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. Trotz dieser Evidenzen wurde die "Microsporidia-early" Hypothese in Frage gestellt. 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.

Die "Microsporidia-early" Hypothese kann durch den Mangel vieler typischer eukaryotischer Komponenten sowie auch den reduzierten Genomen der Mikrosporidien unterstützt werden. 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 uncharakterisierte hsp70-Protein setzt jedoch ein komplexeres Genom des mikrosporidischen Vorfahren voraus. Folglich ist die Reduktion der mikrosporidischen Genome und Stoffwechselwege auf Sekundärprozesse zurückzuführen.

Mikrosporidien können als Modellorganismen für die Untersuchung eines minimalen eukaryotischen Genoms und einer obligaten endoparasitischen Lebensweise in Eukaryoten dienen. Dennoch gibt es bislang nur wenig Studien über ihre Evolution und Metabolismen. Deshalb bedarf es einer umfassenden vergleichenden Analyse der Mikrosporidien.

Wir untersuchten daher die Entwicklungsgeschichte der heutigen Mikrosporidien durch die Rekonstruktion und Untersuchung ihres letzten gemeinsamen Vorfahrens (LCA). Für eine intuitive Datenanalyse der phylogenetischen Profile der Mikrosporidien entwickelten wir PhyloProfile, ein Programm für dynamische Visualisierung und Untersuchung von phylogenetischen Profilen. Außerdem präsentieren wir HamFAS, einen neuen Ansatz zur zuverlässigen funktionellen Annotation von Proteinen. HamFAS integriert eine gezielte Orthologen-Suche basierend auf dem HaMStR-Algorithmus mit einer gewichteten Bewertung von Feature Architektur Ähnlichkeiten (FAS) zwischen Orthologen. Wir benchmarkten die Performance von HamFAS mit einem manuell kuratierten, KO-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 47,5% mehr Proteine als die anderen Programme.

Um die Mikrosporidien besser im eukaryotischen Stammbaum zu platzieren, erstellten wir eine robuste Phylogenie der Mikrosporidien. Dafür verwendeten wir die Daten von elf mikrosporidischen Genomsequenzierungsprojekten. Wir identifizierten einen mikrosporidisches Geneset, welches aus 80 eins-zu-eins-Orthologen Gruppen besteht. Diese Gruppen dienten als Grundlage für die phylogenetische Rekonstruktion. Unser rekonstruierter phylogenetischer Baum beinhaltet 48 Pilze, die die gesamte Pilzdiversität abbilden, sowie andere repräsentative Arten der Unikonten und Bikonten. Der resultierende Baum unterstützt die Hypothese, dass Mikrosporidien den frühesten Zweig der Pilzevolution bilden. Die analysierten Daten erklären diese Verwandtschaftshypothese zwischen Mikrosporidien und Pilzen signifikant besser als alle anderen Hypothesen.

Unsere Studie der phylogenetischen Profile zeigt die dynamische Evolutionsgeschichte der mikrosporidischen Genomen. Je nach Mikrosporidium werden zwischen 2% und 49% der Proteine in nur einer Art gefunden. Diese privaten Proteine deuten darauf hin, dass sie für die Wirtsanpassung benötigt werden. Im Gegensatz dazu stehen jene Proteine, die in anderen Mikrosporidien gefunden werden und als essentiell und evolutionär alt angesehen werden. 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 von E1- und , E3-Komponenten des Pyruvatdehydrogenase-Komplexes und des mitochondrialen hsp70-Proteins deuten darauf hin, dass die anzestralen 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 anzestrale Zustand für die Mikrosporidien, welchem weitere Genverluste und Genzuwächse auf einzelnen mikrosporidischen Linien folgten.