

Angepasst an die Eiszeit

Gene von Mammuts enthüllen: Ihr Hämoglobin funktionierte noch bei tiefen Temperaturen gut und versorgte selbst kalte Füße.

Von Kevin L. Campbell und Michael Hofreiter

Das Bild, das wir uns von ausgestorbenen Tieren machen, beruhte lange hauptsächlich auf Studien von Versteinerungen. An Knochen- und Zahnfossilien lesen Paläontologen vieles ab: nicht nur Größe und Statur einer Art, sondern auch etwa die Ausbildung der Muskulatur, die Bewegungsweise sowie die Fressgewohnheiten. In seltenen Fällen tauchen zudem mumifizierte oder eingefrorene Kadaver auf, die zusätzliche Erkenntnisse liefern. Solche Funde geben mit etwas Glück Einzelheiten preis wie die Felldicke eines Tiers, manchmal sogar dessen Farbe, die Ohrform oder die letzte Mahlzeit. Näheres über besondere physiologische Anpassungen war allerdings bisher kaum in Erfahrung zu bringen.

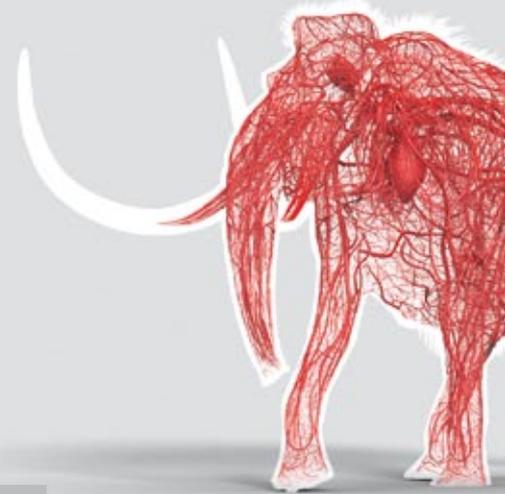
Doch langsam schließt sich diese Wissenslücke. Dank der Fortschritte der Biotechnologie lassen sich nun auch Gene längst verschwundener Geschöpfe herstellen, die zugehörigen Proteine produzieren und dann ihre Funktionen untersuchen. Das neue Forschungsgebiet, die Paläophysiologie, verspricht, Aufschluss über bisher unzugängliche Körperfunktionen einzelner Arten zu geben.

Ein Tier, das in extremen Umwelten zurechtkam, ist das Wollhaarmammut oder Wollmammut (*Mammuthus primigenius*) Eurasiens, das gegen Ende der letzten Vereisung ausstarb. Klonen wird man Mammuts sicherlich nicht so bald. Aber einzelne physische Prozesse lassen sich sehr wohl nachstellen und im Labor untersuchen.

Die Idee für unsere Studie kam einem von uns (Campbell) 2001, als er einen Fernsehbericht über die Bergung eines Mammuts aus dem sibirischen Dauerfrostboden anschaute. Nach der Euphorie um das Klonschaf Dolly, dessen Geburt 1997 bekannt gegeben worden war, hieß es in der Sendung, mit der konservierten DNA könnte man das Eiszeittier vielleicht demnächst wieder zum Leben erwecken – ein Irrtum, wie wir heute wissen. Campbell setzte sich ein viel bescheideneres Ziel. Er wollte herausfinden, wie sich der Dickhäuter, dessen nächster Verwandter der Indische Elefant ist, an das damalige harsche, kalte Klima der höheren Breiten angepasst hatte.

Fossilfunden zufolge stammten die Vorfahren der Mammuts aus subtropischen Ebenen Afrikas. Erst vor weniger als

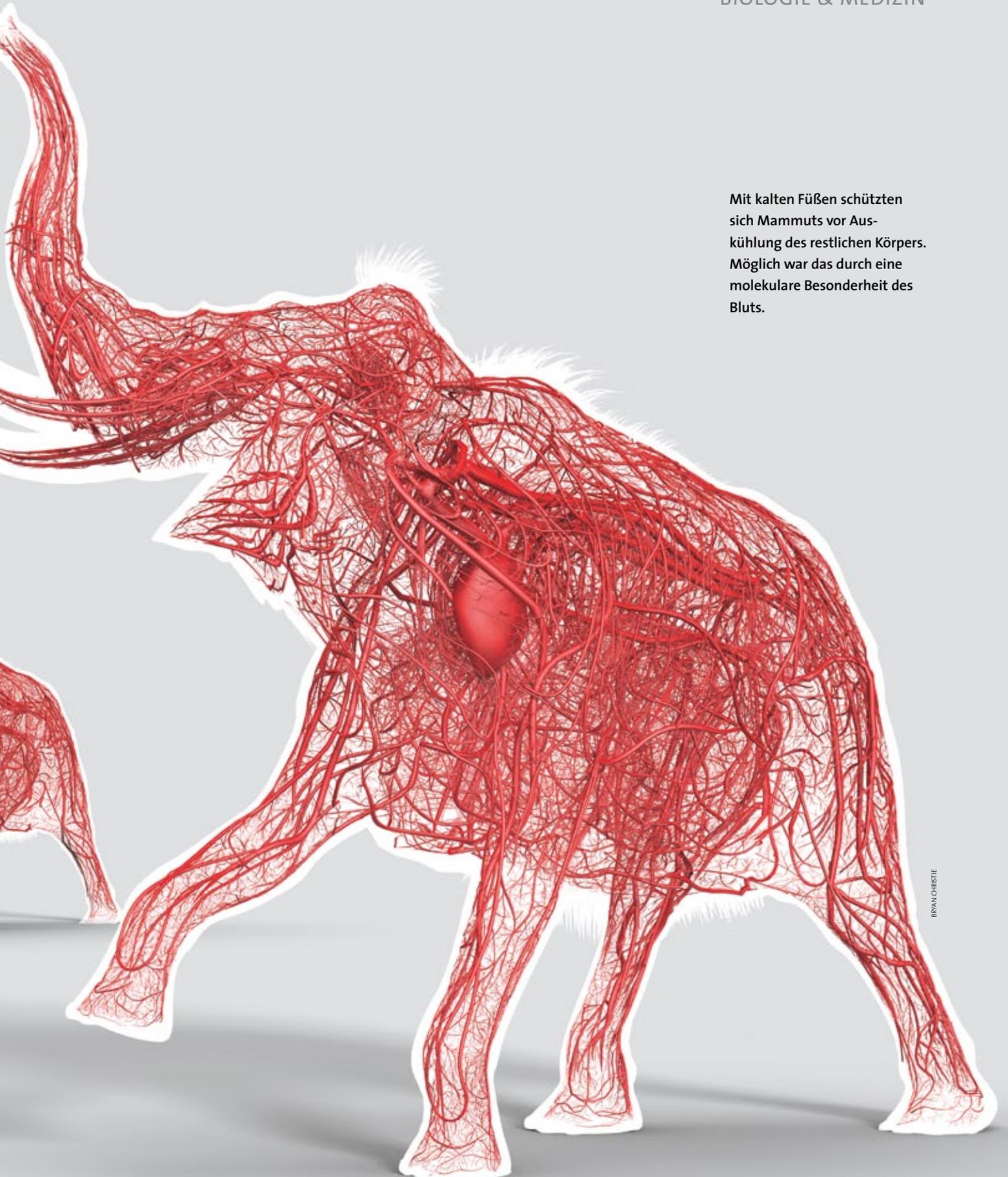
zwei Millionen Jahren gelangten die Rüsseltiere nach Sibirien. Da hatte schon das jetzige Pleistozän genannte Eiszeitalter eingesetzt, das eine Reihe von Kaltphasen mit sich bringen sollte. Während es im heißen Afrika, wie heute beim Afrikanischen Elefanten, für die Kolosse entscheidend gewesen war, einer Überhitzung des Körpers auch physiologisch entgegenzuwirken, so kam es nun eher darauf an, die Wärme zu bewahren. Viele denken da zuerst an eine gute Iso-



AUF EINEN BLICK

MOLEKULARBIOLOGIE AUSGESTORBENER TIERE

- 1 Um **physiologischen Anpassungen längst untergegangener Arten** zu erforschen, müssen Wissenschaftler sich nicht mehr nur auf Fossilien beschränken. Inzwischen gelingt es ihnen, vollständige Gene und die zugehörigen **Proteine zu rekonstruieren** und ihre Funktion im Labor zu untersuchen.
- 2 An bestimmten Pigmentfaktoren zeigt sich, dass es **blonde Mammuts** gab – und hellhäutige, rothaarige Neandertaler.
- 3 Mit rekonstruierten Mammutgenen gewannen Paläophysiologen **Mammothämoglobin** und erkannten daran, wie deren Blut der Kälte trotzte.

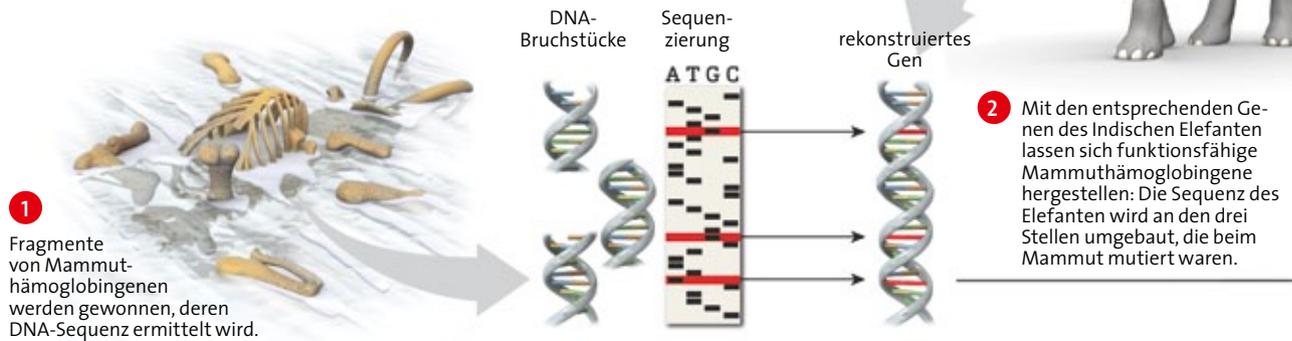


Mit kalten Füßen schützten sich Mammuts vor Auskühlung des restlichen Körpers. Möglich war das durch eine molekulare Besonderheit des Bluts.

BRVAN CHRISTIE

Mammutprotein zum Leben erweckt

Forscher können aus alter DNA komplette Gene gewinnen und die von ihnen kodierten Proteine herstellen. Auf die Weise haben sie den roten Blutfarbstoff Hämoglobin des vor Jahrtausenden ausgestorbenen Wollmammut erzeugt. Das Molekül weist Mutationen auf, die es befähigen, selbst kalten Geweben Sauerstoff zu liefern.



lierung wie die dicke Unterwolle der Mammuts oder an Fettschichten unter der Haut. Doch wahrscheinlich spielten solche physikalischen Faktoren eher eine Nebenrolle. Um in großer Kälte zu überleben, mussten verschiedene physiologische Prozesse hinzukommen und ineinandergreifen.

Uns war klar, dass wir entsprechende Anpassungen nur aufdecken konnten, wenn es uns gelingen würde, aus einem Mammutkadaver DNA-Fragmente von Genen zu gewinnen und sie anhand derer zu rekonstruieren. Die gewissermaßen wieder zum Leben erweckten Erbfaktoren müsste man dann in einen Mikroorganismus einbauen und diesen dazu bringen, die zugehörigen Mammutproteine herzustellen. Anschließend ließe sich ihre physiologische Funktion im Labor nach allen Regeln der Kunst untersuchen und mit Proteinen heutiger Elefanten vergleichen. Methodisch ist solch ein Unterfangen enorm ambitioniert. Uns half jedoch, dass Paläogenetiker die Erforschung von Erbsequenzen aus Fossilien in den letzten Jahren stark vorantreiben konnten.

Sofern die Überreste eines vor Langem gestorbenen Körpers überhaupt noch DNA aufweisen, sind davon allenfalls winzigste Spuren vorhanden, und es handelt sich höchstens um sehr kurze, zudem an vielen Stellen chemisch veränderte Bruchstücke. Außer dem Genom im Zellkern besitzen Zellen noch ein viel kleineres, einfacher aufgebautes in ihren Mitochondrien, den Organellen für die Zellatmung. Eine Zelle hat nur einen Kern, aber Hunderte von Mitochondrien. Deswegen nahm man sich bei Mammuts anfangs dieses Erbgut vor und ermittelte daran die Abstammungsverhältnisse.

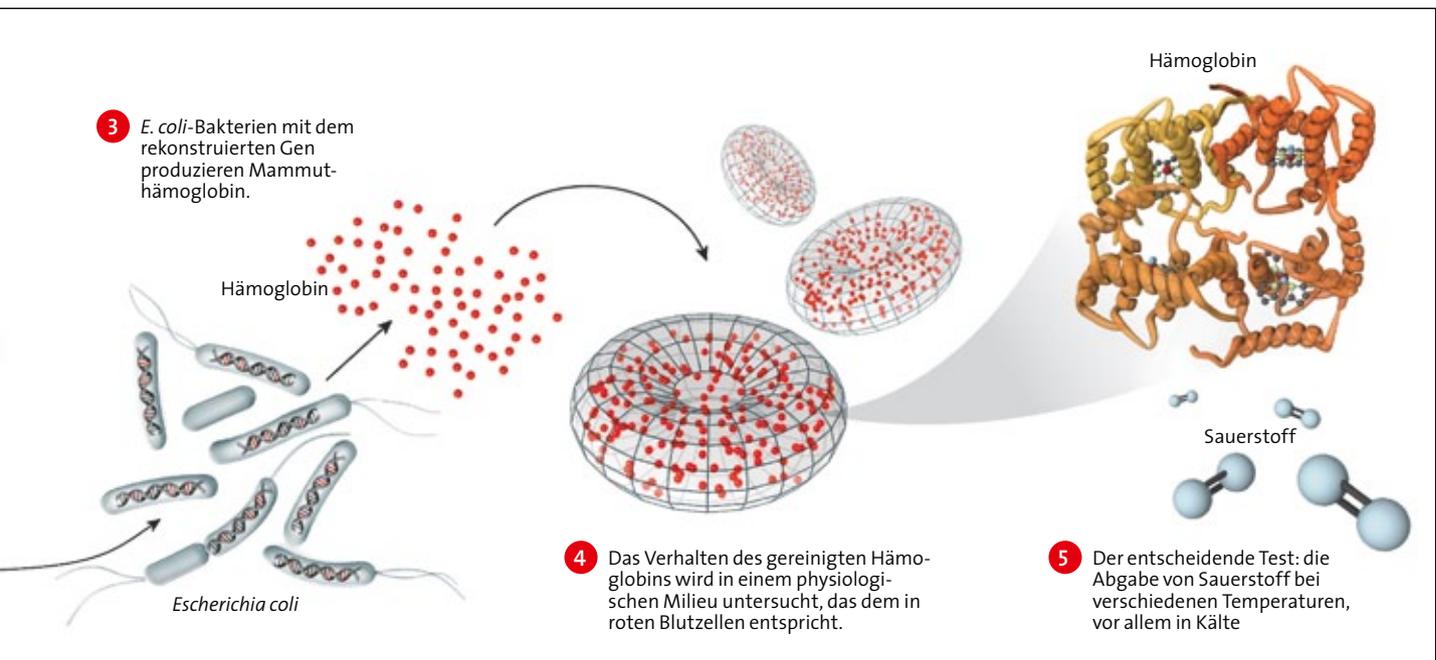
Allerdings enthält das Mitochondriengenom nur ein paar wenige Gene und reichte deswegen für unsere Zwecke nicht aus. Schon 1999 hatte eine Forschergruppe um Alex Greenwood, der heute an der freien Universität Berlin und am Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung arbeitet, gezeigt,

dass sich in gefrorenen Mammuts und anderen Eiszeittieren auch DNA-Bruchstücke des Zellkerns über mehrere zehntausend Jahre erhalten haben.

Mit ausgetüftelten Methoden zu alten Genen vordringen

Die Forscher konnten immerhin Fragmente aus bis zu 70 Nukleotiden gewinnen, den »Buchstaben« der Gene. Doch ein vollständiges Gen besteht aus hunderten oder tausenden Nukleotiden. Zudem hat das angewandte Verfahren viel von der alten DNA zerstört. Diese Schwierigkeiten überwand einer von uns (Hofreiter) mit Hilfe der so genannten Multiplex-PCR, einer molekularen Kettenreaktion, mit der Genetiker Abschnitte von heutiger DNA unter anderem für praktische Analysen schnell und effektiv vervielfältigen. Auf diese Weise erstellte Hofreiter mit einer Forschergruppe um Johannes Krause, der damals am Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie in Leipzig arbeitete, als Erster ein komplettes Mitochondriengenom des Wollmammut, das aus 16 500 Nukleotiden besteht.

Als es dem Team gelang, die Methode noch zu verfeinern, konnte es schließlich – erstmals von einer ausgestorbenen Spezies – ein komplettes Gen aus dem Zellkern rekonstruieren. Diese Erbsequenz stammte aus dem hervorragend erhaltenen Oberschenkelknochen eines Mammuts, das vor 43 000 Jahren in Nordsibirien gestorben war. Und zwar handelte es sich um das Gen für den Melanocortin-1-Rezeptor, kurz *MC1R*-Gen genannt. Bei Säugern und Vögeln bestimmt es die Fell- und Federpigmentierung mit. Dieses Gen bot sich für eine solche Studie schon deswegen an, weil es mit insgesamt nur 1236 Nukleotiden recht kurz ist, sich relativ leicht in ein Zellgenom einbauen lässt und seine Funktion in Zellen gut verfolgt werden kann.



Speziell wollten Hofreiter und seine Mitarbeiter herausfinden, ob Varianten dieses Gens dabei mitgespielt hatten, dass manche der im Permafrostboden gefundenen Mammuts ein helles und andere ein dunkles Fell aufweisen. Denn genauso gut hätten chemische Einflüsse aus dem umgebenden Boden die Färbung verändern können. Tatsächlich lieferte die Sequenzierung zwei verschiedene Varianten oder Allele. Eine davon unterschied sich vom entsprechenden Gen des Afrikanischen Elefanten lediglich in einem einzigen Nukleotid, die andere aber besaß noch drei weitere Mutationen – und diese bewirkten, dass im Protein drei andere Aminosäuren auftraten.

Ob das die Fellfarbe beeinflusst hatte, war jedoch nicht gleich klar. Zwei der Mutationen lagen an Stellen, die sich im Lauf der Evolution bei anderen Tieren kaum jemals verändert haben; heutige Arten mit einem vergleichbaren Muster waren damals nicht bekannt. Doch Untersuchungen zur Aktivität dieser Gene in Zellen ließen schließlich keinen Zweifel mehr: Zumindest eine der festgestellten Mutationen setzte die Aktivität des Pigmentierungsgens deutlich herab, besser gesagt schwächte die Funktion seines Proteins.

Zufällig entdeckte zu der Zeit Hopi Hoekstra, die damals an der University of California in San Diego arbeitete, mit ihren Kollegen, dass bei einigen Populationen der in Nordamerika lebenden Küstenmaus eine *MC1R*-Genvariante vorkommt, durch die im Protein die gleiche Aminosäure ausgetauscht ist wie beim Wollmammut. Und diese Mäuse sind dann hell gefärbt! Wir dürfen somit annehmen, dass manche Mammuts wohl tatsächlich blond waren – und dass besagte Variante des Pigmentierungsgens dazu beitrug.

Eine helle Maus ist im Sand gut getarnt, doch ein helles Mammut muss in der baumlosen sibirischen Landschaft weithin sichtbar gewesen sein. Der Pigmentverzicht mag

dort einen anderen Grund gehabt haben: Wärmegewinn. Zwar reflektiert ein farbloses Fell die Sonnenstrahlen, aber ein Teil davon streut zur Haut hin, während dunkle Haare die Strahlung, und somit Wärme, lediglich in der obersten Fellschicht einfangen. Im Wind, wie er sicherlich meist herrschte, geht diese Wärme rasch wieder verloren. Dass das Prinzip funktioniert, zeigen viele hell gefärbte Vögel und Säuger.

Der Erfolg dieser Studie ermutigte Hofreiters Forschungsgruppe, sich an eine ähnliche Untersuchung bei Neandertalern zu wagen. Es gelang, vom *MC1R*-Gen der archaischen Menschenart ein 128 Nukleotide langes Fragment zu gewinnen. Der kurze Abschnitt trug tatsächlich eine Mutation, die zu einem Aminosäureaustausch führte – und im Übrigen bei heutigen Menschen nicht vorkommt. Funktionsanalysen zeigten dann, dass ein Pigmentierungsprotein mit dieser Mutation weniger gut funktioniert als das menschliche Stan-





Dieses Mammutkalb starb vor 42 000 Jahren. Solche im sibirischen Eis konservierten Kadaver liefern eine Menge Erkenntnisse. Physiologische Anpassungen können jedoch nur molekulare Studien mit Hilfe von Gensequenzen enthüllen.

dardprotein. Vermutlich besaßen manche Neandertaler eine helle Haut und rote Haare, denn bei rothaarigen, hellhäutigen Europäern kommen in dem Gen andere Mutationen vor, die das Protein gleichfalls behindern. Möglicher Grund: In den nördlichen Breiten ist die zur Vitamin-D-Synthese benötigte ultraviolette Sonneneinstrahlung oft knapp. Helle Haut fängt mehr davon ein.

Energie sparen mit kälteresistentem Blut

Mit dem vorhandenen methodischen Rüstzeug sollte es nun möglich sein, physiologischen Prozessen bei ausgestorbenen Tieren nachzuspüren, also echte Paläophysiologie zu betreiben. Campbell fragte sich, ob Mammutblut biochemische Kälteanpassungen aufwies, wie sie heutige arktische Tiere besitzen. Speziell interessierten ihn Schutzmechanismen gegen einen Wärmeverlust über die Füße. Bei den großen Säugetieren, ob Rentier oder Moschusochse, verhindert ihn ein »Wundernetz« (Rete mirabile): Venen und Arterien in den Beinen verlaufen dicht antiparallel zueinander, wobei das zurückfließende kühle Venenblut dem Arterienblut, das aus dem Körperinneren kommt, Wärme entnimmt. Das vermeidet allzu große Wärmeeinbußen an den Extremitäten, und das Tier kann beim Erhalt der Kerntemperatur des Körpers Energie einsparen.

Die Füße solcher Arten sind infolgedessen bei Kälte aber nur wenige Grad warm. Dennoch erhalten die Gewebe der Extremitäten genügend Sauerstoff, um zu funktionieren –

und das ist nicht selbstverständlich. Denn der rote Blutfarbstoff Hämoglobin benötigt Energie in Form von Wärme, um den angelagerten Sauerstoff wieder abzugeben. Je kälter die Bedingungen, um so schlechter löst sich das Gas normalerweise ab. Heutige kälteadaptierte Säugetiere haben dafür eine Lösung gefunden: Dazu gehört, dass sich an das Hämoglobin in ihren roten Blutzellen zusätzliche Moleküle binden. Dieser Mechanismus, der noch nicht völlig verstanden ist, liefert offenbar die benötigte Wärmeenergie.

Benutzten die Mammuts einen ähnlichen Trick? Campbells Arbeitsgruppe wollte dies an ihrem Hämoglobin untersuchen. Auch planten die Forscher Vergleiche mit dem Indischen Elefanten, dem nächsten lebenden Verwandten. Sie schlossen sich für die Studie mit Alan Cooper von der University of Adelaide in Australien zusammen. Hämoglobin ist ein komplexes Molekül, dessen vier Globinketten bei erwachsenen Tieren von zwei verschiedenen Genen herrühren. Es gelang den Forschern zunächst nicht, Mammut-DNA von für ihre Zwecke ausreichender Qualität zu gewinnen. Daraufhin traten sie an Hofreiter heran. Mit dem gleichen DNA-Extrakt wie zuvor für das Pigmentierungsgen gelang es dem Team rasch, die kodierenden Anteile der beiden Hämoglobingene vollständig zu rekonstruieren und daraus die Aminosäureabfolge der beiden Globinketten abzuleiten.

Eine der beiden unterschied sich in drei ihrer insgesamt 146 Aminosäuren von der des Indischen Elefanten. Dafür, dass wir damit molekularen Veränderungen für eine Käl-

teanpassung auf der Spur waren, sprach zudem eine Mutation beim Menschen, das Rush-Hämoglobin. Bei dieser seltenen menschlichen Variante ist eine von den drei beim Mammuthäemoglobin veränderten Stellen im Aminosäurestrang mutiert. Die Folge sind deutlich andere biochemische Eigenschaften. Auf Kälte reagiert das Rush-Hämoglobin lange nicht so empfindlich wie normales und gibt darum bei tiefen Temperaturen viel leichter Sauerstoff ab. In dieser Hinsicht verhält es sich ähnlich wie die roten Blutfarbstoffe arktischer Tiere.

Um die Eigenschaften des Mammuthäemoglobins direkt zu untersuchen, bedienten wir uns intakter Gene vom Indischen Elefanten. Diese Erbfaktoren veränderten wir genau an den drei beim Mammuthäemoglobin mutierten Stellen, so dass sie nun deren Hämoglobin kodierten. Anschließend ließen wir *Escherichia coli*-Bakterien, denen wir die rekonstruierten Mammuthäemoglobingene eingepflanzt hatten, echtes Mammuthäemoglobin produzieren.

Mammuthäemoglobin im Labortest

Erstmals in der Forschungsgeschichte konnten wir damit nun einen wichtigen physiologischen Vorgang bei einem längst ausgestorbenen Tier im Labor genau so analysieren wie bei einem heute lebenden. Wir gaben die Hämoglobine von Mammuthäemoglobin und Elefant in Lösungen, die dem chemischen Milieu in roten Blutzellen ähnelten, und maßen die Bereitwilligkeit der Moleküle, bei verschiedenen physiologisch relevanten Temperaturen Sauerstoff zu binden und abzugeben. Wie vermutet, ließ das Mammuthäemoglobin das Gas bei tiefen Temperaturen tatsächlich viel leichter los als jenes des Indischen Elefanten – obwohl sich beide bei 37 Grad Celsius hierin gleich verhielten. Diese besondere Eigenschaft von Mammuthäemoglobin beruhte übrigens auf völlig anderen Mutationen als bei heutigen arktischen Säugern, bewirkte jedoch das Gleiche: Zusätzliche Substanzen gingen mit dem Blutfarbstoff eine Bindung ein, was Wärmeenergie für die Sauerstoffabgabe lieferte. Während die Mammuthäemoglobine in diesem Molekül ein voll funktionsfähiges kälteadaptiertes Hämoglobin besaßen, ist das menschliche Rush-Hämoglobin im Gegensatz dazu instabil. Träger des entsprechenden Gens leiden daher an Blutarmut. Die Gründe für den Unterschied sind noch unklar.

Die Kälteadaptation des Hämoglobins ist mit Sicherheit nur eine von vielen physiologischen Anpassungen, mit denen Mammuthäemoglobine der Eiszeit trotzten. Könnte man mehr über diese Mechanismen in Erfahrung bringen, wie auch über Lösungen, die andere ausgestorbene Arten entwickelt hatten, brächte das unser Verständnis evolutionsgeschichtlicher Hintergründe wichtiger Tiergruppen voran. Leider eignen sich die bisher von solchen Spezies gewonnenen Genomsequenzen für genauere Analysen von Molekülfunktionen wenig. Die meist verwendete so genannte Schrotschusstechnik – bei der die DNA zunächst in kurze Fragmente zerlegt wird, die später wieder zusammengesetzt werden – eignet sich zwar für einen ersten Überblick, doch die so erzielten Sequenzen sind eher Zufallsprodukte und in der Regel zu un-

genau und unvollständig für eingehende physiologische Studien. Um dem zu begegnen, wären so viele Durchläufe nötig, dass die Kosten nicht mehr vertretbar wären.

Viel günstiger und eher zielführend ist ein neues Verfahren, gezielt nur Gene »einzufangen« (englisch: Hybridisation Capture). Vielleicht wird es diese Methode bald sogar ermöglichen, genetische Netzwerke von Wollmammuthäemoglobin aus verschiedenen Populationen zu vergleichen, etwa von Tieren aus Sibirien und aus Spanien, sowie aus einzelnen eiszeitlichen Phasen, vor allem den warmen und kalten Abschnitten. Damit kämen nicht nur ihre genetischen Variationen zum Vorschein, sondern ebenfalls lokale Anpassungen an veränderte Klimabedingungen. Zudem beschäftigen wir uns bereits mit mehreren anderen verschwundenen Arten, darunter dem Mastodon, einem urzeitlichen Rüsseltier, das mit Elefanten nur fern verwandt war, und mit der im 18. Jahrhundert ausgerotteten Stellertiersche Seehund.

Bei aller Euphorie, einen Einblick in die letzten 50 000 Jahre Evolution zu erhalten, werden sich solche Untersuchungen auch zukünftig rein auf Tests im Labor beschränken, mit allen Grenzen, die das den Analysen setzt. Ein Mammuthäemoglobin oder eine andere ausgestorbene Art durch Klonen wieder zum Leben zu erwecken, erscheint derzeit utopisch. Aber es ist faszinierend genug, einzelne ihrer Proteine zu reanimieren. ~

DIE AUTOREN



Kevin L. Campbell (links) ist Professor für Umwelt- und Evolutionsphysiologie an der University of Manitoba (Kanada). Er erforscht Eigenschaften von Hämoglobin heutiger Säugertiere sowie das Verhalten und die Evolutionsgeschichte von rekonstruierten Proteinen ausgestorbener Arten.

Michael Hofreiter ist Professor für Biologie an der University of York (England). Er arbeitet unter anderem am Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie in Leipzig. An prähistorischen DNA-Sequenzen untersucht er Reaktionen von Körperfunktionen auf Umweltveränderungen.

QUELLEN

Campbell, K. L. et al.: Substitutions in Woolly Mammoth Hemoglobin Confer Biochemical Properties Adaptive for Cold Tolerance. In: *Nature Genetics* 42, S. 536–540, 2010

Krause, J. et al.: Multiplex Amplification of the Mammoth Mitochondrial Genome and the Evolution of Elephantidae. In: *Nature* 439, S. 724–727, 2006

Lalueza-Fox, C. et al.: A Melanocortin 1 Receptor Allele Suggests Varying Pigmentation among Neanderthals. In: *Science* 318, S. 1453–1455, 2007

Nogushi, H. et al.: Structures of Haemoglobin from Woolly Mammoth in Liganded and Unliganded States. In: *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* 68, S. 1441–1449, 2012

WEBLINK

Diesen Artikel sowie weiterführende Informationen finden Sie im Internet: www.spektrum.de/artikel/1199286