesen.

Auf der Grundlage dieser Phylogenie und der phylogenetischen Profile mikrosporidischer Proteine rekonstruierten wir die Dynamik der Genomentwicklung. Zwischen 2% und 49% der mikrosporidischen Proteine wurden in nur einer Art gefunden. Es bleibt ohne weitere Hinweise ungewiss, ob diese exklusiven Gene tatsächlich abstammungslinienspezifische Gene zur Wirtsanpassung sind oder ob sie Artefakte des Genannotationsprozesses sind. Insgesamt konnten 14.410 mikrosporidische Proteine zu 1605 orthologen Gruppen zusammengefasst werden, die zum LCA der Mikrosporidia (LCA Set) zurückverfolgt werden konnten. Wir können 94% der Proteinen des mikrosporidischen LCAs auf den letzten gemeinsamen Vorfahren aller Eukaryoten und 3% der Proteine auf den gemeinsamen Vorfahren der Pilze zurückverfolgen. Nur 3% der LCA-Proteine sind spezifisch für Mikrosporidien. Diese sind potentiell für die obligatorische parasitäre Lebensweise von Mikrosporidien zuständig.

Die funktionelle Annotation und die Analyse der Stoffwechselwege des mikrosporidischen LCAs ermöglichten ein besseres Verständnis der Anpassung von Mikrosporidien an ihre parasitäre Lebensweise und den Ursprung ihrer Genomreduktion. Die Anwesenheit Komponenten des Pyruvatdehydrogenase-Komplexes und des mitochondrialen hsp70-Proteins deuten darauf hin, dass die ancestralen Mikrosporidien Mitochondrien besaßen. Zusätzlich wurden mehrere evolutionär alte Proteine im mikrosporidischen LCA gefunden, die einige Lücken in Stoffwechselwegen schließen können. Dies deutet auf ein komplexeres Genom und einen aufwändigeren Metabolismus im LCA hin als bislang vermutet. Dem mikrosporidischen LCA fehlen jedoch weiterhin viele primäre Stoffwechselwege oder Schlüsselenzyme, deshalb nehmen wir an, dass die parasitische Lebensweise bereits im mikrosporidischen LCA vorkam. Die reduzierten Genome sind damit der ancestrale Zustand für die Mikrosporidien, welchem weitere Genverluste und Genzuwächse auf einzelnen mikrosporidischen Linien folgten.