Die Mikrosporidien sind sporenbildende Parasiten, die verschiedenen Organismen infizieren. Die Mikrosporidiose beeinträchtigen die Agrarökonomie als auch viele medizinische Probleme. Insbesondere wurden mindestens 14 Mikrosporidien bestätigt, die gefährliche infektiöse Krankheiten sowohl bei immunkompromittierten als auch bei immunkompetenten Menschen verursachen. Etwa 1.400 Mikrosporidien wurden beschrieben, die abhängig vom Wirtsarten und der Art der Umgebung in drei Gruppen zugeordnet sind, nämlich den Aquasporidien, den Terresporidien und den Marinosporidien.

Mikrosporidien wurden ursprünglich von Naegeli (1857) als Pilz klassifiziert. Wegen des Mangels vieler typischen eukaryotischen Komponenten wie Mitochondrien, Golgi-Apparat oder Peroxisomen wurden Mikrosporidien nachher jedoch zusammen mit anderen amitochondrischen Protisten innerhalb des Archezoa-Reiches gruppieren. Diese "Microsporidia-early" Hypothese wurde durch einige molekulare Phylogenien unterstützt. Trotz dieser Beweise wurde die Platzierung von Mikrosporidien als früh verzweigende Eukaryoten erörtert. Zum einem könnten die Phylogenie von Mikrosporidien durch die Rekonstruktionsalgorithmen verzerren. Die hohe evolutionäre Rate der mikrosporidischen Proteinen ​​neigt dazu, sie zusammen mit anderen schnell evolvierten Abstammungen aufgrund der Wirkung des Baumbildungsartefakts (long-branch-attraction) zu platzieren. Darüber hinaus schlägst das mitochondriale Hitzeschockprotein hsp70 den Ursprung der Mitochondrien vor. Als Konsequenz invalidierte es das morphologische Hauptargument für die "Microsporidia-early" Hypothese. Im Jahr 1996 wurde die Verwandtschaft zwischen Pilzen und Mikrosporidien erstmals durch molekulare phylogenetische Studien bestätigt. Anschließend wurden verschiedenen Untersuchungen, die auf einzelnen oder mehreren Genen basierten, Mikrosporidien in verschiedenen Positionen in der Pilzklade platziert, entweder neben Ascomycota, als Schwestergruppe von beiden Ascomycota und Basidiomycota, innerhalb der Zygomycota oder Crytomycota, oder als Schwestergruppe aller Pilze.

Bisher ist die exakte Position der Mikrosporidien im Spezienbaum, insbesondere deren Pilzverwandtschaft immer noch ungelöst. Die Schwierigkeiten bei der Bestimmung des Ursprungs von Mikrosporidien wurden nicht nur durch mehrere mangelnden zellulären Komponenten verursacht, sondern auch durch ihre reduzierten Genome und den Metabolismus.

Als obligatorische intrazelluläre Parasiten verminderten Mikrosporidien ihren Genome erfolgreich und führten zu einer Größe im Bereich der bakteriellen Genome. Das kleinste beschriebene eukaryotische Genom von *E.intestinalis* ist nur 2,3 Mbp, etwa halb so groß wie das von *E.coli*. Der geringen Anzahl von protein-kodierenden Genen (weniger als 4.000) annimmt, dass Mikrosporidien nur essentielle Gene enthalten, die für ihr Überleben und ihre Entwicklung benötigt werden. Darüber hinaus fehlten mehrere Stoffwechselwege in Mikrosporidien wie der Zitronensäurezyklus, die oxidative Phosphorylierung oder die *de novo* Biosynthese von Nukleotiden. Dies führt zu einer obligaten Abhängigkeit von vielen primären Metaboliten von den Wirten. Das uncharakterisierte hsp70-Protein setzt jedoch ein komplizierteres Genom des mikrosporidischen Vorfahren voraus. Folglich waren die Reduktion von mikrosporidischen Genomen und Stoffwechselwegen auf die Sekundärprozesse zurückzuführen.

Mikrosporidien werden zu Modellorganismen für die Untersuchung des minimalen eukaryotischen Genoms und der obligaten endoparasitischen Lebensweise in Eukaryoten. Darüber hinaus ist ein tieferes Verständnis der mikrosporidischen Physiologie erforderlich, um mit diesem Pathogen besser zu bewältigen. Dennoch gibt es aufgrund verschiedener Herausforderungen geringe Kenntnisse über die mikrosporidische Evolution und ihren Metabolismus. Zum einen behindert die obligate endoparasitische Lebensweise die Untersuchung von Mikrosporidien, die aus den Wirtszellen isoliert wurden. Für Mikrosporidien steht jedoch keine Technik zur genetischen Modifikation zur Verfügung. Daher bedarf es einer umfassenden vergleichenden Analyse der Mikrosporidien.

Daher untersuchten wir die Entwicklungsgeschichte der heutigen Mikrosporidien durch die Rekonstruktion und Untersuchung ihrer letzten gemeinsamen Vorfahre (LCA). Für eine intuitive Datenanalyse der phylogenetischen Profile der Mikrosporidien entwickelten wir PhyloProfile, ein Programm für dynamische Visualisierung und Untersuchung der mit anderen zusätzlichen Informationsebenen integrierten An- und Abwesenheitsmuster der mikrosporidischen Genen über mehrere Taxa im Lebensbaum ermöglicht. PhyloProfile schließt die methodologische Lücke, die zwischen Softwares bestand, um große phylogenetische Profile zu erzeugen, um die evolutionäre Geschichte und die gegenwärtige Verteilung großer - und schließlich vollständiger - Genmengen und die funktionalere Analyse einzelner Proteine zu beschreiben.

Außerdem schlagen wir HamFAS vor, einen neuen Ansatz zur zuverlässigen funktionellen Annotation von Proteinen. HamFAS integriert eine gezielte Ortholog-Suche basierend auf dem HaMStR-Algorithmus mit einer gewichteten Bewertung von Feature Architektur Ähnlichkeiten (FAS) zwischen Orthologen. In Kurze identifizieren wir für ein Seedprotein Orthologe in Referenzspezies, deren Proteine ​​anhand von manuellen Zuordnungen zu KEGG-Ortholog (KO) -Gruppen annotiert wurden. Die FAS-Werte zwischen den Orthologen und den Seedproteinen werden berechnet. Anschließend berechnen wir paarweise FAS-Werte für alle Referenzproteine ​​innerhalb einer KO-Gruppe. Der mittlere FAS-Wert einer Gruppe dient dann als einen Cutoff, der überschritten werden muss, um die Übertragung seines KO-Identifikation an den Seed zu rechtfertigen. Wir benchmarkten die Performance von HamFAS mit einem manuell kuratierten KO-annotierten Hefeprotein-Set. HamFAS ergab die beste Genauigkeit (98,5%) im Vergleich zu zwei State-of-the-Art Annotationstools von KEGG, KAAS und BlastKOALA. Darüber hinaus konnte HamFAS mit der Fähigkeit der Profilen des Hidden Markov Modelles, Orthologe zwischen entfernt verwandten Arten zu bestimmen, eine höhere Empfindlichkeit als die beiden anderen Tools erreichen, wobei 47,5% mehr Proteine ​​von HamFAS annotiert sind als durchschnittlich von KAAS oder BlastKOALA.

Wir verfolgten einen phylogenetischen Ansatz, um eine robuste Phylogenie von Mikrosporidien zu rekonstruieren und weiter identifizierten die Platzierung von Mikrosporidien in der eukaryotischer Baum. Um dies zu erreichen, verwendeten wir die Daten von elf Microsporidia-Sequenzierungsprojekten am Broad Institute und am Joint Genome Institute. Wir erfolgreich identifizierten einen mikrosporidischen Geneset, der aus 80 eins-zu-eins-orthologen Gruppen besteht, die als Grundlage für die Phylogenie-Rekonstruktion verwendet wurden. Unser rekonstruierter phylogenetischer Baum aus einer Vielzahl von Taxa, darunter 48 Pilze, die die gesamte Pilzdiversität sowie andere repräsentative Arten sowohl für Unikonten als auch für Bikonten repräsentieren, unterstützte kräftig die Hypothese, dass Mikrosporidien den frühen Zweig der Pilzgruppe bilden. Die analysierten Daten erklärten diese Mikrosporidien-Pilz-Verwandtschaft signifikant besser als alle anderen Hypothesen.

Unsere Studie der phylogenetischen Profilen zeigte die dynamische Evolutionsgeschichte der mikrosporidischen Genomen. Von 2% der Proteine in der kompakten Mikrosporidie *E.intestinalis* bis zu 49% die Proteine von *E.adis* wurden in anderen Mikrosporidien nicht gefunden. Diesen Proteinen wurde angenommen, dass sie dienlich sind, um den Wirtsbereich jeder Mikrosporidium zu untersuchen. Im Gegensatz dazu wurde anderen Proteinen essentiell und evolutionär alt erwartet. Wir schätzten 94% der Proteinen des mikrosporidischen LCAs, die auf den letzten gemeinsamen Vorfahren der Eukaryoten zurückverfolgt werden konnten, und 3% Proteine, die den gemeinsamen Vorfahren mit Pilzen teilten. Nur 3% LCA-Proteine sind Mikrosporidien-spezifisch, was für die obligatorische parasitäre Lebensweise von Mikrosporidien wichtig sein sollte.

Die funktionelle Annotation und die Analyse der Stoffwechselwege des mikrosporidischen LCAs gaben mehr Verständnis über die Anpassung von Mikrosporidien an ihre parasitäre Lebensweise, ebenso der Ursprung der Reduktion von Mikrosporidien. Die Anwesenheit von E1, E3-Komponenten des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes und des mitochondrialen hsp70-Proteins bestätigte erneut die Hypothese über den mitochondrialen Ursprung der anzestralen Mikrosporidien. Zusätzlich wurden mehrere neue Proteine ​​im mikrosporidischen LCA gefunden, die einige Lücken Stoffwechselwege ergänzen könnten. Sie wiesen ein kompliziertes Genom und aufwändigen Metabolismus im LCA hin. Der mikrosporidischen LCA fehlten jedoch immer noch viele primären Stoffwechselwege, wie der effektiven Energieproduktion Citratzyklus, oder Schlüsselenzyme, die für die *in vivo* Synthese von kritischen Metaboliten wie Purinen und Pyrimidinen benötigt werden. Zusammenfassend nehmen wir an, dass die parasitische Lebensweise bereits in der mikrosporidischen LCA vorkam. Und die Reduktion der Mikrosporidien war ein angestammter Zustand, der durch weitere Ausfälle und Zuwachs der Genen während der Entwicklung jeder einzelnen mikrosporidischen Linie folgte.