

## MHC- korrelierte sexuelle Selektion bei Mäusen und Menschen: Mechanismen und Beispiele

Dr. Thomas Rüllicke (Zürich)

### 1. Die Bedeutung der geschlechtlichen Fortpflanzung

Mittels ungeschlechtlicher Fortpflanzung kann eine Population theoretisch die doppelte Wachstumsrate einer gleich großen, sich jedoch geschlechtlich fortpflanzenden Paarungsgemeinschaft erreichen. Sexuelle Reproduktion ist deshalb ein kostspieliger Modus der Reproduktion. Trotzdem ist die geschlechtliche Fortpflanzung im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet. Selbst Bakterien, die sich üblicherweise vegetativ durch Teilung vermehren, haben sog. parasexuelle Mechanismen entwickelt, die z. B. durch einen zeitweiligen Zellkontakt den direkten Austausch bzw. die Übertragung von Erbmaterial ermöglichen (Konjugation). Durch den Sexualpilus, eine Proteinröhre, wird bei der Konjugation genetisches Material in Form von Plasmiden von einer Bakterienzelle in eine andere transportiert. Als ringförmige, autonom replizierende DNA-Moleküle dienen Plasmide u. a. als Vektoren für Antibiotikaresistenzgene. Unter dem selektiven Druck von Antibiotika können Bakterien auf diese Weise schneller resistente Varianten bilden und so das Überleben des Stammes sichern.

Die zentrale Bedeutung der geschlechtlichen Fortpflanzung wird im Rahmen der Evolution allgemein in ähnlicher Weise mit der Neukombination genetischer Informationen begründet. Unter den Nachkommen entstehen dadurch genetische Varianten, die im Vergleich zu den Eltern unter spezifischen Bedingungen vorteilhafter sein können. Dieser, als genetische Rekombination bezeichnete Vorgang, beruht auf zwei grundlegenden Prozessen der Sexualität: (i) Der zufällige Aufteilung der elterlichen Erbanlagen eines Organismus bei der Bildung seiner Keimzellen (Meiose) und (ii) der Verschmelzung von zwei haploiden Gameten zur diploiden Zygote (Befruchtung). Durch zufällige Mutationen entstehen neue Allele, mit anderen Worten, der Polymorphismus für ein Gen. Mutationen sind jedoch ungerichtet. Die Ausrichtung der Entwicklung einer Spezies im Verlauf der Evolution erfolgt durch die Selektion der unter den jeweiligen Bedingungen am besten geeigneten Varianten. Die genetische Rekombination fungiert als Vermittler zwischen Mutation und Selektion, indem sie den weitaus größten Teil der Merkmalsvariabilität erzeugt (Abb.1).

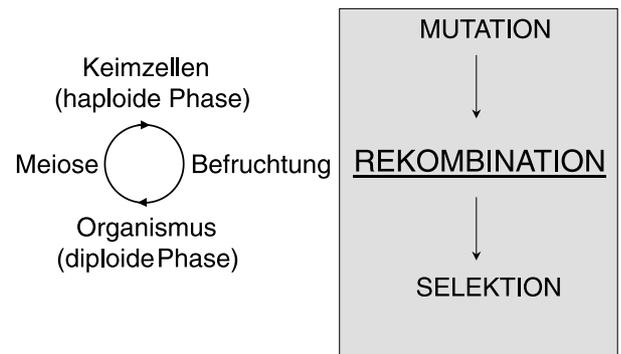
### Wieso ist genetische Variabilität für das Überleben einer Art so wichtig?

Im Zentrum dieser Frage steht die Fitness bzw. die Variabilität der Fitnessmerkmale einer Population. Fitness bedeutet im biologischen Sinn Lebensfähigkeit und Fruchtbarkeit. FISHER (1929) fasste dem entsprechend das Grundtheorem der natürlichen Selektion in folgende Form:

„The rate of increase in fitness of any organism at any time is equal to its genetic variance in fitness at that time.“

Ein Beispiel soll die Bedeutung von genetischer Variabilität in den Fitnessmerkmalen für das Überleben einer Population verdeutlichen. WULLENWEBER und Mitarbeiter (1990) berichteten über die Infizierbarkeit verschiedener

**Abbildung 1: Der sexuelle Lebenszyklus und seine Bedeutung für die Wirksamkeit der Evolutionsfaktoren - den weitaus größten Teil der genetischer Vielfalt einer Population mit geschlechtlicher Fortpflanzung verursacht die genetische Rekombination**



Inzuchtmausstämmen und deren Hybriden mit *Streptobacillus moniliformis*. Der Erreger war als Ursache schwerer pathologischer Veränderungen in einer Zuchteinheit bestimmt worden. Auffallend war, dass von den verschiedenen Stämmen der betroffenen Zuchteinheit nur Mäuse des Inzuchtstammes C57BL/6 erkrankten, d. h. dass die Fitness der Mitglieder dieses Stammes unter diesen Bedingungen schlecht war. Durch eine experimentelle Infektion konnte die stammspezifische Empfänglichkeit für diesen Erreger bestätigt werden (Tab.1).

**Tabelle 1: Ergebnisse der oralen Infektion von verschiedenen Mausstämmen mit *Streptobacillus moniliformis* (Sm). (WULLENWEBER et al., 1990)**

	C57BL/6	BALB/c	CB6F1	DBA/2	B6D2F1
Erkrankung	11/20*	0/20	0/20	0/20	0/20
Sm-Isolation	11/20	0/20	0/20	0/20	0/20

\*n positiv / n total

Ein Inzuchtstamm zeichnet sich u. a. dadurch aus, dass alle zugehörigen Tiere untereinander genetisch nahezu identisch sind. Alle Mitglieder des Inzuchtstammes C57BL/6 entsprechen somit einer einzigen genetischen Variante der Spezies *Mus musculus*. Bezüglich der Widerstandsfähigkeit gegen den Krankheitserreger *Streptobacillus moniliformis* stellt dieser Stamm eine nachteilige Variante dar. Dieser eine Krankheitserreger reduziert die Fitness von C57BL/6 so stark, dass das Fortbestehen dieses Stammes gefährdet wäre. Dagegen genügt bereits eine Generation geschlechtlicher Fortpflanzung mit einem genetisch fremden Stamm, damit alle Nachkommen dem Selektionsdruck dieses Erregers widerstehen können. Die F1-Hybriden aus verschiedenen Kreuzungen erwiesen

sich als resistent. Die Erbanlagen der augenblicklich benachteiligten genetischen Variante C57BL/6 blieben auf diese Weise in der Population erhalten.

Die evolutionäre Bedeutung der geschlechtlichen Fortpflanzung wird u. a. mit der Erzeugung genetischer Varianten begründet, die im Prozess der natürlichen Selektion dem Druck selektiver Kräfte widerstehen. Eine Population wird dadurch in die Lage versetzt, schnell auf wechselnde Umweltbedingungen zu reagieren. Hervorzuheben ist besonders der selektive Druck durch eine Vielzahl sich fortlaufend verändernder Krankheitserreger, was zu einer Art anhaltender Co-Evolution zwischen Parasiten und ihren Wirtsorganismen führt (HAMILTON und ZUK, 1982).

**2. Fitness und Polymorphismus am MHC**

Das oben erwähnte Beispiel unterschiedlicher Reaktionen von Inzuchtstämmen auf eine Infektion mit dem Krankheitserreger *Streptobacillus moniliformis* weist darauf hin, dass die beteiligten Erbfaktoren zwei wichtige Eigenschaften aufweisen: Es muss sich um Gene handeln, die (i) polymorph sind und (ii) im weitesten Sinn das Immunsystem beeinflussen.

Schätzungen gehen davon aus, dass ca. 30 % der Gene des Mausgenoms polymorph sind, d. h. zwei oder mehrere Allele pro Locus existieren. Auffallend in diesem Zusammenhang ist jedoch eine Gruppe von Genen, die für einen extrem hohen Polymorphismus bekannt sind - die Gene des MHC (Haupthistokompatibilitätskomplex). Für einige MHC-Gene wurden bereits mehr als 60 Allele nachgewiesen.

Der MHC ist eine Gruppe von eng gekoppelten Genen, die bei allen bisher untersuchten Vertebraten gefunden wurde. Wegen seiner grossen medizinischen Bedeutung ist dieser Genkomplex seit geraumer Zeit Gegenstand intensiver Untersuchungen. Die klassischen MHC-Moleküle spielen u. a. bei der Aktivierung und Kontrolle der Immunantwort gegen die Infektion pathogener Erreger eine wichtige Rolle.

Durch die enge Kopplung ist eine spezifische Zusammenstellung von Allelen der verschiedenen MHC-Gene sehr stabil. Eine solche Kombination wird als Haplotyp bezeichnet. Der extreme Polymorphismus der MHC-Gene führt, unterstützt durch die Co-Dominanz zwischen den Allelen, zu einer ungeheuer grossen Zahl an möglichen MHC-Phänotypen. Interessanterweise wirken sich die polymorphen Sequenzabschnitte der MHC-Loci hauptsächlich in solchen Epitopen der Moleküle aus, die für die Antigenpräsentation zuständig sind, d. h. sie besitzen funktionelle Relevanz (HEDRICK, 1994).

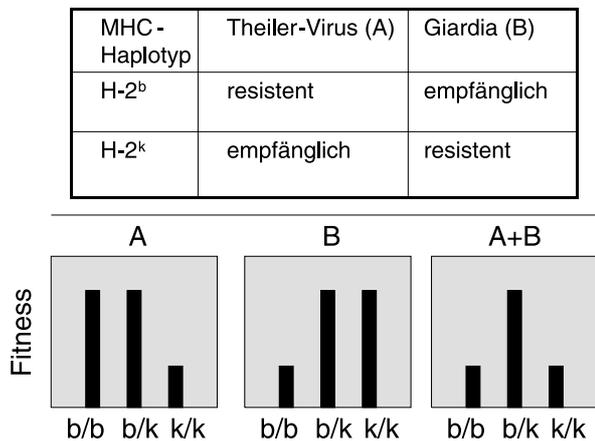
**Wieso sind die Gene am MHC so außergewöhnlich polymorph und wie wird dieser Polymorphismus erhalten?**

Für Labormäuse, aber auch für andere Spezies einschließlich des Menschen sind Beispiele bekannt, dass genetisch bedingte Unterschiede bezüglich der Resistenz bzw. Empfänglichkeit gegenüber bestimmten Krankheitserregern existieren. MHC-Gene besitzen eine co-dominante Expression. Das kann für MHC-heterozygote Organismen einen Selektionsvorteil bedeuten, da sie im Fall einer Infektion über ein breiteres Reaktionsspektrum verfügen. Bei Menschen besteht z. B. ein Heterozygoten-

vorteil (MHC Klasse-II Locus) im Fall einer Hepatitis B-Infektion (THURSZ et al., 1997).

Für den Erhalt des Polymorphismus am MHC hat die co-dominante Expression der MHC-Allele eine wichtige Konsequenz. Durch den hohen Selektionsdruck, den ein Krankheitserreger ausübt, kann ein empfänglicher Haplotyp zwar stark reduziert werden, durch die Widerstandsfähigkeit heterozygoter Organismen aber praktisch nicht vollständig für die Population verloren gehen. Die Vielzahl der sich ständig weiterentwickelnden Krankheitserreger sorgt somit im Rahmen der Co-Evolution zwischen Parasit und Wirt selbst für den Erhalt der großen Vielfalt am MHC einer Spezies (Abb. 2).

**Abbildung 2: Der Heterozygotenvorteil bei multipler Infektionslast: besteht ein Zusammenhang zwischen einem Haplotyp und der Resistenz gegen bestimmte Krankheitserreger, besitzen die MHC-heterozygoten Individuen einen kombinierten Schutz?**



**3. Genetische Optimierung der Nachkommenschaft**

Obwohl einfach nachvollziehbar, kann die genetische Rekombination als Begründung der evolutionären Bedeutung der geschlechtlichen Fortpflanzung z. T. in Frage gestellt werden. Besonders vorteilhafte genetische Varianten gehen schließlich mit jeder Generation genau durch den Vorgang, der sie ursprünglich hervorbrachte, auch wieder verloren - mit der Neukombination der Erbanlagen in der geschlechtlichen Fortpflanzung.

Zur Lösung dieses Widerspruchs kann die Vermutung beitragen, dass mit der Bereitstellung unendlich vieler genetischer Varianten (die unter den jeweils vorherrschenden Lebensbedingungen sowohl positiv wie negativ sein können) die evolutionäre Bedeutung der geschlechtlichen Fortpflanzung nicht erschöpft ist. Beobachtungen und experimentelle Ergebnisse aus verschiedenen Spezies weisen darauf hin, dass sexuelle Reproduktion neben der Erzeugung einer breiten Variabilität auch die Möglichkeit zur genetischen Optimierung der Nachkommenschaft bietet. Man könnte von einer Korrektur des Zufalls sprechen, nach dessen Prinzip die genetische Rekombination verläuft.

Die Mechanismen zur gerichteten Beeinflussung der Nachkommenschaft werden unter dem Begriff sexuelle Selektion zusammengefasst. Ihre Wirkung beginnt mit der Wahl

des Paarungspartners und endet mit der Geburt bzw. Aufzucht der Nachkommen. Dazwischen ergeben sich Möglichkeiten zur Beeinflussung durch eine selektive Befruchtung und dem selektiven Abort.

#### 4. Die selektive Partnerwahl

Ein Selektionsmechanismus ist dann besonders effizient, wenn er möglichst früh, d. h. ohne große Vergeudung von Ressourcen wirkt. Bei Säugetieren ist der Fortpflanzungsprozess sehr aufwändig und besonders für das weibliche Geschlecht die Zahl möglicher Nachkommen eingeschränkt. Die richtige Partnerwahl ist deshalb ein wichtiges Kriterium, um die Fitness der Nachkommen positiv zu beeinflussen.

Partnerselektion ist als konditionale Wahl zu verstehen, die die Fitness eines Individuums unter den aktuellen Lebensbedingungen, d. h. unter dem Druck vorherrschender pathogener Erreger, bewertet. Als Ausdruck der Fitness findet man in der Tierwelt zur Paarungszeit häufig stark ausgeprägte Farben und Formen. Diese dienen wahrscheinlich auch zur Abschreckung von Konkurrenten bei der Partnersuche. Hauptsächlich sind es jedoch Signale für den anderen Paarungspartner, dass mit dieser Wahl 'gute Gene' für die Nachkommen zu erhalten sind. Organismen mit schlechter Fitness (ungünstiger genetischer Veranlagung) haben in der Regel keine ausreichenden Reserven, um diese Signale mit der nötigen Intensität auszuprägen.

Auch beim Menschen muss den Äußerlichkeiten bei der Partnersuche eine wichtige Rolle zuerkannt werden. Neben auffallenden Formen, Farben und Düften nehmen aber auch solche Eigenschaften wie Intelligenz, Sprache, Kreativität und Humor einen wichtigen Platz ein. Wie sonst hätten sich diese Eigenschaften im Verlauf der menschlichen Evolution auf ein derart hohes Niveau entwickeln können, wenn sie nicht ebenfalls Sexualpartner anziehen würden?

'Gute Gene' für die Nachkommen ist ein wichtiger Aspekt. Mit der **Wahl des Paarungspartners** muss aber noch eine **zweite Aufgabe** gelöst werden: Der Ausschluss verwandter Individuen als Paarungspartner zur Vermeidung von Inzucht und den damit verbundenen negativen Folgen für die Nachkommen.

In den verschiedenen Kulturen der Menschen wird die Partnerwahl durch das Inzuchttabu eingeschränkt. Die hohe Wahrscheinlichkeit nachteiliger Effekte bei Homozygotie rezessiver Allele kann aber auch direkt einen Selektionsdruck ausüben. Als Folge kommt es bei den Organismen zur Ausbildung von spezifischen Merkmalen bzw. Eigenschaften, die helfen Inzest zu vermeiden. Einigen Pflanzen, bei denen die Gefahr der Selbstbefruchtung sehr groß ist, haben z. B. SI-Systeme (self incompatibility) entwickelt, die eine Befruchtung mit dem eigenen Pollen effizient verhindern (MATTON et al., 1994; LI et al., 2001). Aber auch bei den Menschen und in der Tierwelt haben sich Mechanismen entwickelt, die gegen die Zeugung von Nachkommen zwischen verwandten Individuen wirken.

Am Beispiel von Mäusen wurde unter seminaturalen Bedingungen ein signifikantes Defizit an MHC-homozygoten Nachkommen beobachtet. Weibliche Tiere verließen zur Paarung häufig das Territorium der eigenen Sippe. Unter den Nachkommen dieser 'Seitensprünge' war der relative Anteil MHC-homozygoter Tiere sogar um 41 % geringer,

als man es aus Paarungen innerhalb der Sippe erwarten würde (POTTS et al., 1991). Die Vermutung liegt deshalb nahe, dass sich Mausweibchen bevorzugt mit MHC-fremden Männchen verpaaren und der MHC als Marker für den Grad der genetischen Ähnlichkeit zweier Individuen dienen könnte.

Geschlechtsspezifische Stimuli werden durch Pheromone (Sexuallockstoffe) ausgelöst, die bei den meisten Säugetieren an Rezeptoren auf dem chemosensorischen Epithel des Vomeronasalorgans (VNO) in der Nasenhöhle binden. Dort induzierte Signale werden via dem akzessorischen Riechkolben an den Hypothalamus weiter geleitet, wo sie physiologische Veränderungen bewirken die das reproduktive Verhalten beeinflussen. Neben der selektiven Partnerwahl sind als pheromonal induzierte Reaktionen bei der Maus der Lee-Boot-Effekt (Modifikation des Östruszyklus), der Vandenberg-Effekt (Induktion der Pubertät), der Whitten-Effekt (Induktion des Östrus) und der Bruce-Effekt (Blockade der Implantation) bekannt. Unklar ist, wie MHC-Moleküle, die sich gewöhnlich auf der Oberfläche von Zellen befinden, von den Paarungspartnern erkannt werden und an dieser Signalkaskade teilnehmen. Zwar wurden z. B. im Urin von Ratten MHC Klasse-I Moleküle in löslicher Form nachgewiesen (SINGH et al., 1987). Als relativ große Glykoproteine sind diese aber eher nicht volatil. Auch scheinen chemische Signale des Urins bei Mäusen stark durch die Beteiligung von polymorphen MUPs (major urinary proteins) geprägt zu sein, die volatile Pheromone binden und dosiert aus den Duftmarken entlassen (HURST et al., 2001). Verhaltenswirksame Duftmarken werden bei Tieren aber neben dem Urin auch über Haut- und Sexualekrete sowie über den Speichel gesetzt.

Gesichert ist, dass die Fähigkeit zur Unterscheidung von fremden und verwandten Individuen unter Mäusen ein Lernprozess ist, der unmittelbar nach der Geburt stattfindet und als olfaktorisches Imprinting bezeichnet wird (YAMAZAKI et al., 1988; BEAUCHAMP et al., 1988). Neben verschiedenen Aspekten des Sozialverhaltens bilden sich in dieser Lebensphase auch künftige MHC-Präferenzen bei der Wahl des Paarungspartners heraus (PENN und POTTS, 1998).

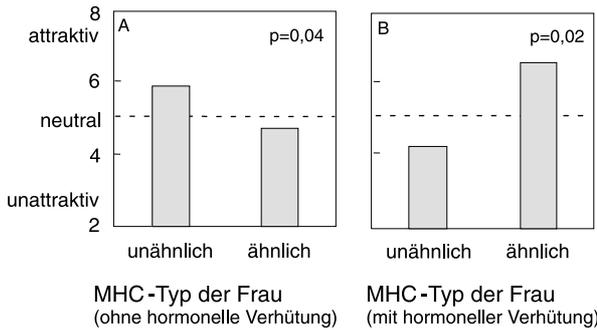
MHC-korrelierte Paarungspräferenzen wurden nicht nur bei Nagern wie Mäusen und Ratten (BROWN et al., 1987), sondern auch bei Menschen (WEDEKIND et al., 1995; OBER et al., 1997) beobachtet.

Obwohl die Expression von Pheromonrezeptoren in der olfaktorischen Mukosa von erwachsenen Menschen nachgewiesen wurde, ist die Weiterleitung der induzierten Signale noch unklar (RODRIGUEZ et al., 2000). Dem VNO der Nager ähnliche Strukturen bilden sich beim Menschen schon bald nach der Geburt zurück und andere neuronale Verbindungen wurden bisher nicht gefunden. Trotzdem mehren sich die Hinweise, dass die Ovulation, die Menstruation und die Partnerwahl beim Menschen pheromonal/vomeronasal beeinflussbar sind (STERN und McCLINTOCK, 1998). Eine zentrale Rolle spielt dabei offenbar der Hypothalamus. Seine spezifische Aktivierung konnte auch durch geschlechtshormon-ähnliche Beimischungen zu Geruchsstoffen in beiden Geschlechtern induziert werden (SAVIC et al., 2001).

Als Mechanismus der sexuellen Selektion scheint die Partnerwahl bei Menschen durch den MHC bzw. durch gekoppelte Gene beeinflusst zu sein. In einer Studie an der Universität Bern beobachteten WEDEKIND und Mitarbei-

ter (1995), dass Frauen den Körpergeruch von solchen Männern attraktiver bewerteten, deren MHC dem eigenen unähnlich war. Einige Frauen fühlten sich durch die attraktiven Körpergerüche von männlichen Probanden sogar an frühere oder aktuelle Partner erinnert. Interessanterweise traf dieser signifikante Zusammenhang nur für Frauen zu, die nicht hormonal verhüteten (Abb.3).

**Abbildung 3: Beurteilung des Körpergeruchs von MHC-ähnlichen und -unähnlichen Männern auf Attraktivität\* (WEDEKIND et al., 1995)**



\* Die beurteilenden Frauen wurden in zwei Gruppen (mit bzw. ohne hormonelle Verhütung) unterteilt. Beurteilt wurde der Geruch von T-Shirts, die zuvor während zwei Nächten von den männlichen Probanden getragen wurden. Durch eine Rangordnung von 0=unattraktiv bis 10=sehr attraktiv und 5=neutral, wurde der Geruchseindruck bewertet.

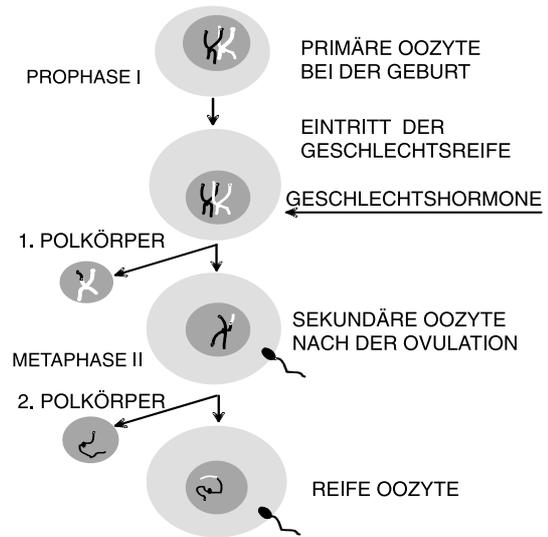
Dass die MHC-korrelierte Partnerwahl bei Menschen nicht nur experimentell sondern auch praktisch funktioniert, zeigt eine Studie der diesbezüglich am besten untersuchten humanen Population, den Hutteriten in Nordamerika. Unter 411 Paaren bestand für signifikant weniger Paare eine Ähnlichkeit im MHC, als statistisch zu erwarten war. Dieser Befund setzt eine nicht zufällige Partnerwahl voraus (OBER et al., 1997).

**5. Die selektive Befruchtung**

Mechanismen zur Beeinflussung des Genotyps der Nachkommen wirken auch im Zeitraum nach der Paarung bis zur Bildung der Zygote. Am Beginn dieses Prozesses steht die Reifung der Gameten, die besonders im weiblichen Geschlecht Spielraum für selektive Einflüsse lässt. Die Überlegung - warum die Meiose bei Säugern und Vögeln bis zum Zeitpunkt der Ovulation in der Prophase I stehen bleibt - kann auf einen weiteren Vorteil der geschlechtlichen Fortpflanzung hinweisen. Vom DNA-Gehalt im Kern entsprechen die primären Oozyten zum Zeitpunkt der Geburt 4C (1C ist der DNA-Gehalt einer haploiden Gamete). Die Weiterführung der Meiose findet erst nach dem Eintritt der Geschlechtsreife statt. Mit jedem Zyklus reifen einzelne Oozyten unter hormonellem Einfluss heran. Erst dann wird entschieden, welcher Teil des maternalen Genoms mit dem ersten Polkörper ausgeschieden wird. Die zweite meiotische Teilung findet bei vielen Spezies sogar erst nach der Ovulation, d. h. nach erfolgter Befruchtung, statt (Abb. 4).

Der extrem verzögerte Ablauf der Meiose kann beim Menschen einen Unterbruch von mehr als 40 Jahren bedeuten. Als Selektionsschritt verstanden ergibt sich im weiblichen Organismus mit der Ausstoßung des ersten und zweiten

**Abbildung 4: Stadien der Oogenese**



Polkörpers während der Reduktionsteilung die Möglichkeit, das haploide Genom der Keimzellen selektiv für die aktuellen Lebensbedingungen (Selektionsdruck durch Krankheitserreger) zu optimieren. Infolge Crossover können selbst zwischen den beiden Chromatiden der Bivalente in der Anaphase II genetische Unterschiede bestehen. Die Häufigkeit von zwei verschiedenen MHC-Allelen auf dem Bivalent von Chromosom 17 wurde für Mausoozyten auf etwa 30 % geschätzt (CUI et al., 1992).

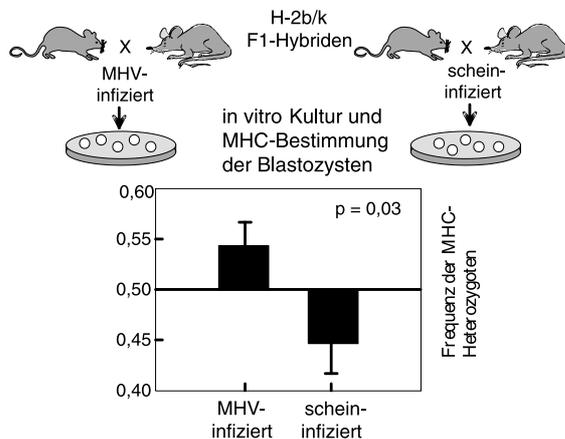
In einem Experiment zur Untersuchung von Mechanismen der sexuellen Selektion konnte gezeigt werden, dass bei Mäusen auch im Rahmen der Befruchtung eine gezielte Beeinflussung des Genotyps der Nachkommen möglich ist (WEDEKIND et al., 1996; RÜLICHE et al., 1998). Besonders bei polyandrisch lebenden Spezies liefert die Paarung mit verschiedenen Partnern eine Vergrößerung der genetischen Auswahl unter den Spermien bzw. verringert das Risiko einer Vaterschaft durch ein verwandtes Männchen. Die Funktion solcher Mechanismen konnte bei Sandeidechsen (OLSSON et al., 1996) und bei Grillen (TREGENZA und WEDELL, 2002) nachgewiesen werden und resultierte in einer Verbesserung der Lebensfähigkeit der Nachkommen.

Aber auch nach monogamer Paarung bietet die selektive Befruchtung den Weibchen post kopulatorisch die Möglichkeit, die Wahrscheinlichkeit einer Befruchtung ihrer Eizellen mit genetisch ungünstigen bzw. inkompatiblen Spermien zu vermindern. Um die Rolle des MHC für den Selektionsmechanismus während der Befruchtung bei Mäusen näher zu untersuchen, wurde ein Experiment mit F1-Hybriden aus der Kreuzung von zwei MHC-congenen Inzuchtstämmen durchgeführt. Die Heterozygotie beschränkte sich deshalb bei diesen Tieren auf den MHC.

Kreuzt man die F1-Hybriden unter sich weiter, sind in der F2-Generation 50 % MHC-homozygote bzw. -heterozygote Zygoten zu erwarten. Das Kreuzungsexperiment erfolgte in zwei Gruppen. In einer Gruppe wurden beide Geschlechter 5 Tage vor der Verpaarung mit dem Maus Hepatitis Virus (MHV) infiziert, in der Kontrollgruppe mit physiologischer NaCl-Lösung nur scheininfiziert. Die Ergebnisse in Abbildung 5 zeigen, dass unter dem Druck

der Infektion mit MHV signifikant mehr MHC-heterozygote Embryonen gezeugt wurden als in der scheininfizierten Gruppe.

**Abbildung 5: Sexuelle Selektion bei der Befruchtung\* (RÜLICHE et al., 1998)**



\* Aus einer Verpaarung von MHC-heterozygoten F1-Tieren, die aus der Kreuzung der congenen Stämme C57BL/10, H-2b und B10BR, H-2k resultierten, werden je 25 % MHC-homozygote und 50 % MHC-heterozygote Zygoten erwartet. Nach einer MHV-Infektion beider Eltern, steigt jedoch die Frequenz für MHC-heterozygote Blastozysten in der Infektionsgruppe im Vergleich zur scheininfizierten Kontrollgruppe signifikant an.

Dieser Befund deckt sich sowohl mit der 'parasite hypothesis' als auch mit der 'inbreeding avoidance hypothesis' zur Begründung von MHC-korrelierten Selektionsmechanismen. Wieso es unter pathogenfreien Bedingungen, also ohne selektiven Druck, häufiger zur Zeugung MHC-homozygoter Kombinationen kam, kann nur spekulativ beantwortet werden.

(i) Der Grund für die verstärkte Immunantwort in MHC-heterozygoten Tieren ist eine größere Zahl an T-Zell Spezifitäten. Die sich daraus ergebende verstärkte T-Zell Antwort kann aber auch in einen immunpathologischen Prozess münden, was sich für den Organismus fatal auswirkt (DOHERTY und ZINKERNAGEL, 1975).

(ii) Ein Modell zur Erklärung der Erhaltung der sexuellen Reproduktion basiert auf der Annahme, dass unterschiedliche Genotypen unterschiedliche Bereiche der Umwelt nutzen und asexuelle Populationen nicht in der Lage sind alle Umweltischen einzunehmen, die für sexuelle Populationen noch zugänglich sind (DONCASTER et al., 2000). Ohne selektiven Druck bringt eine erhöhte genetische Variabilität aber auch für eine sexuelle Population augenblicklich keinen Vorteil, da ihre Mitglieder einerseits gut an die vorherrschenden Umweltbedingungen angepasst sind und andererseits die Zeugung von negativen Varianten nur unnötig belastend wirkt. Erst unter einem Selektionsdruck (in diesem Fall eine Infektion mit MHV) öffnet sich die Population wieder durch eine Erhöhung der genetischen Variabilität, um eine schnellere Anpassung an die veränderten Lebensbedingungen zu gewährleisten.

Die Ergebnisse aus Abbildung 5 lassen keine Differenzierung des Selektionszeitpunktes während der Befruchtung zu. Selektive Mechanismen könnten bereits bei der Wanderung der Spermien zur Oozyte wirken. In der Tat

weist der extreme Unterschied zwischen der Anzahl ejakulierter Spermien und der Zahl, die den Ort der Befruchtung erreichen, generell auf eine solche Möglichkeit hin. Bei Mäusen wurde beobachtet, dass der Genotyp des Weibchens Einfluss auf die Wanderung bzw. den Transport der Spermien nahm. Von genetisch fremden Böckchen erreichten generell mehr Spermien die Ampulle im Eileiter, als nach einer Paarung mit Partnern des gleichen Inzuchtstammes (NICOL und McLAREN, 1974). Auf der Oberfläche von humanen Spermien konnten MHC-Moleküle nachgewiesen werden, die vielleicht als Ziel dieser Selektionsmechanismen dienen. Die Expression war allerdings nicht gleichmäßig konstant sondern folgte einem zyklischen Verlauf, der negativ mit dem Niveau des Hormons Inhibin B, einem Inhibitor der spermatogonialen Mitose, korrelierte (MARTIN-VILLA et al., 1999).

Auf großes Interesse stieß im Zusammenhang mit der selektiven Befruchtung auch der Befund, dass die Expression von olfaktorischen Rezeptoren nicht auf die Riechschleimhaut bzw. das VNO beschränkt ist, sondern auch in den Keimzellen von Säugetierhoden erfolgt (PARENTIER et al., 1992). Im menschlichen Genom sind einige Loci für olfaktorische Rezeptoren sehr eng mit dem MHC gekoppelt (FAN et al., 1995).

## 6. Der Bruce-Effekt

Mit der selektiven Partnerwahl und der selektiven Befruchtung sind die Möglichkeiten zur genetischen Optimierung der Nachkommen noch nicht ausgeschöpft. Unter dem Begriff 'cryptic female choice' wird auch die Wirkung des selektiven Abortes diskutiert.

Werden Mausweibchen nach der Befruchtung noch innerhalb der Präimplantationsphase dem Geruch eines fremden Bockes ausgesetzt, kann dieser Stimulus bei bis zu 100 % der so behandelten Tiere zum Abort (Graviditätsblockade) führen. Dieses, als Bruce-Effekt bezeichnete Phänomen (BRUCE, 1959), wird zum Teil durch MHC-korrelierte Signale hervorgerufen (YAMAZAKI et al., 1983). Wie bereits bei der selektiven Partnerwahl beschrieben, wird auch dieser Effekt durch Pheromone von Männchen über die Rezeptoren des Vomeronasalorgans von Weibchen vermittelt, deren endokrine Situation dadurch nachweislich beeinflusst wird. Der Bruce-Effekt wirkt hauptsächlich in der Hypophyse, wo es zu einer Unterdrückung der Sekretion von Prolaktin kommt (ROSSER et al., 1989). Prolaktin ist speziell bei Nagern wichtig für die Sekretion von Progesteron und die Aufrechterhaltung der sekretorischen Funktion der Gelbkörper.

Da nur ein fremder Bock als Stimulus einen Abort induzieren kann, wird angenommen, dass sich während der Paarung bei den Weibchen temporär ein olfaktorisches Imprint zur Wiedererkennung des Paarungspartners ausbildet. Dieser schützt ihre Trächtigkeit vor einer ungewollten Graviditätsblockade durch den gleichen Bock.

Ob der Bruce-Effekt von den Weibchen gezielt genutzt wird, um eine bestehende frühe Trächtigkeit zugunsten einer neuen abzubrechen, die für die Nachkommen 'bessere Gene' verspricht, bleibt noch zu beweisen. Zumindest weisen neuere Untersuchungen darauf hin, dass die Häufigkeit induzierter Aborte nicht nur vom Genotyp der Paarungspartner und des fremden Männchens (Stimulusbock) abhängen. Auch der Genotyp der gezeugten Embryonen nimmt Einfluss, wobei ein erhöhter Grad an Heterozygotie vor einem Abort schützt (JAE CHUNG et

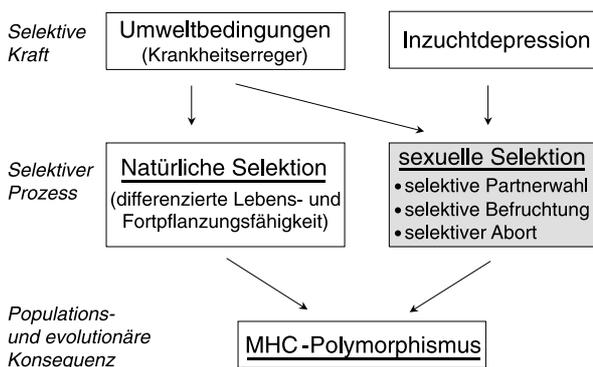
al., 1999; RÜLICHE und WEDEKIND, in Vorbereitung). Nach diesen Untersuchungen sind trächtige Mausweibchen nach der Kreuzung mit einem Bock eines anderen Inzuchtstammes (MHC-heterozygote Embryonen) signifikant seltener von einem pheromonal induzierten, frühembryonalen Abort betroffen, als nach der Paarung mit Männchen des gleichen Inzuchtstammes (MHC-homozygote Embryonen). Ausserdem wurde festgestellt, dass der Bruce-Effect nicht als 'Alles oder Nichts' Prinzip zu verstehen ist. So war bei Weibchen, die trotz Stimulation trächtig blieben, der Anteil totgeborener Nachkommen höher und die Anzahl der Lebendgeborenen signifikant niedriger, als bei den Kontrollweibchen ohne Stimulation (RÜLICHE und WEDEKIND, in Vorbereitung).

**7. Genetische Kompatibilität**

Mechanismen der sexuellen Selektion können bei der Zeugung der Nachkommen bestimmte Genotypen bzw. MHC-Kombinationen bevorzugen, die dem Träger unter den bestehenden Lebensbedingungen Vorteil verleihen. Aus dem extremen Polymorphismus am MHC ergibt sich für eine Population mit geschlechtlicher Fortpflanzung die Möglichkeit, angemessen auf sich schnell an ihren Wirt anpassende Krankheitserreger zu reagieren.

Weit verbreitete MHC-Allele sind durch ein molekulares Mimikry pathogener Erreger gefährdeter als seltene. Allein eine MHC-unähnliche Paarung führt in den Nachkommen zu einem von den Eltern verschiedenen Immunzellrepertoire, was ihre Widerstandsfähigkeit erhöhen kann und für die Krankheitserreger eine Art 'moving target' bedeutet. MHC-korrelierte Präferenzen bei der Partnerwahl, selektive Befruchtung oder der selektive Abort können aber auch als hochentwickelte Mechanismen zur Vermeidung von Inzucht und dem damit verbundenen Fitnessverlust in einer Population dienen (Abb.6).

**Abbildung 6: Faktoren der Selektion am Hauptstokompatibilitätskomplex (MHC)**



Die zwei eingangs postulierten Hypothesen, 'parasite hypothesis' und 'inbreeding avoidance hypothesis', schließen sich somit nicht aus. Beide Hypothesen könnten auch als 'genetic benefit hypothesis' zusammengefasst werden, da sie die Bevorzugung oder die Vermeidung genetischer (genotypischer) Varianten voraussetzen. Sie basieren jedoch auf der Annahme, dass nukleare und zytoplasmatische Anlagen einer Oozyte beliebig mit dem Genom einer männlichen Keimzelle kombiniert werden können. Diese Annahme wird jedoch zunehmend bezweifelt.

Die Häufigkeit spontaner Aborte wird für Säugerspezies, den Menschen eingeschlossen, auf 30 bis 60 % geschätzt. Sie sind die Folge natürlicher Eliminationsvorgänge, die hauptsächlich frühe Embryonalstadien betreffen und deshalb schwer zu beobachten sind. OBER und Mitarbeiter (1998) ermittelten in einer Studie bei menschlichen Paaren signifikant erhöhte Abortraten, wenn sich die beiden Partner am MHC ähnlich waren.

GÄRTNER (1987) schätzte die pränatale Verlustrate anhand der Differenz zwischen der beobachteten und der theoretisch erwarteten Körpergewichtsverteilung erwachsener Mäuse aus verschiedenen Kreuzungen. Der Befund macht deutlich, dass die extremen Phänotypvarianten unter den lebendgeborenen Nachkommen fehlen. Das Experiment lässt die Vermutung zu, dass es sich bei den spontanen Aborten um Embryonen handelte, deren ooplasmatische Modifikationsfaktoren die begrenzte Plastizität des Kerngenoms überforderten.

Genetische Inkompatibilitäten können nicht nur zwischen dem Kerngenom und zytoplasmatischen Faktoren bestehen, sondern auch Erbanlagen innerhalb des Kerngenoms betreffen. Am Beispiel vom t-Haplotyp bei Mäusen wurde gezeigt, dass genetische Inkompatibilität sogar die Partnerwahl beeinflussen kann (WILLIAMS und LENINGTON, 1993).

Wahrscheinlich muss die Gesamtheit der Erbanlagen einer Art als dynamische Einheit begriffen werden, die sich in jedem einzelnen Organismus als Resultat eines genetischen Konfliktes zwischen Faktoren des Kerns und des Zytoplasmas der Oozyte bzw. zwischen Erbanlagen innerhalb des Kerns entfaltet. Es liegt deshalb nahe eine dritte Hypothese, bezeichnet als 'genetic incompatibility' oder 'genic balance hypothesis', in die Diskussion um die sexuellen Selektion einzubeziehen (ZEH und ZEH, 1996).

**8. Ausblick**

Obwohl bezüglich der Funktion und des Ausmaßes sexueller Selektion noch sehr viele Fragen zu klären und einige der heutigen Antworten nur hypothetisch sind, ist mit Sicherheit festzuhalten, dass entsprechende Mechanismen auch bei Menschen und Mäusen existieren. Die sexuelle Selektion korreliert mit dem MHC oder eng mit ihm gekoppelten Loci. Durch Inzuchtvermeidung fördern diese Selektionsmechanismen einen optimalen Grad an MHC-Heterozygotie und unterstützen damit den ausgeprägten Polymorphismus dieses Genkomplexes. Es ist anzunehmen, dass die Evolution selbst die Entwicklung von Mechanismen der sexuellen Selektion fördert. Dahinter stehende molekulare Mechanismen und auslösende Faktoren sind bisher nur teilweise aufgeklärt. Sexuelle Selektion trägt zum evolutionären Erfolg der geschlechtlichen Fortpflanzung bei und bietet dadurch Vorteile für das Überleben einer Spezies unter wechselnden Umweltbedingungen.

In den domestizierten Arten wird die sexuelle Selektion durch Zucht und reproduktionsbiologische Maßnahmen eingeschränkt oder völlig unterdrückt, was auch für den Einsatz reproduktionsmedizinischer Techniken zur Behandlung der Unfruchtbarkeit des Menschen zutrifft. Für unsere Nutztiere entscheidet der Züchter über den Paarungspartner und seine Zuchtwahl ist in der Regel rein leistungsorientiert. Die künstliche Besamung steigert zwar die Selektionsdifferenz und damit den Selektionsfortschritt, schränkt aber die genetische Vielfalt einer Population stark ein. In vitro Fertilisation und intrazytoplasmatische Sper-

mieninjektion setzen die Mechanismen der selektiven Befruchtung teilweise bis nahezu vollständig außer Kraft. Mit der Möglichkeit zur Klonierung von Säugetieren verlassen wir schließlich die geschlechtliche Fortpflanzung vollständig und verlieren damit auch Ihre wichtigste Funktion, die Schaffung von genetischer Variabilität durch die Rekombination der Erbanlagen.

Neben der Befriedigung wissenschaftlicher Neugierde können Untersuchungen zur sexuellen Selektion vielleicht helfen, neue reproduktionsbiologische Methoden in der Gesamtheit ihrer Auswirkungen besser einzuschätzen.

## 9. Zusammenfassung

Zur Erklärung des Erfolges und der weiten Verbreitung der sexuellen Reproduktion existieren mehrere Hypothesen. Unter anderem wird dieser Art der Fortpflanzung eine besondere Bedeutung im coevolutionären Wettlauf zwischen Krankheitserregern und ihren Wirtsorganismen zugesprochen. Tatsächlich gibt es für verschiedene Spezies mit geschlechtlicher Fortpflanzung Hinweise darauf, dass bezüglich Resistenz oder Empfänglichkeit für bestimmte Infektionen klare genotypische Unterschiede bestehen. Ein wichtiges Kriterium bei der Partnerwahl und bei anderen Selektionsmechanismen, die im Zusammenhang mit der geschlechtlichen Fortpflanzung wirken, könnte deshalb die allele Ausstattung eines Organismus an polymorphen Loci sein, die für seine Widerstandsfähigkeit gegen pathogene Erreger eine Rolle spielen.

Der MHC (Haupthistokompatibilitätskomplex) ist eine Gruppe von stark polymorphen Genen bei Vertebraten. Zum Erhalt des extremen Polymorphismus tragen evolutionäre Mechanismen der natürlichen Selektion bei. Wegen der großen Bedeutung der MHC-Loci für das Immunsystem, übt wahrscheinlich die Vielzahl sich verändernder infektiöser Erreger den dazu nötigen selektiven Druck aus. Experimentell konnte für Maus und Mensch gezeigt werden, dass zwischen den polymorphen Genen des MHC und einer geruchsbeeinflussten Partnerwahl ein Zusammenhang besteht. Darüber hinaus führte bei Labormäusen eine Infektion mit Maus Hepatitis Virus zu einer gerichteten Beeinflussung des MHC-Haplotyps unter den Nachkommen der infizierten Eltern. Der endgültige Grund von MHC-korrelierten Signalen für Paarungspräferenzen oder einer nicht zufälligen Befruchtung ist noch nicht geklärt.

Zur Begründung der MHC-korrelierten Selektionsmechanismen werden hauptsächlich zwei Hypothesen herangezogen. Die 'parasite hypothesis' basiert auf der Bevorzugung spezifischer MHC-Kombinationen, die einem Organismus Resistenz bzw. einer Population die Möglichkeit verleihen, dem selektiven Druck spezifischer Krankheitserreger zu widerstehen. Diesem Druck sich schnell entwickelnder Krankheitserreger steht eine große Vielfalt genetischer Varianten gegenüber, die in einer Population mit geschlechtlicher Fortpflanzung durch die genetische Rekombination sichergestellt werden. Die 'inbreeding avoidance hypothesis' hingegen unterstellt der MHC-korrelierten Partnerwahl eine wichtige Funktion zur Vermeidung von Inzucht in natürlichen Populationen (PENN und POTTS, 1999; POTTS und WAKELAND, 1993).

Beide Hypothesen schließen sich gegenseitig nicht aus. MHC-korrelierte sexuelle Selektion kann dazu dienen, die genetische Vielfalt am MHC zu erhalten, Inzucht zu verhindern und gleichzeitig die Zeugung optimierter MHC-Varianten mit einer größeren Widerstandsfähigkeit unter den Nachkommen zu bevorzugen.

## 10. Literatur

- BEAUCHAMP, G.K., K. YAMAZAKI, J. BARD, E.A. BOYSE (1988): Pre-weaning experience in the control of mating preferences by genes in the major histocompatibility complex of the mouse. *Behav Genet* 18, 537-47
- BROWN, R.E., P.B. SINGH, B. ROSER (1987): The major histocompatibility complex and the chemosensory recognition of individuality in rats. *Physiol Behav* 40, 65-73
- BRUCE, H.M. (1959): Anexteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Natur Lond.* 184, 109
- CUI, X., J. GERWIN, W. NAVIDI, H. LI, M. KUEHN, N. ARNHEIM (1992): Gene-centromere linkage mapping by PCR analysis of individual oocytes. *Genomics* 13, 713-7
- DOHERTY, P.C., R.M. ZINKERNAGEL (1975): Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex. *Nature* 256, 50-2
- DONCASTER, C.P., G.E. POUND, S.J. COX (2000): The ecological cost of sex. *Nature* 404, 281-5
- FAN, W., Y.C. LIU, S. PARIMOO, S.M. WEISSMAN (1995): Olfactory receptor-like genes are located in the human major histocompatibility complex. *Genomics* 27, 119-23
- FISHER, R.A. (1929): The genetical theory of natural selection.
- GÄRTNER, K. (1987): Spontaneous abortion: Natural elimination of individuals with extreme modification by ooplasic signals. *Experiments in inbred mice. Fertilität* 3, 303-205
- HAMILTON, W.D., M. ZUK (1982): Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites. *Science* 218, 384-7
- HEDRICK, P.W. (1994): Evolutionary genetics of the major histocompatibility complex. *The American Naturalist* 143, 945-64
- HURST, J.L., C.E. PAYNE, C.M. NEVISON, A.D. MARIE, R.E. HUMPHRIES, D.H. ROBERTSON, A. CAVAGGIONI, R.J. BEYNON (2001): Individual recognition in mice mediated by major urinary proteins. *Nature* 414, 631-4
- JAE CHUNG, H., W. DONG ZHAO, N. WAKASUGI (1999): Participation of embryonic genotype in the pregnancy block phenomenon in mice. *Biol Reprod* 61, 367-71
- LI QJ, XU Z.F., W.J. KRESS, Y.M. XIA, L. ZHANG, X.B. DENG, J.Y. GAO, Z.L. BAI (2001): Pollination: flexible style that encourages outcrossing. *Nature* 410, 432
- MARTIN-VILLA, J.M., J. LONGAS, A. ARNAIZ-VILLENA (1999): Cyclic expression of HLA class I and II molecules on the surface of purified human spermatozoa and their control by serum inhibin B levels. *Biol Reprod* 61, 1381-6
- MATTON, D.P., N. NASS, A.E. CLARKE, E. NEWBIGIN (1994): Self-incompatibility: how plants avoid illegitimate offspring. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 1992-7
- NICOL, A., A. Mc LAREN (1974): An effect of the female genotype on sperm transport in mice. *J Reprod Fertil* 39, 421-4
- OBBER, C., T. HYSLOP, S. ELIAS, L.R. WEITKAMP, W.W. HAUCK (1998): Human leukocyte antigen matching and fetal loss: results of a 10 year prospective study. *Hum Reprod* 13, 33-8
- OBBER, C., L.R. WEITKAMP, N. COX, H. DYTCH, D. KOSTYU, S. ELIAS (1997): HLA and mate choice in humans. *Am J Hum Genet* 61, 497-504
- OLSSON, M., R. SHINE, T. MADSEN, A. GULLBERG, H. TEGELSTROM (1996): Sperm selection by females. *Nature* 383, 585
- PARMENTIER, M., F. LIBERT, S. SCHURMANS, S. SCHIFFMANN, A. LEFORT, D. EGGERICKX, C. LEDENT, C. MOLLEREAU, C. GERARD, J. PERRET (1992): Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. *Nature* 355, 453-5
- PENN, D., W. POTTS (1998): MHC-disassortative mating preferences reversed by cross-fostering. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265, 1299-306
- PENN, D., W.K. POTTS (1999): The evolution of MHC-dependent mate preferences. *American Naturalist* 153, 145-64
- POTTS, W.K., C.J. MANNING, E.K. WAKELAND (1991): Mating patterns in seminatural populations of mice influenced by MHC genotype. *Nature* 352, 619-21
- POTTS, W.K., E.K. WAKELAND (1993): Evolution of MHC genetic diversity: a tale of incest, pestilence and sexual preference. *Trends Genet* 9, 408-12
- RODRIGUEZ, I., C.A. GREER, M.Y. MOK, P. MOMBAERTS (2000): A putative pheromone receptor gene expressed in human olfactory mucosa. *Nat Genet* 26, 18-9
- ROSSER, A.E., C.J. REMFRY, E.B. KEVERNE (1989): Restricted exposure of mice to primer pheromones coincident with prolactin surges blocks pregnancy by changing hypothalamic dopamine release. *J Reprod Fertil* 87, 553-9

- RÜLICHE, T., M. CHAPUISAT, F.R. HOMBERGER, E. MACAS, C. WEDEKIND (1998): MHC-genotype of progeny influenced by parental infection. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265, 711-6
- RÜLICHE, T., C. WEDEKIND: The MHC and socially induced in utero reduction of embryo number in mice. In Vorbereitung
- SAVIC, I., H. BERGLUND, B. GULYAS, P. ROLAND (2001): Smelling of odorous sex hormone-like compounds causes sex-differentiated hypothalamic activations in humans. *Neuron* 31, 661-8
- SINGH, P.B., R.E. BROWN, B. ROSE (1987): MHC antigens in urine as olfactory recognition cues. *Nature* 327, 161-4
- STERN, K., M.K. Mc CLINTOCK (1998): Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature* 392, 177-9
- THURSZ, M.R., H.C. THOMAS, B.M. GREENWOOD, A.V. HILL (1997): Heterozygote advantage for HLA class-II type in hepatitis B virus infection. *Nat Genet* 17, 11-2
- TREGENZA, T., N. WEDELL (2002): Polyandrous females avoid costs of inbreeding. *Nature* 415, 71-3
- WEDEKIND, C., M. CHAPUISAT, E. MACAS, T. RÜLICHE (1996): Non-random fertilization in mice correlates with the MHC and something else. *Heredity* 77 ( Pt 4), 400-9
- WEDEKIND, C., T. SEEBECK, F. BETTENS, A.J. PAEPKE (1995): MHC-dependent mate preferences in humans. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 260, 245-9
- WILLIAMS, J.R., S. LENINGTON (1993): Factors modulating preferences of female house mice for males differing in t-complex genotype: role of t-complex genotype, genetic background, and estrous condition of females. *Behav Genet* 23, 51-8
- WULLENWEBER, M., J. KASPAREIT-RITTINGHAUSEN, M. FAROUQ (1990): *Streptobacillus moniliformis* epizootic in barrier-maintained C57BL/6J mice and susceptibility to infection of different strains of mice. *Lab Anim Sci* 40, 608-12
- YAMAZAKI, K., G.K. BEAUCHAMP, D. KUPNIEWSKI, J. BARD, L. THOMAS, E.A. BOYSE (1988): Familial imprinting determines H-2 selective mating preferences. *Science* 240, 1331-2
- YAMAZAKI, K., G.K. BEAUCHAMP, C.J. WYSOCKI, J. BARD, L. THOMAS, E.A. BOYSE (1983): Recognition of H-2 types in relation to the blocking of pregnancy in mice. *Science* 221, 186-8
- ZEH, J.A., D.W. ZEH (1996): The evolution of polyandry I: intragenomic conflict and genetic incompatibility. *Proc.R.Soc.Lond.B* 263, 1711-7

Anschrift des Verfassers

Thomas Rülcke  
 Universität Zürich Institut f. Labortierkunde  
 Biologisches Zentrallabor  
 Sternwartstr. 6  
 CH-8091 Zürich  
 E-Mail: [truelick@bzl.unizh.ch](mailto:truelick@bzl.unizh.ch)