

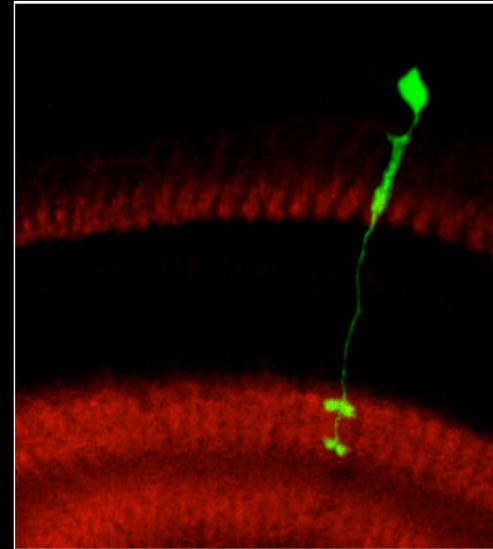
Molekularbiologie und Genetik: Entwicklungsgenetik WS 2010/2011

Karl-Friedrich Fischbach 20.10., 27.10., 03.11., 10.11., 17.11.
Drosophila melanogaster

Thomas Laux 24.11., 01.12., 08.12., 15.12., 22.12.
Arabidopsis thaliana

Andreas Eizinger 12.01., 19.01., 26.01., 02.02., 09.02.
Caenorhabditis elegans

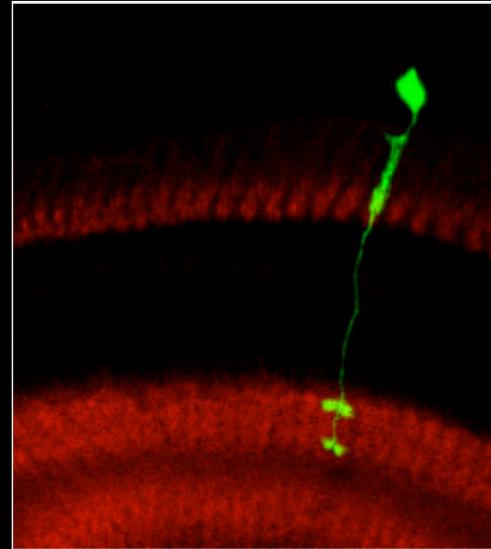
Teil I (Fischbach): Drosophila als Modellsystem der Entwicklungsgenetik



Termine

20.10. 2010	Reichweite der Entwicklungsgenetik
27.10. 2010	Die Festlegung der Körperachsen
03.11. 2010	Neurogenese
10.11. 2010	Augenentwicklung
17.11. 2010	Verhaltensgenetik

Gliederungspunkte der heutigen Vorlesung



1. **Wo kann ich mich informieren?**
2. **Was will die Entwicklungsgenetik?**
3. **Was können tierische Modellsysteme leisten?**
4. **Wie weit reicht der Erklärungsanspruch der Entwicklungsgenetik?**

Webadressen zu den Vorlesungen (Fischbach)

Fischbach Labor

<http://filab.biologie.uni-freiburg.de>

---> <http://zum.de/kff/>

Developmental Biology (Gilbert)

<http://zygote.swarthmore.edu>

besonders Kapitel 14:

<http://zygote.swarthmore.edu/chap14.html>

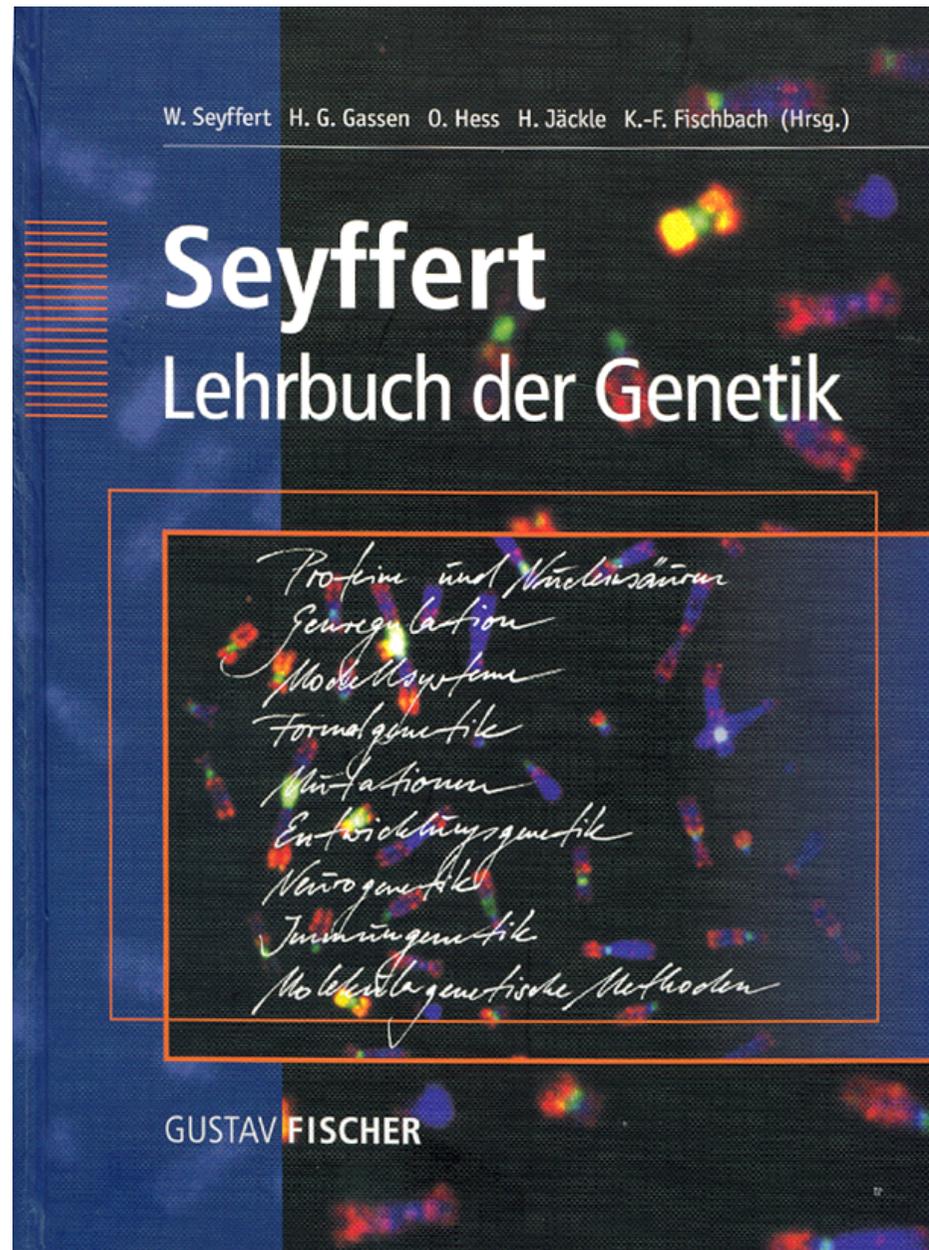
Bücher zu den Vorlesungen (Fischbach)

Kapitel 14
Modellsystem
D. melanogaster

Kapitel 33
Entwicklung und
Differenzierung

Kapitel 34
Neurogenetik
ist online

<http://www.zum.de/neurogenetik>



Seyffert 2. Auflage

Kapitel 39

Drosophila melanogaster

Kapitel 26

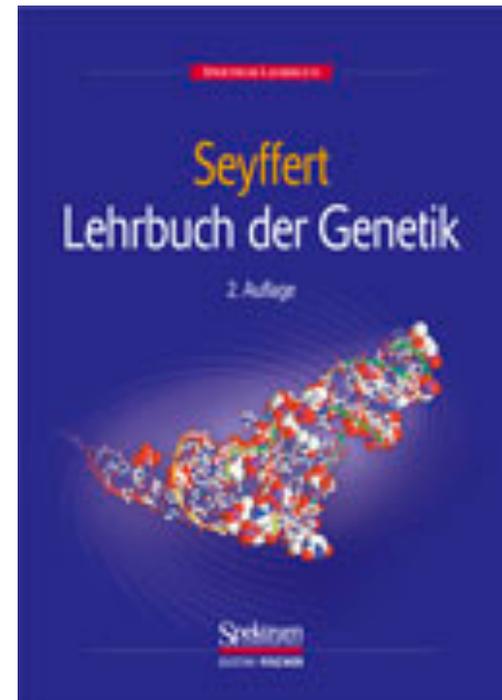
Genetische Analyse der
Entwicklung bei Tieren

Kapitel 29

Neurogenetik

Kapitel 30

Verhaltensgenetik



Entwicklung: Das Phänomen

- Selbstorganisation eines Organismus aus einer befruchteten Eizelle
- Eine Maschine funktioniert, nachdem sie fertiggestellt wurde, ein Organismus funktioniert bereits während der Fertigstellung
- Entwicklung dauert ein ganzes Leben

„Sich wundern können“ ist die
Wurzel der Philosophie und der
Wissenschaft

Was fasziniert mehr als die
Entwicklung eines Organismus?

Während der Embryogenese wächst der Organismus durch Mitosen und Zelldifferenzierungen ohne Steuerung von außen - durch Eischale oder Uterus gut abgeschirmt.



**Was sind die treibenden Kräfte hinter diesem Prozess?
Wie vergleichbar sind diese Prozesse bei verschiedenen Organismen?**

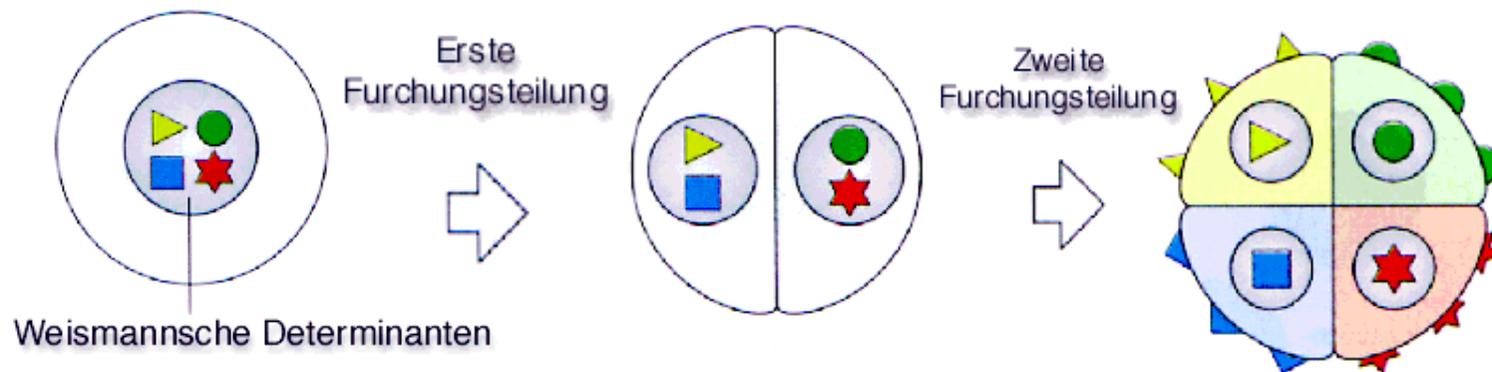
Theorien der Entwicklungsbiologie



**Leeuwenhoek
Präformationstheorie**

Theorien der Entwicklungsbiologie

Die Weismannsche determinanten Theorie (Mosaikentwicklung)



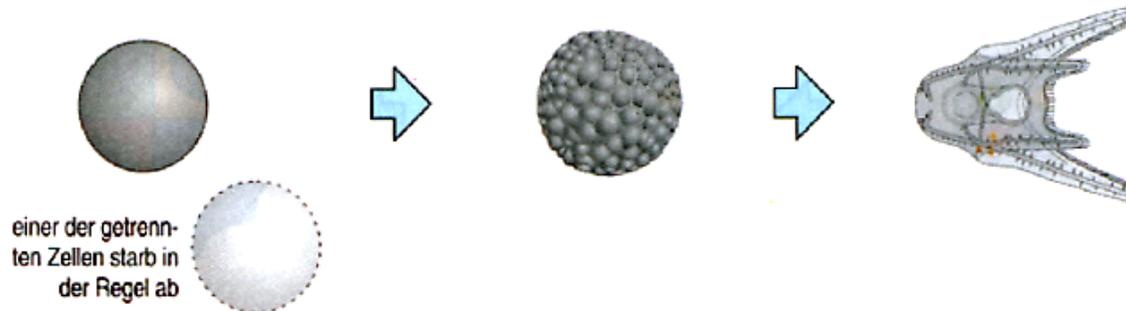
Theorien der Entwicklungsbiologie

regulative Entwicklung beim Seeigel

normale Entwicklung einer Seeigellarve (Pluteuslarve) aus dem Zwei-Zellen-Stadium



Drieschs Trennung der Zellen im Zwei-Zellen-Stadium führte zum Absterben der einen Zelle; die überlebende Zelle entwickelte sich zu einer kleinen, aber ansonsten normalen Larve



**Die Mechanismen, nach denen sich der
Entwicklungsprozess vollzieht, sind heute im
Prinzip verstanden**

-

dank der Entwicklungsgenetik!****

Was ist Entwicklungs**genetik**?

- Die Entwicklungs**genetik** untersucht die Frage, wie genetische Information die Entwicklung der Organismen beeinflusst.
- Die Entwicklungs**genetik** sucht nach Kausalfaktoren der Entwicklung.
- Die Entwicklungs**genetik** setzt die Kenntnis der Entwicklungsprozesse auf phänomenologischem Niveau voraus. Um Entwicklungs**genetik** verstehen zu können, sollte genetisches und zellbiologisches Grundwissen vorhanden sein.

Kernsätze der Entwicklungsgenetik

- **Die genetische Information bleibt im Prinzip im Zellkern aller Körperzellen erhalten (s. Klonierungsexperimente, Dolly)**
- **Differentielle Genaktivität führt zur Spezialisierung (Differenzierung) der Zellen über deren unterschiedliche Ausstattung mit Proteinen.**
- **In der Entwicklung interagieren Zellen**
- **Die Interaktion von Zellen wird durch Proteine bewerkstelligt, die Signalketten bilden.**

Wieviel können tierische Modellsysteme zum Verständnis der Entwicklung des Menschen beitragen?

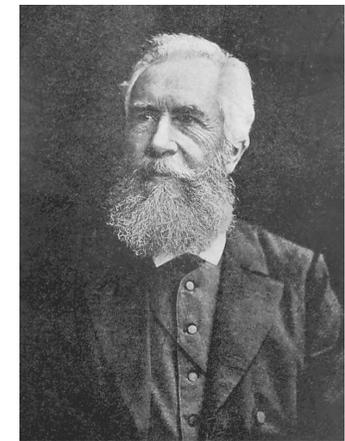


Schimpanse und Mensch haben fast 99% ihrer Gene gemeinsam.
Bild aus Gould&Gould "Bewusstsein bei Tieren", Spektrum Akademischer Verlag, 1994

Frühe Entwicklungsstadien unterstreichen die nahe Verwandtschaft des Menschen zum Wirbeltier

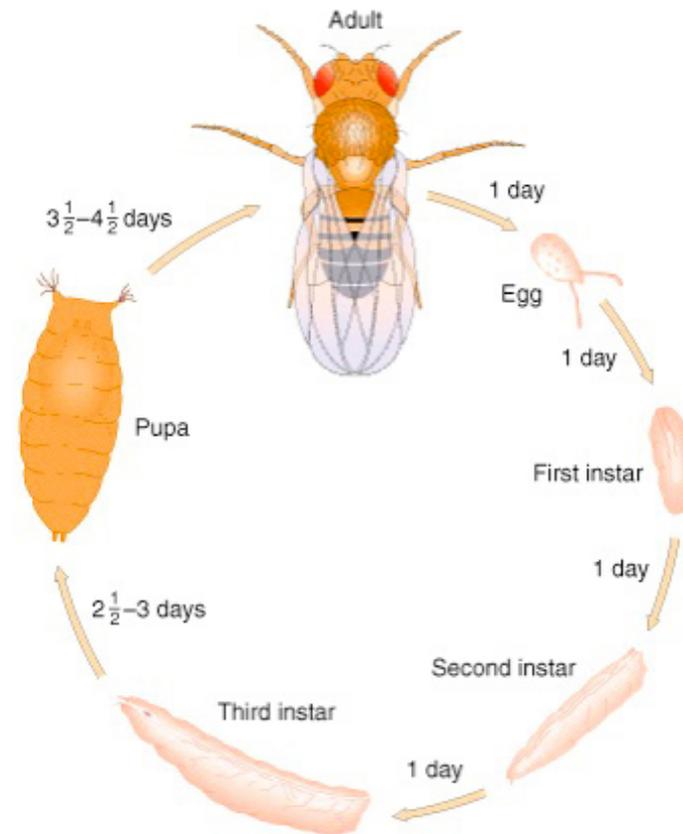


Fisch Schildkröte Igel Kaninchen
Salamander Vogel Rind Mensch

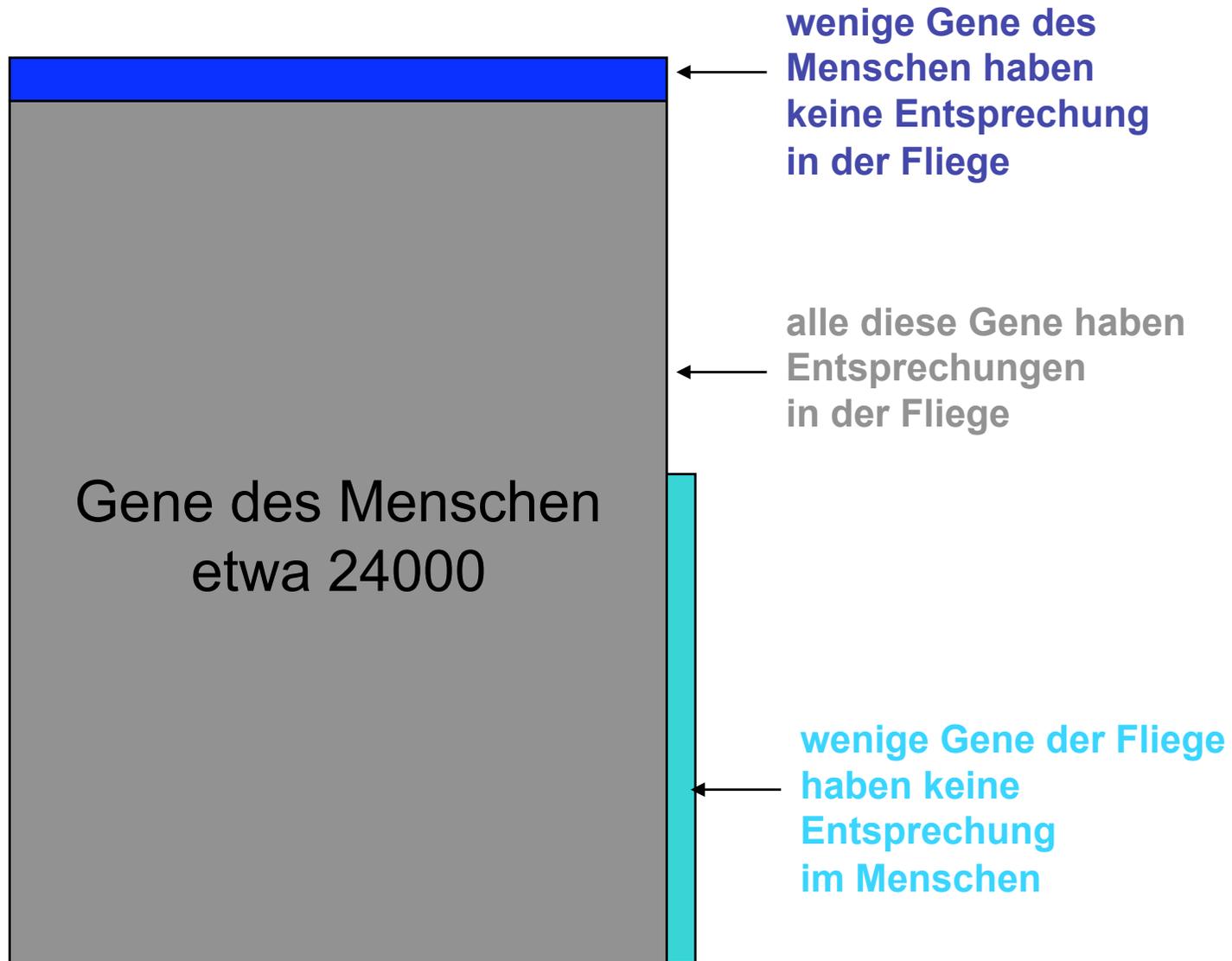


Ernst Haeckel
1834 -1919

Aber verwandt sind wir auch mit den Fliegen!



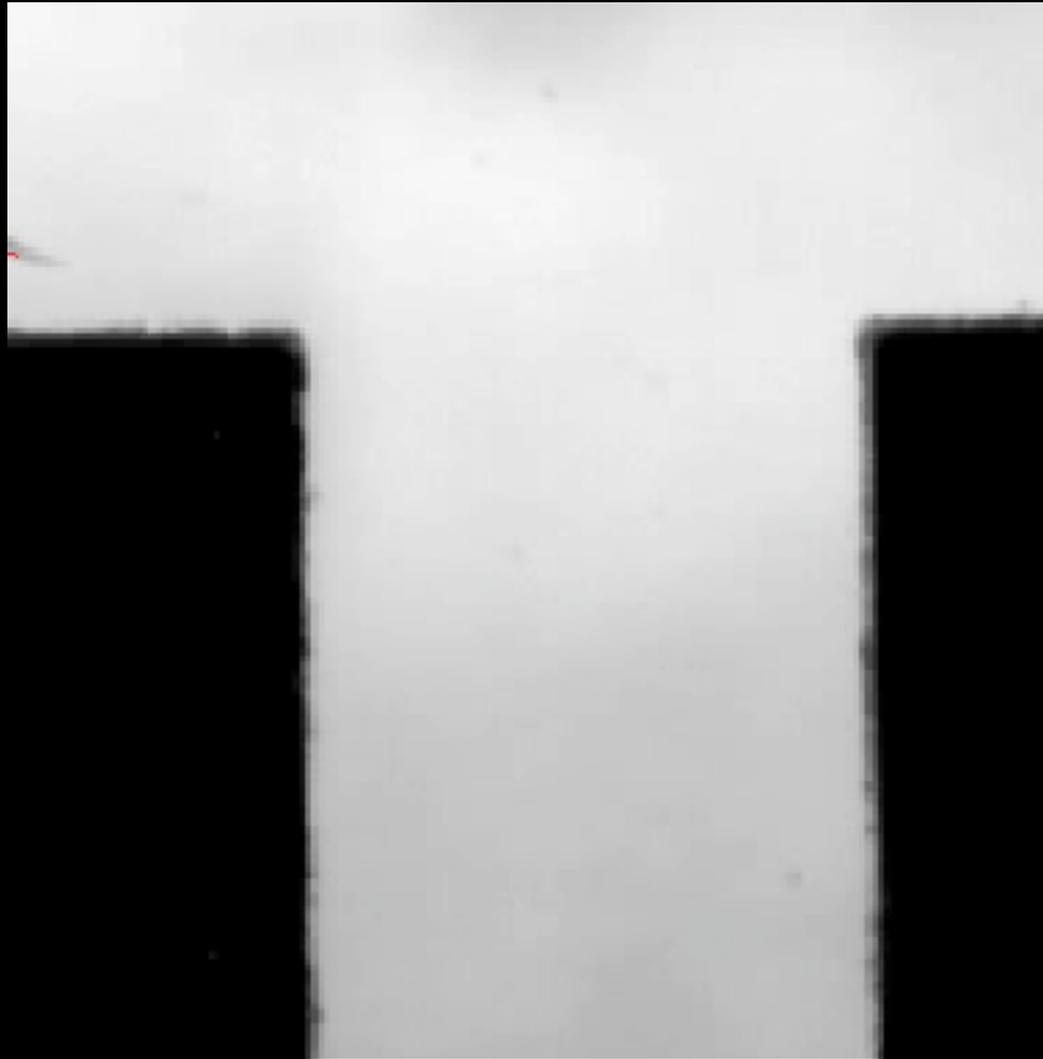
**(Fast) alle Gene der Fliege sind (mehrfach)
im menschlichen Genom vorhanden**







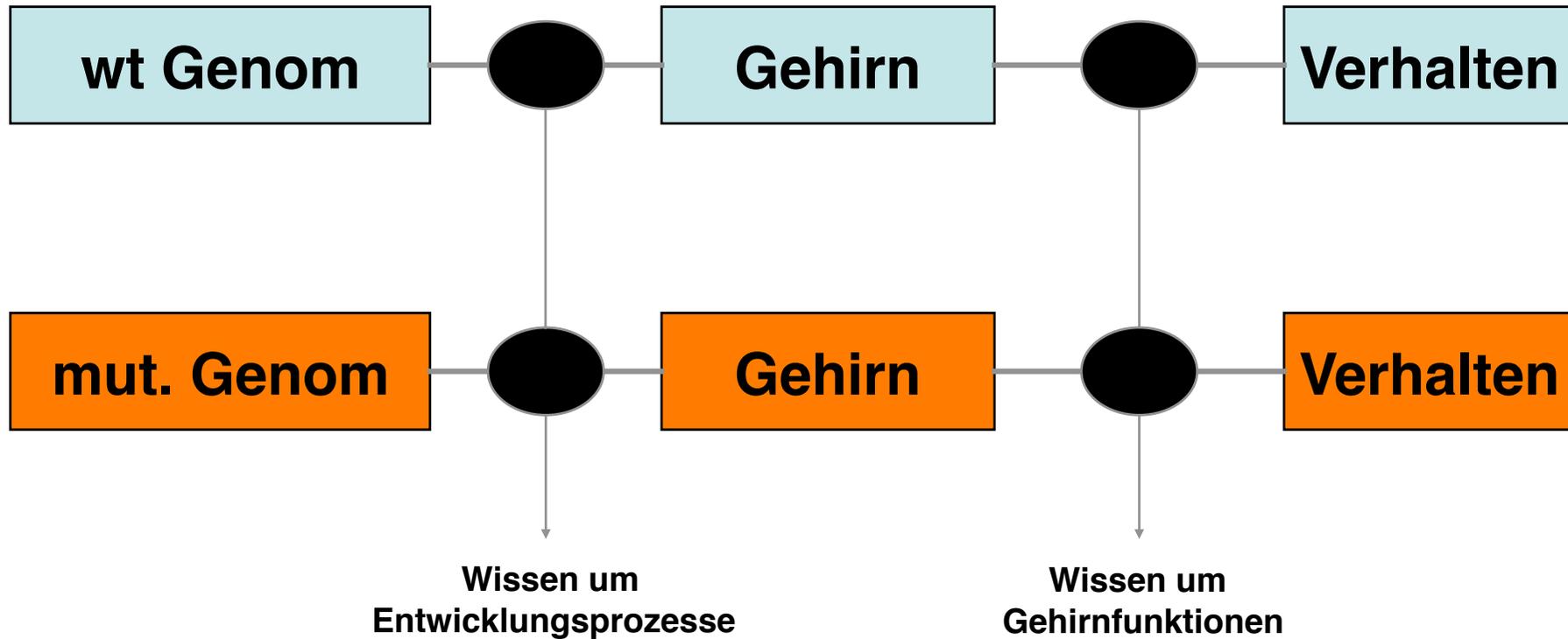
Zielorientiertes Verhalten bei Drosophila



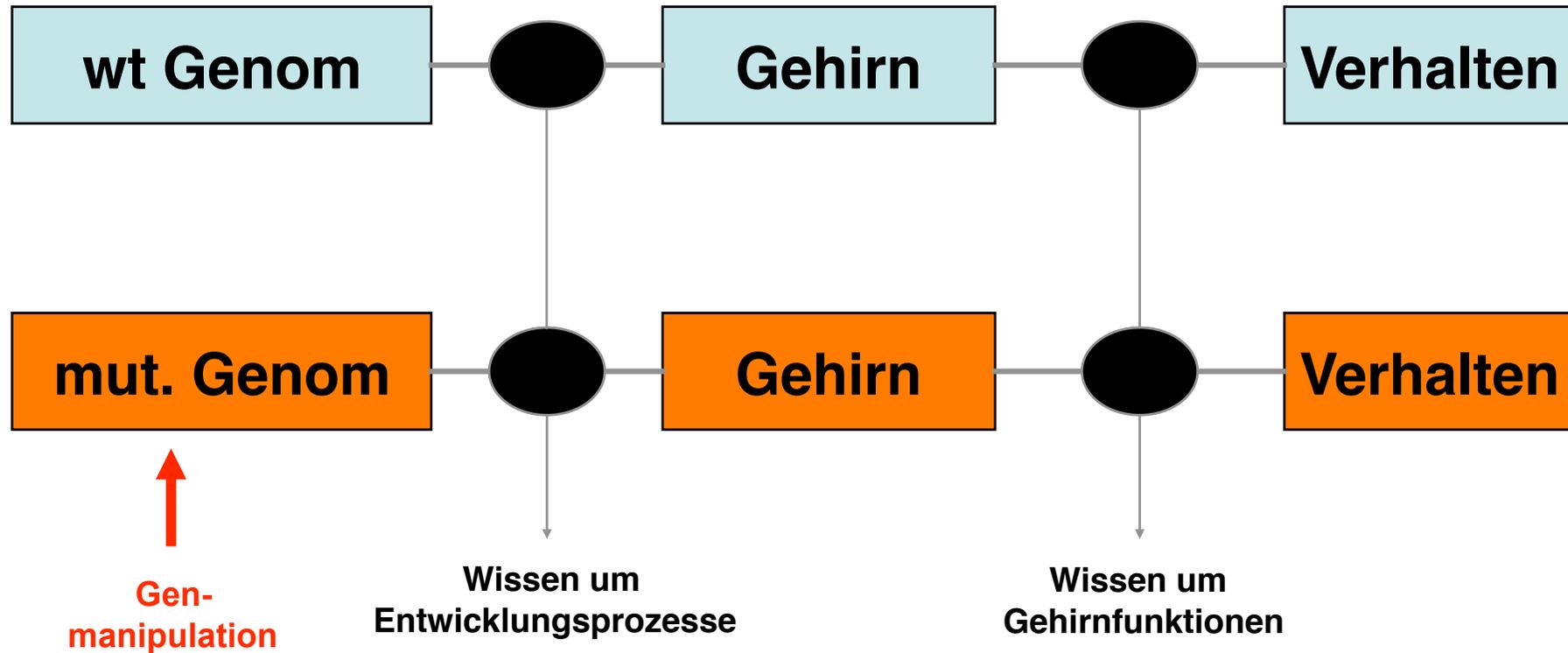
Gründe für Drosophila als Modellsystem

1. Kurze Generationszeit
2. Kleine Körpergröße und viele Nachkommen
3. Extrem geringe Tierhaltungskosten
4. Viele gemeinsame Gene von Mensch und Drosophila
5. Methodischer Werkzeugkasten,
der über 100 Jahre weltweit entwickelt wurde
6. Komplexes Gehirn und Verhalten vorhanden,
aber doch einfacher als bei Wirbeltieren

Mutantenanalyse bei Drosophila

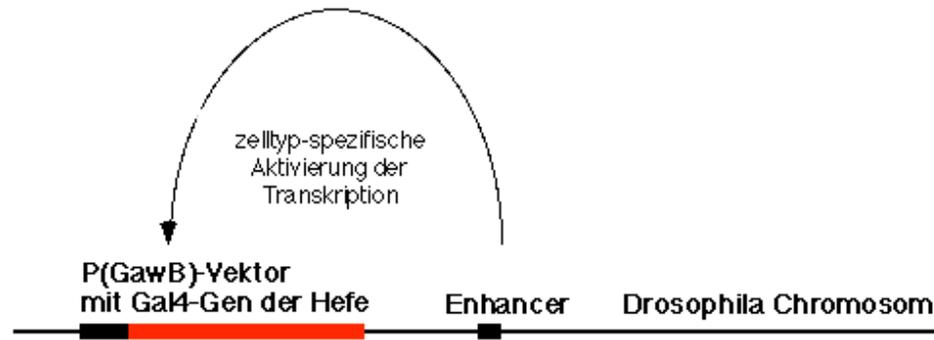


Analyse von Transformanten bei Drosophila



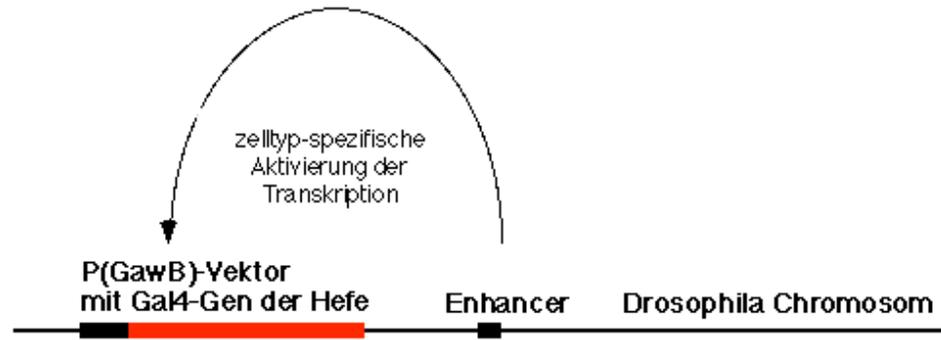
Prinzip der gezielten Expression klonierter Gene mit dem Gal4 / UAS-Zweikomponentensystem der Hefe in Drosophila

1. Komponente
Gal4-Transformante

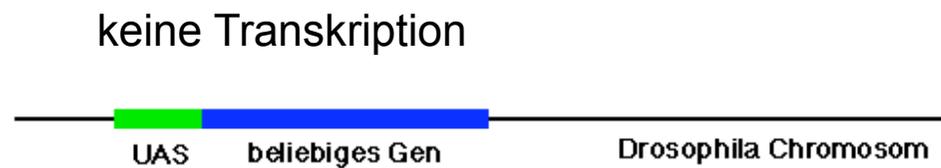


Prinzip der gezielten Expression klonierter Gene mit dem Gal4 / UAS-Zweikomponentensystem der Hefe in Drosophila

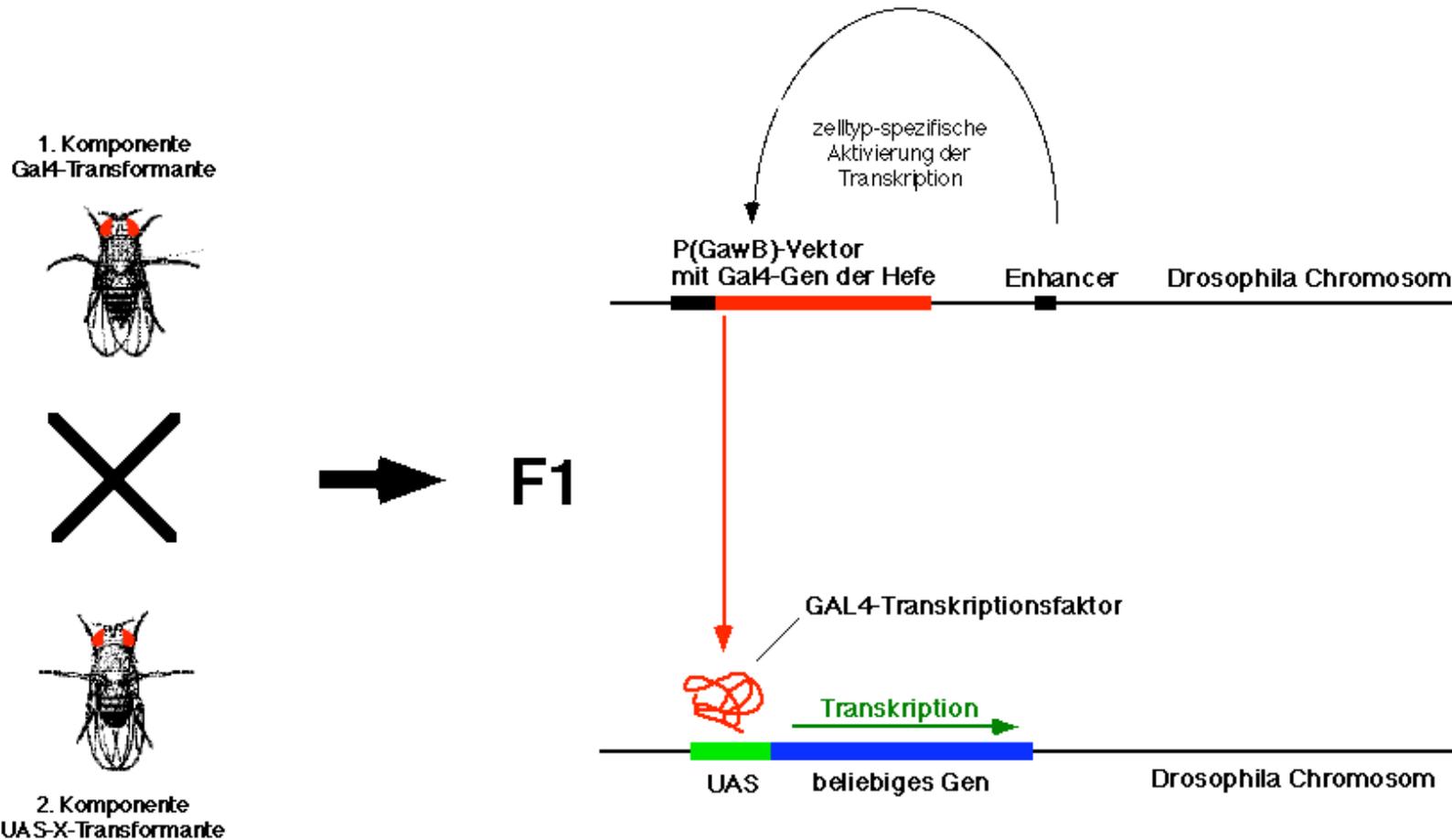
1. Komponente
Gal4-Transformante



2. Komponente
UAS-X-Transformante

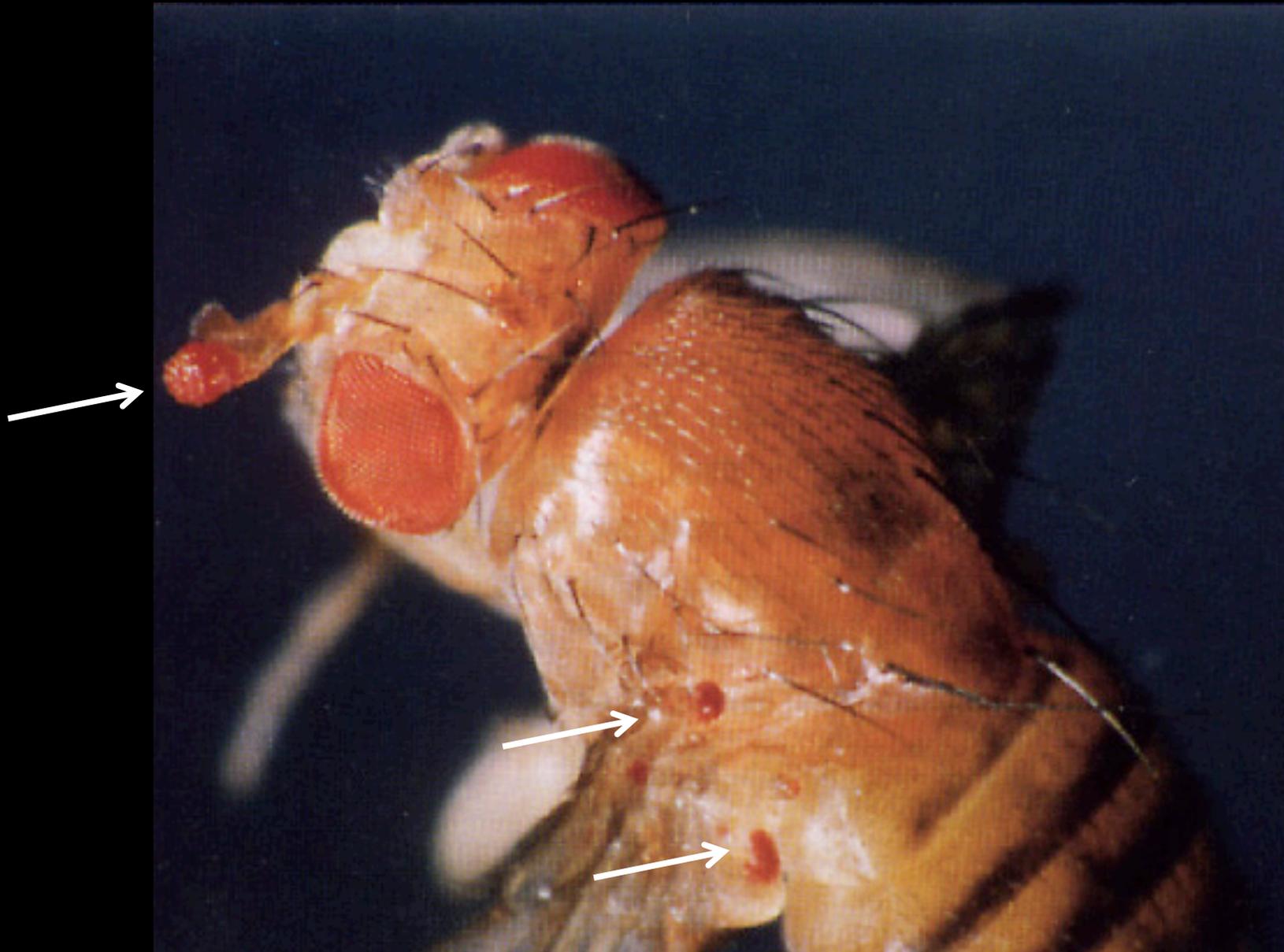


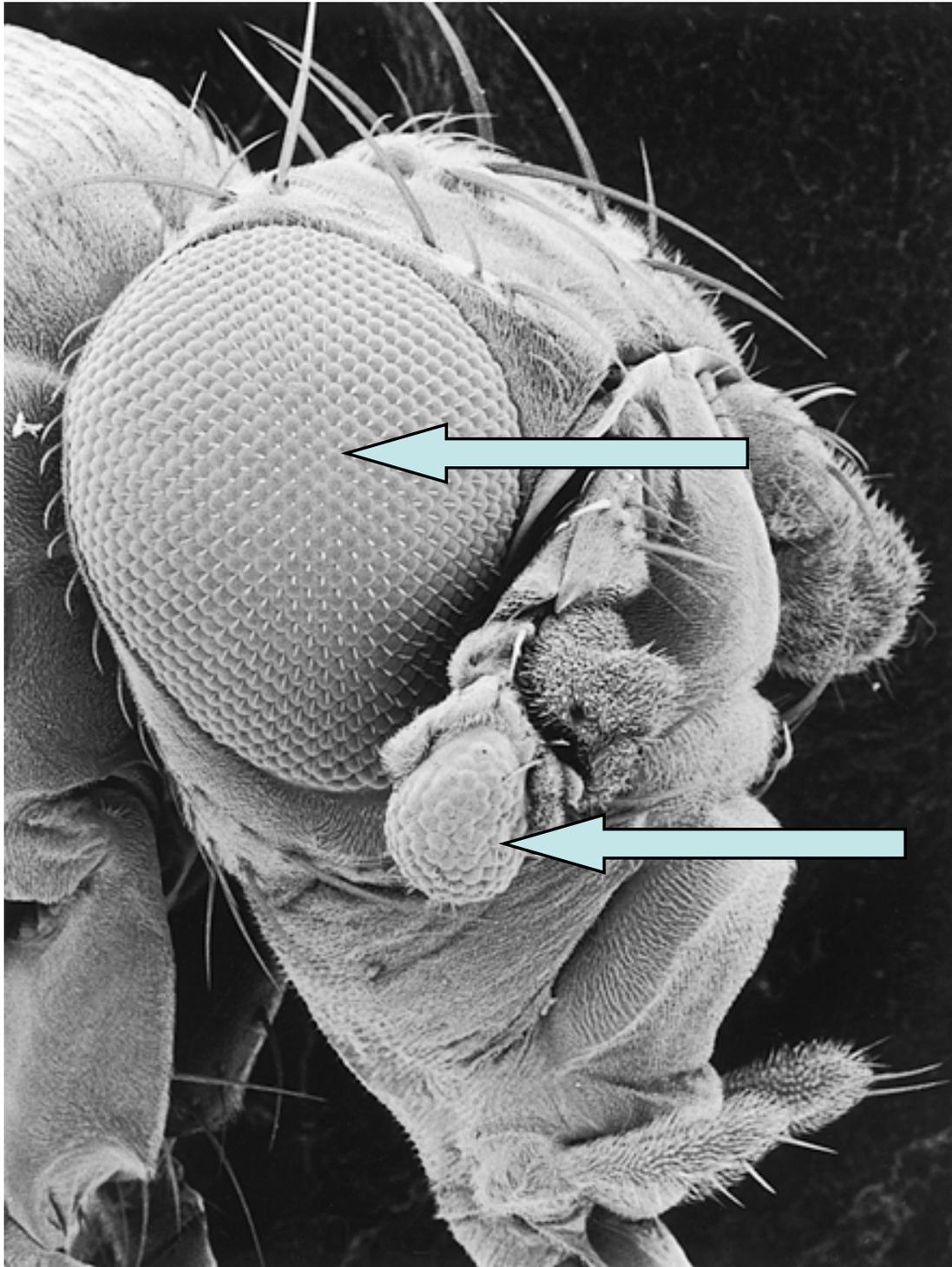
Prinzip der gezielten Expression klonierter Gene mit dem Gal4 / UAS-Zweikomponentensystem der Hefe in Drosophila



Die beiden Komponenten werden durch Kreuzung zusammengebracht. Hierdurch können die gleichen Gal4-Stämme zur Expression von beliebigem UAS-Genen verwendet werden.

Fehlexpression von *eyeless* in der Antennen- und in den Flügelimaginalscheiben





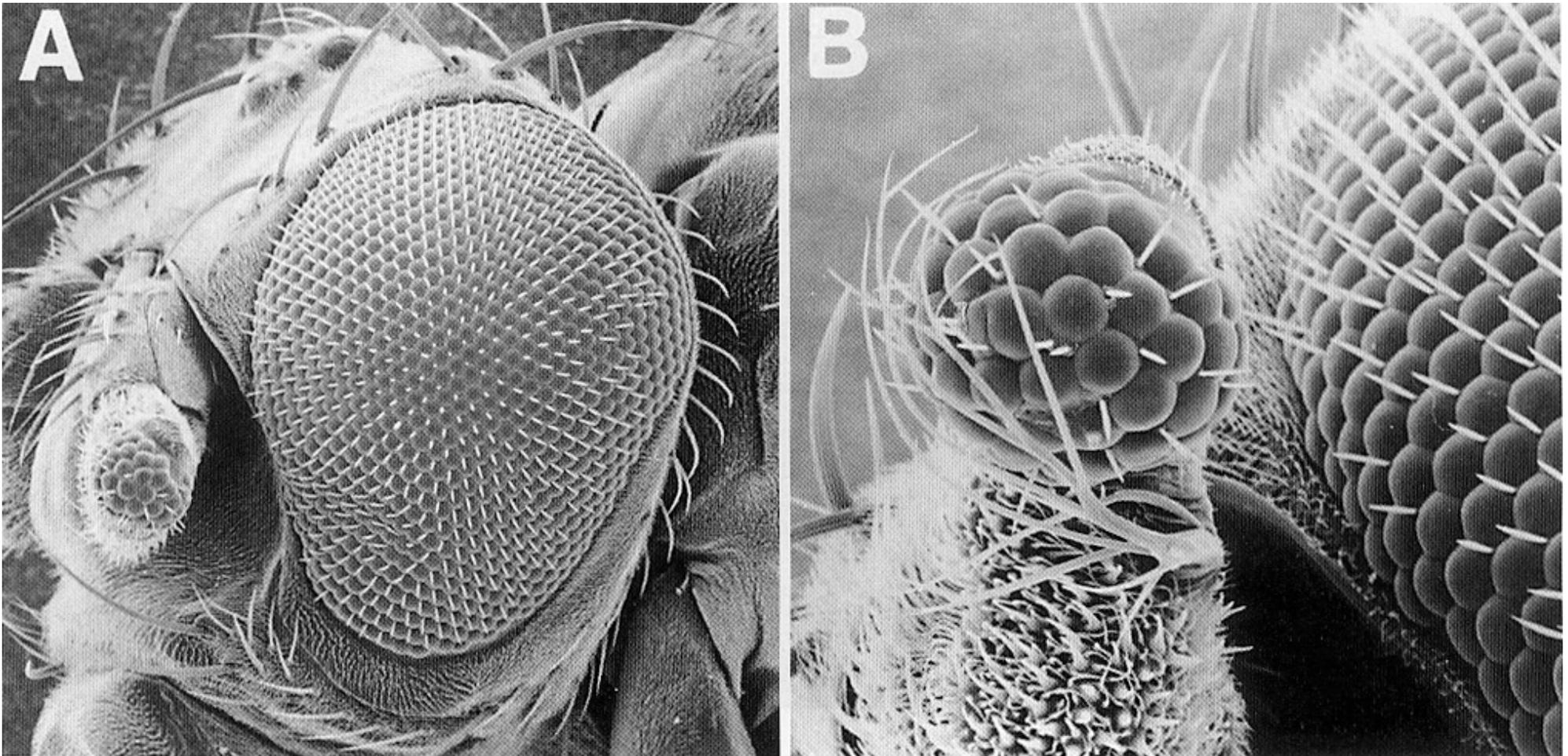
Entwicklungsgenetik des Komplexauges von *Drosophila*

Transformierte Antenne
durch die
Fehlexpression des
eyeless-Gens

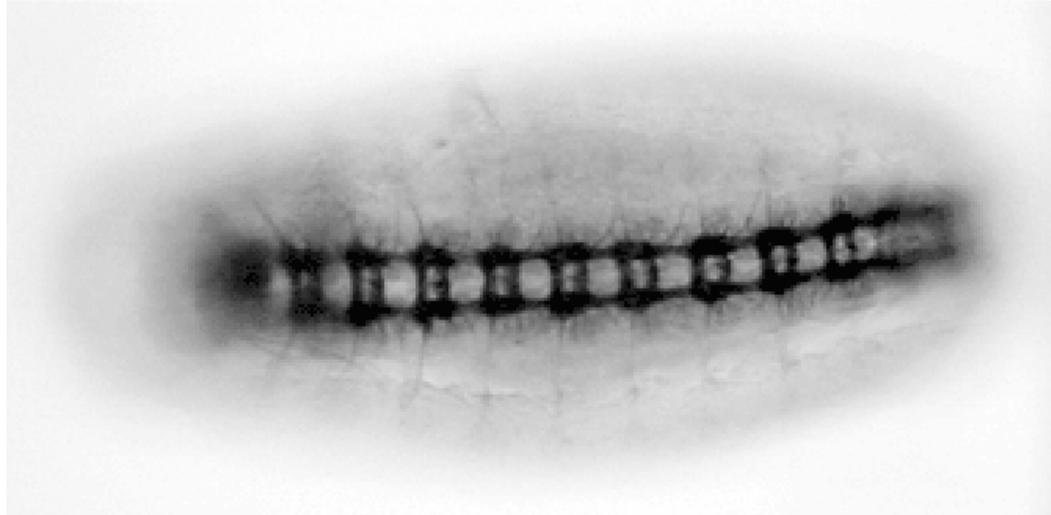


Ektopisches Antennenaug durch Expression des *Small eye* Gens der Maus

Small eye = *Pax 6* (Vertebratenortholog von *eyeless*)



Strickleiternnervensystem des Embryos

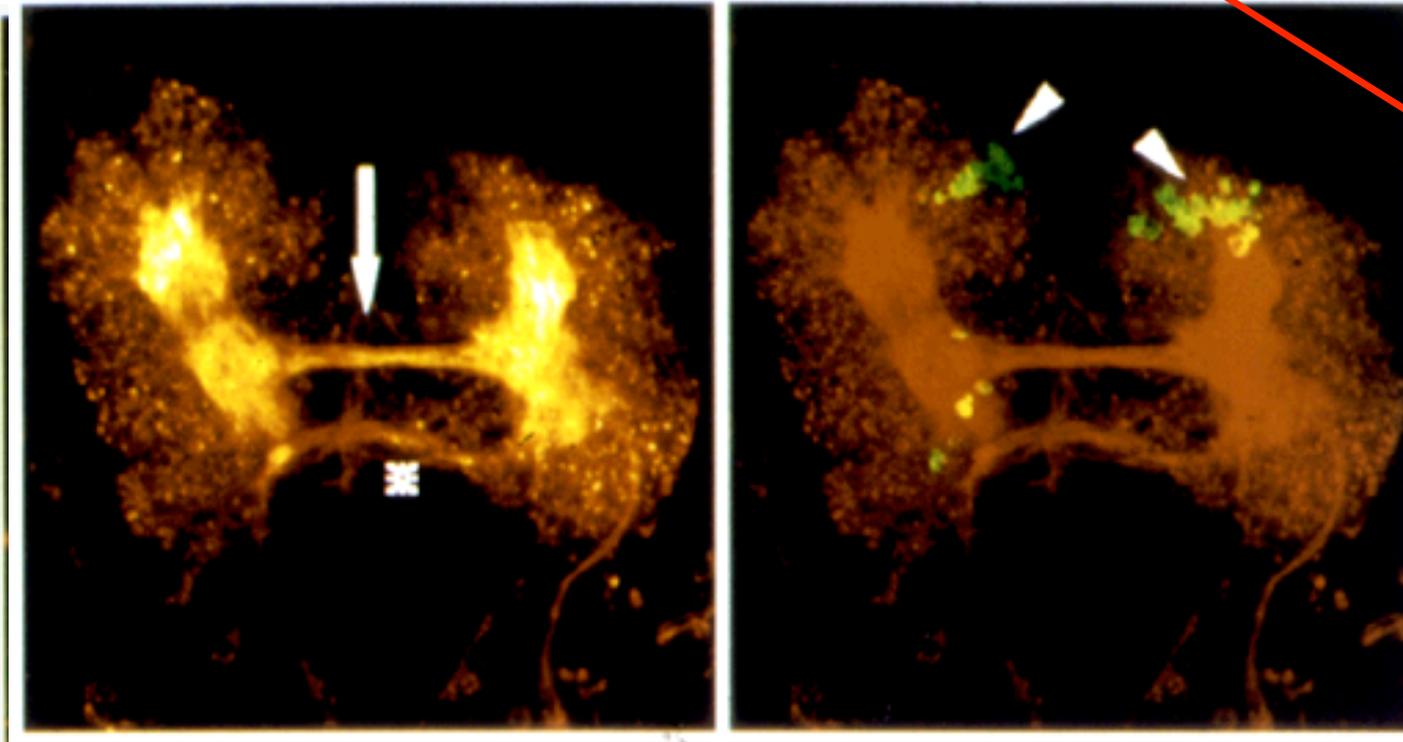


von unten



von der Seite

Die *otd*/*OTX2* Gene sind Kausalfaktoren beim Bau des Vorderhirns
Fliegen-*otd* und **Menschen-*OTX2*** sind funktionell konserviert.

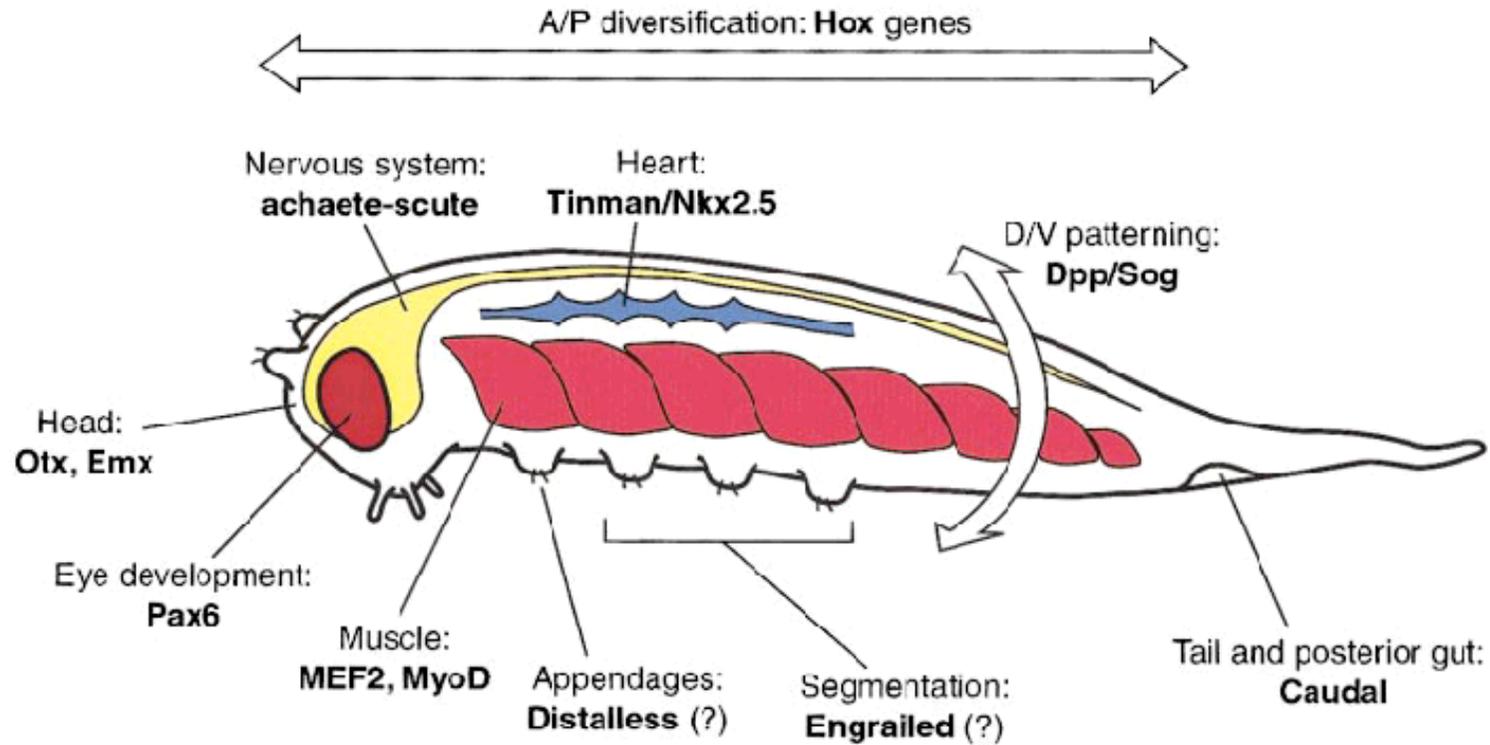


otd -/-
hs **OTX2**

<http://www.unibas.ch/dib/zoologie/research/neuro.html>

Der Ur-Bilateralier

CONSERVED DEVELOPMENTAL GENES



Urbilaterian animal
(before 550 million years ago)

Flies,
Lobsters

Human,
Mouse

Annelids,
Mollusks

„Reichweite“ der Entwicklungsgenetik

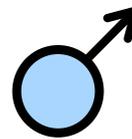
Nicht nur körperliche Merkmale, auch Verhaltensmuster können entwicklungsgenetisch beeinflusst sein.

**Bei den meisten Tieren
entwickeln sich zwei alternative Phänotypen
(Geschlechtsdimorphismus)**

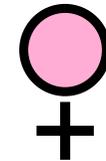


Zwei unterscheidbare Schritte zum Geschlechtsphänotyp

1. Schritt: **Geschlechtsbestimmung**



oder



?

2. Schritt: **Geschlechtsdifferenzierung**

a) **Somatisches Geschlecht**

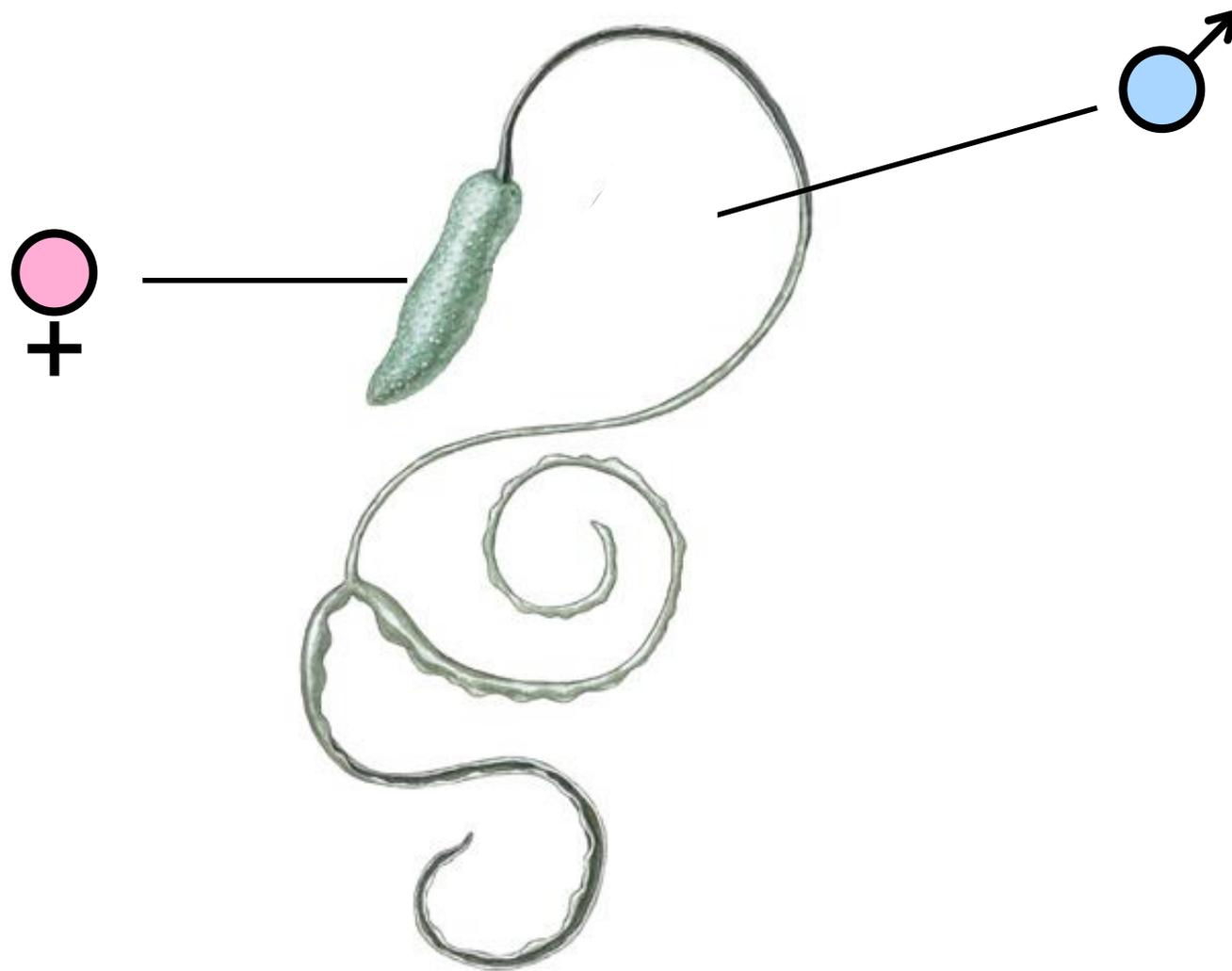
b) **Geschlechtsspezifisches Verhalten**

Sukzessive umweltabhängige Geschlechtsbestimmung beim Clownfisch



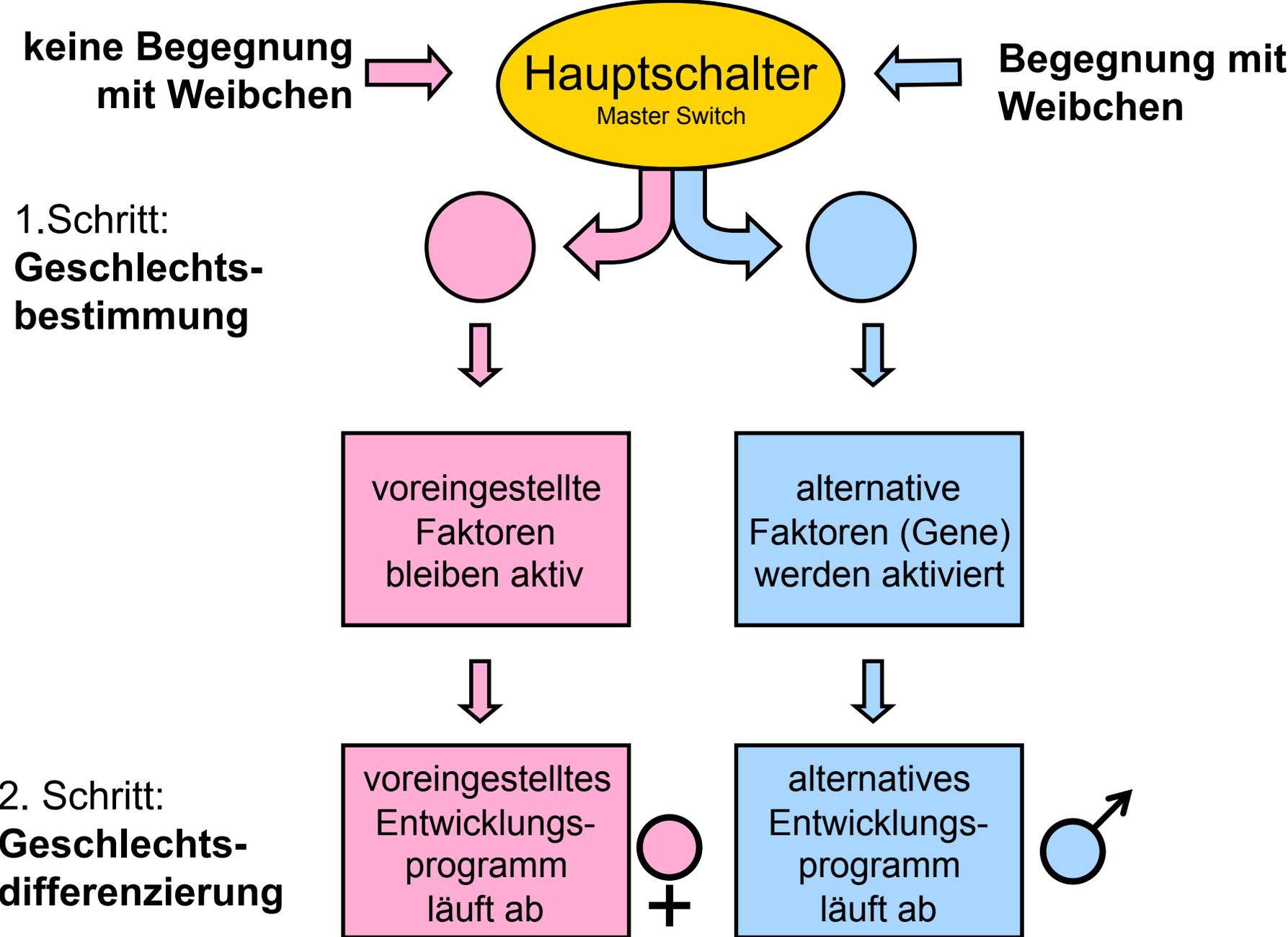
Der größte Clownfisch einer Kolonie ist weiblich, der zweitgrößte männlich, alle anderen sind „Neutra“. Stirbt das Weibchen wird das Männchen zum Weibchen und das größte „Neutrum“ wird zum Männchen.

Geschlechtsdimorphismus beim Igelwurm, *Bonellia viridis*



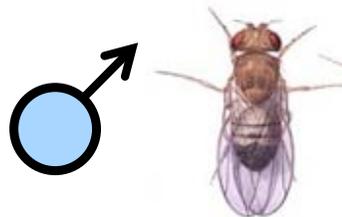
Die Geschlechtsbestimmung ist umweltabhängig

Geschlechtsbestimmung bei *Bonellia viridis*

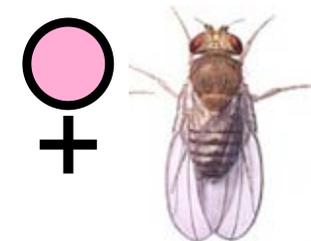


genetische Geschlechtsbestimmung bei *Drosophila melanogaster*

männlicher Karyotyp



weiblicher Karyotyp



Es gibt eine genotypische Geschlechtsbestimmung

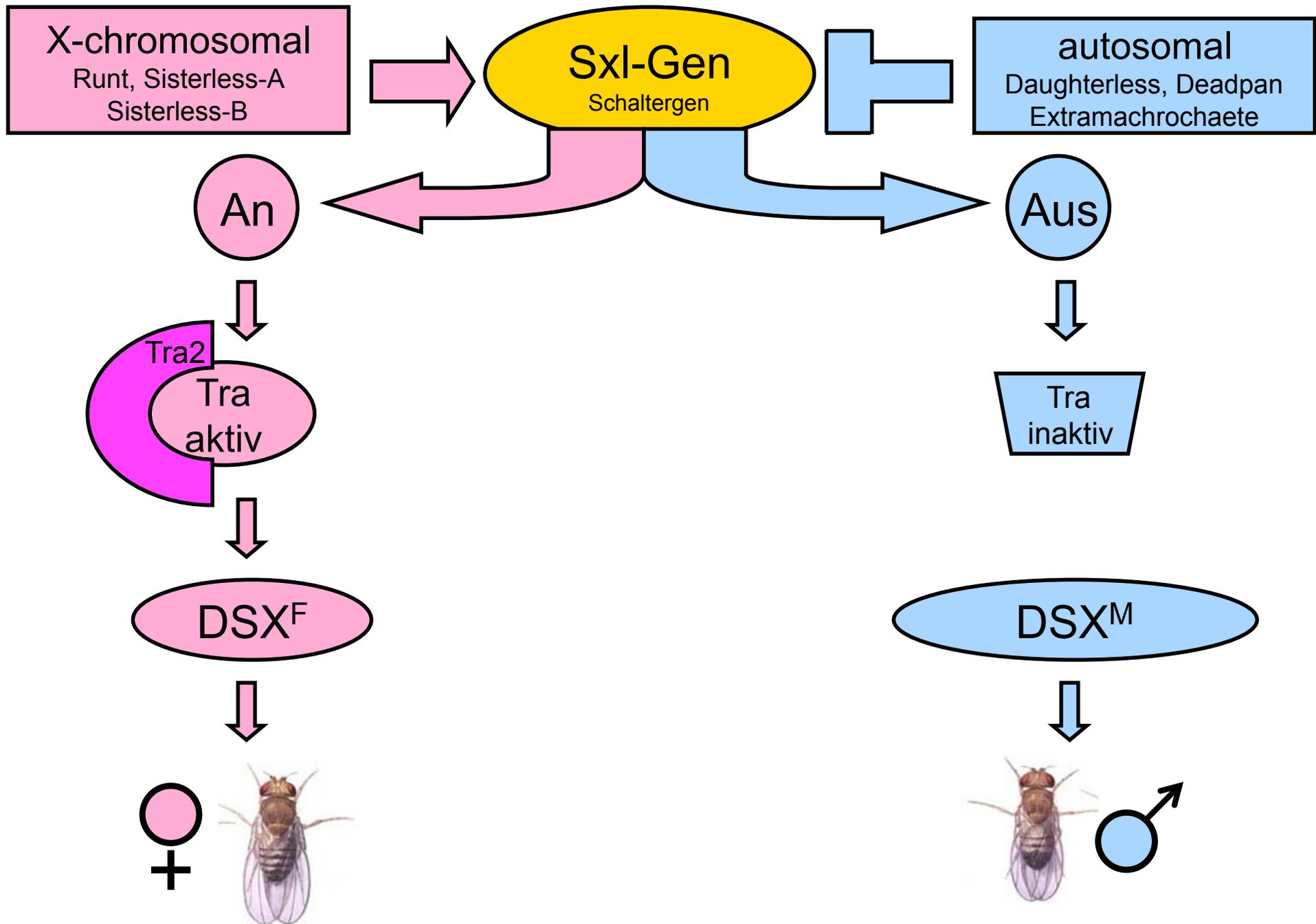
Geschlechtsbestimmung bei Drosophila

Bei Drosophila entscheidet das Zahlenverhältnis der X-Chromosomen zu den Autosomen das Geschlecht

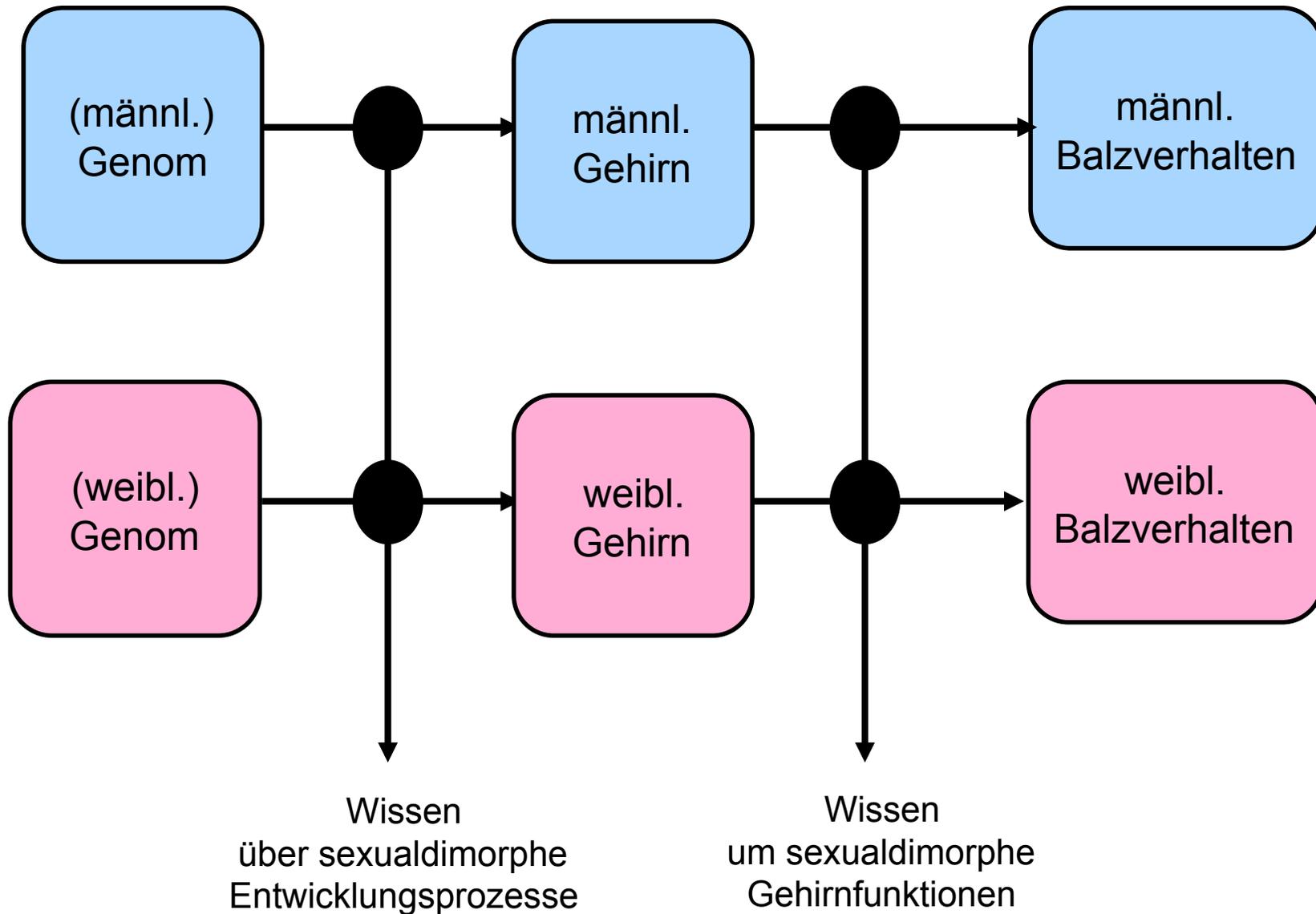
- XX → weiblich
- XY → männlich
- XO → männlich ←weiblich (Turner Syndrom)
- XXY → weiblich ←männlich (Klinefelter S.)

Das ist bei **Homo sapiens** anders: Hier ist das Vorhandensein oder das Fehlen des Y-Chromosoms entscheidend.

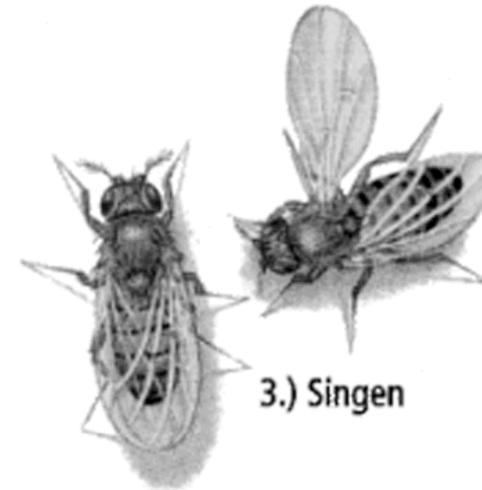
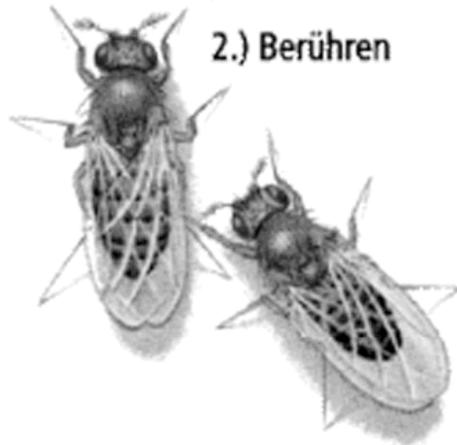
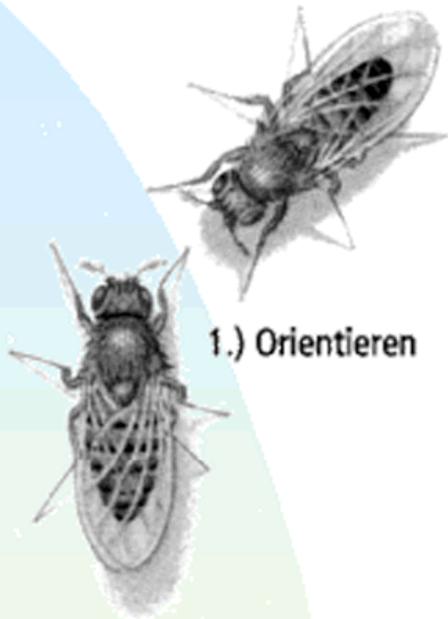
Genetische Geschlechtbestimmung bei Drosophila



Nicht nur die Gestalt, auch Gehirn und Verhalten unterscheiden sich bei den Geschlechtern



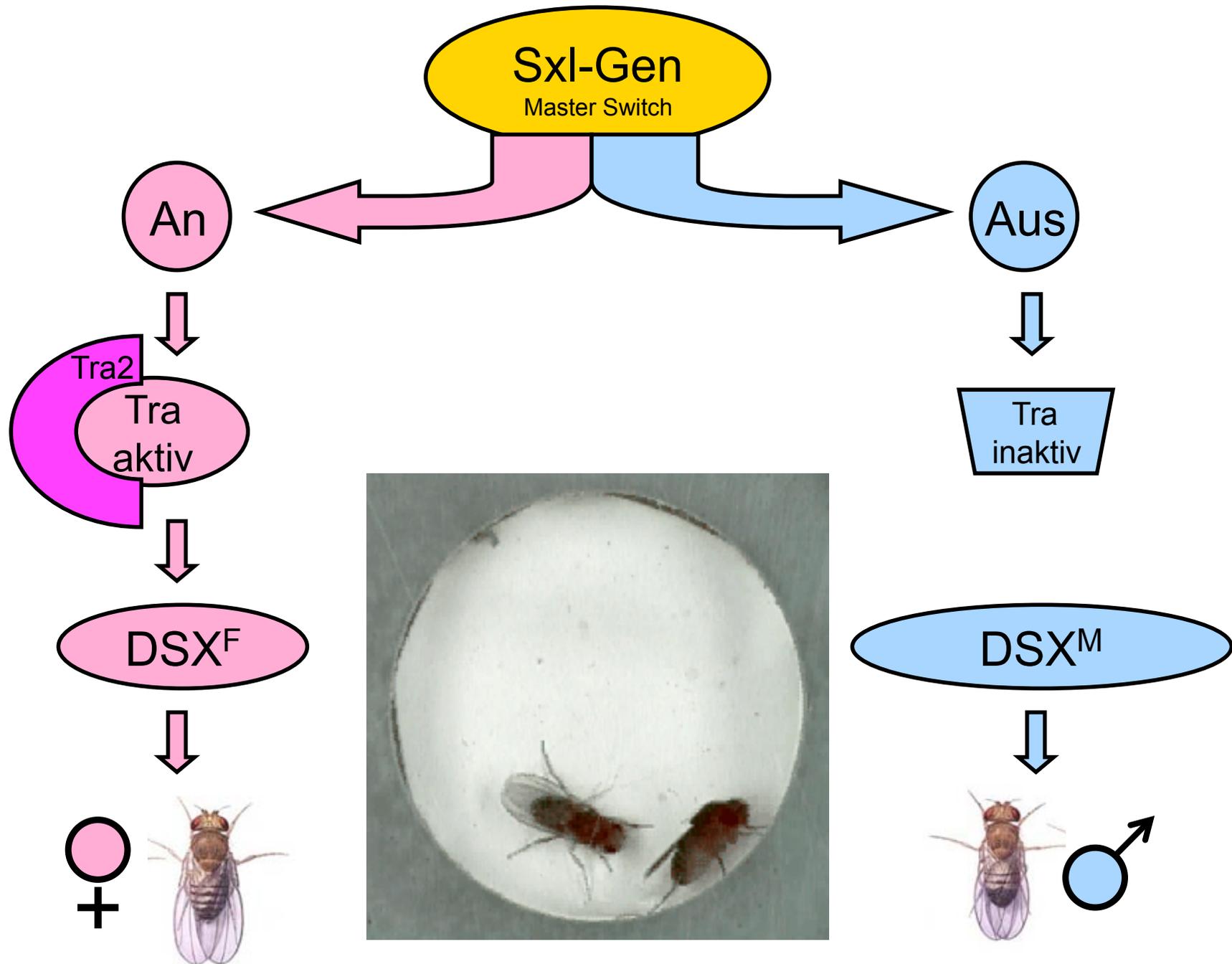
Angeborenes Balzverhalten von Drosophila



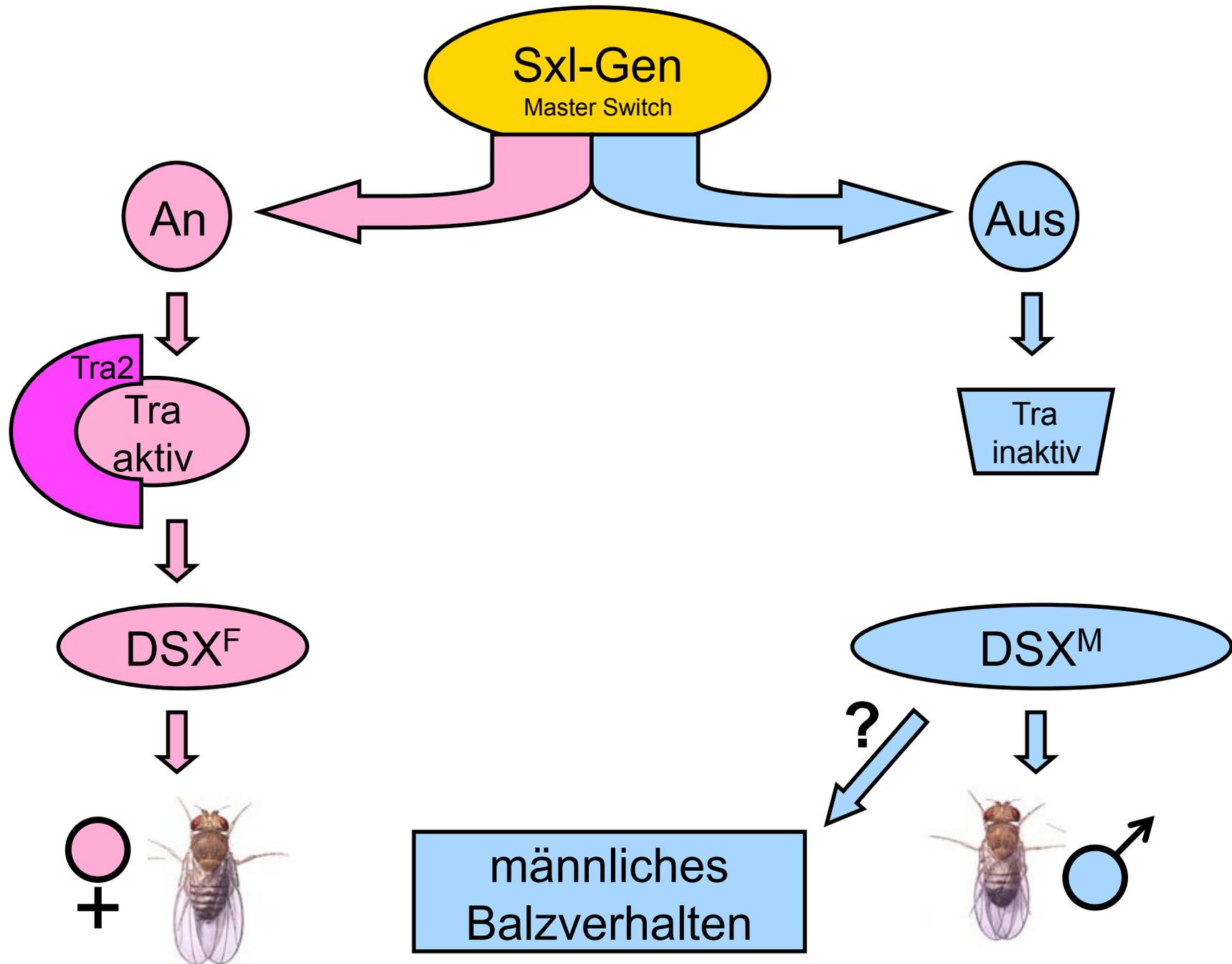
5.) Versuchte Kopulation



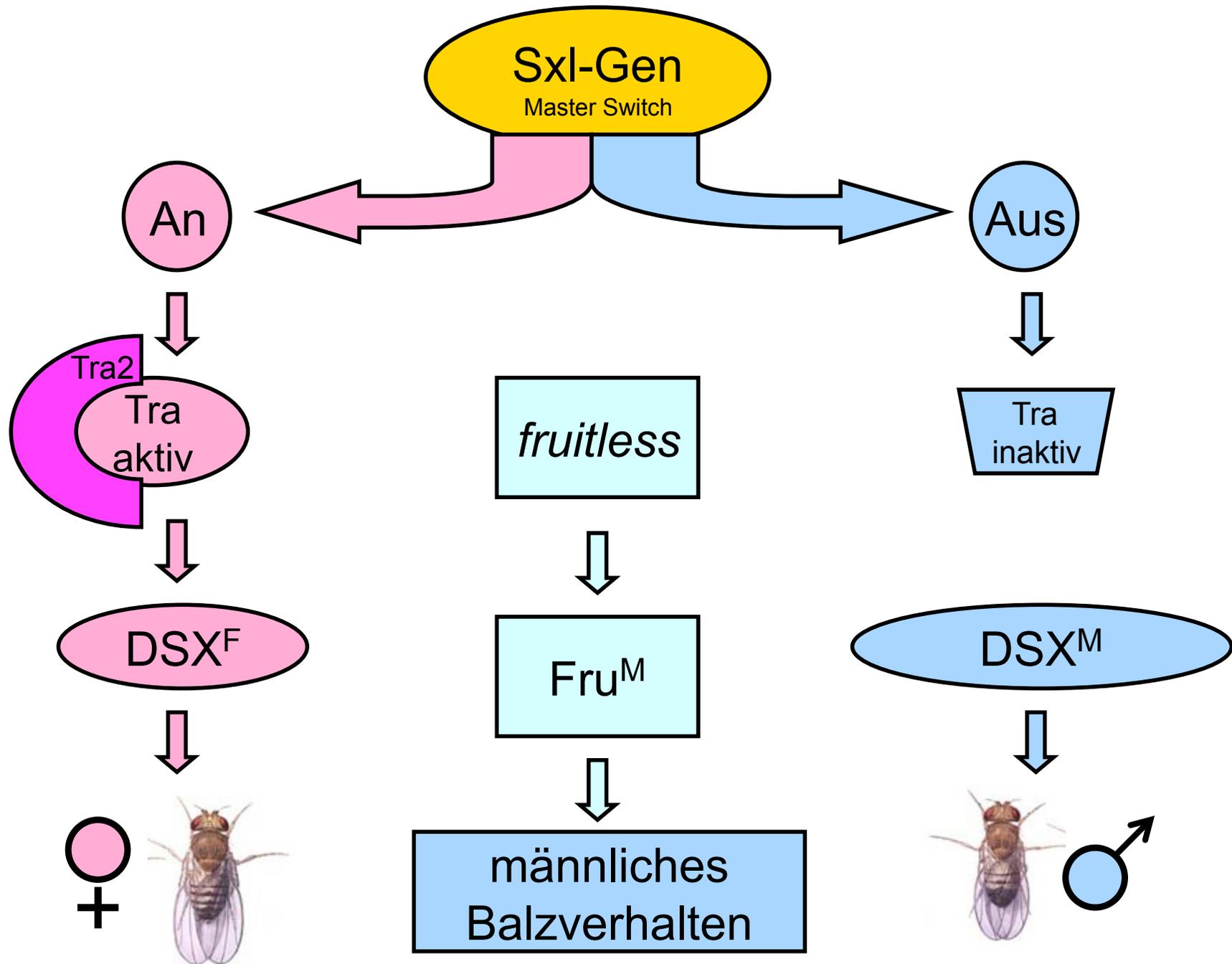
Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



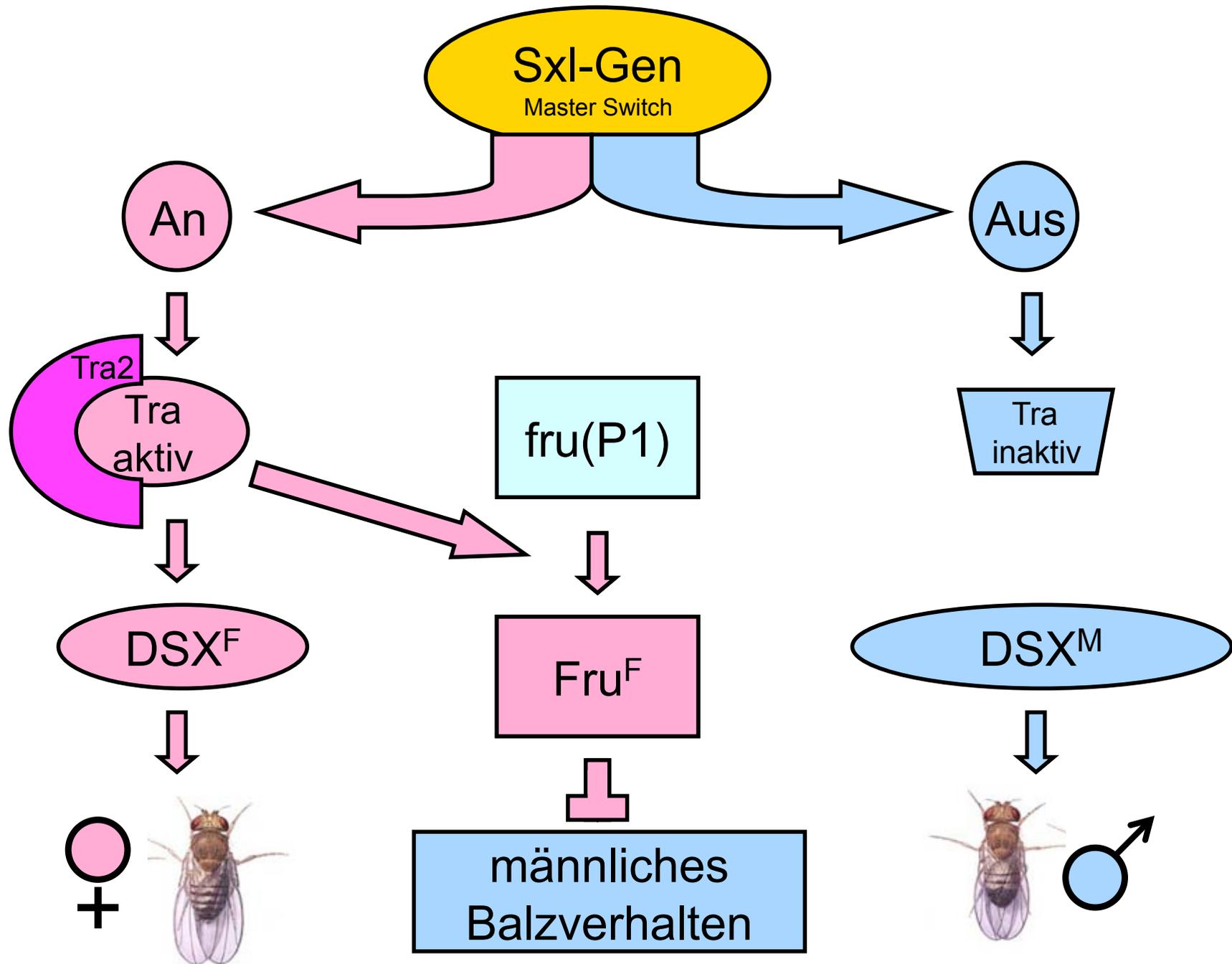
Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



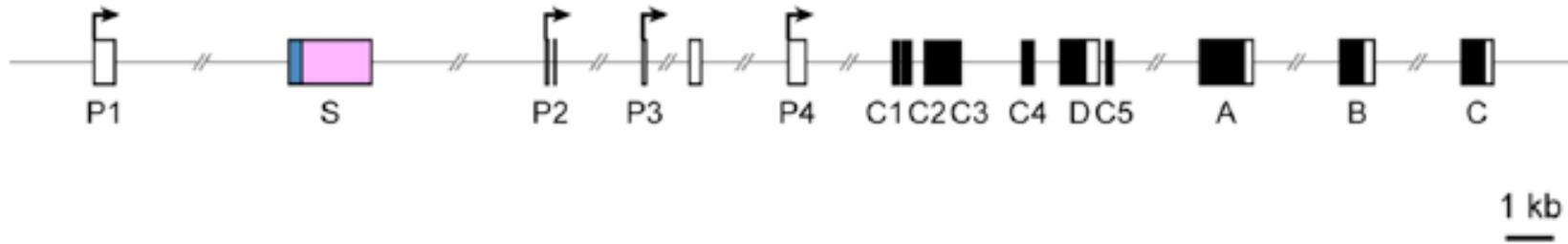
Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



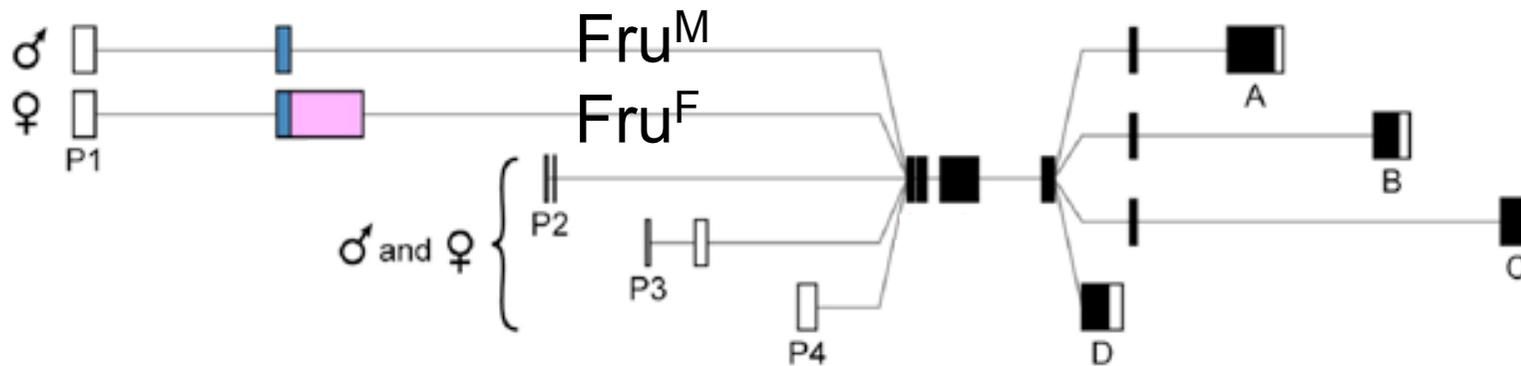
Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



Genomische Organisation des *fruitless*-Gen

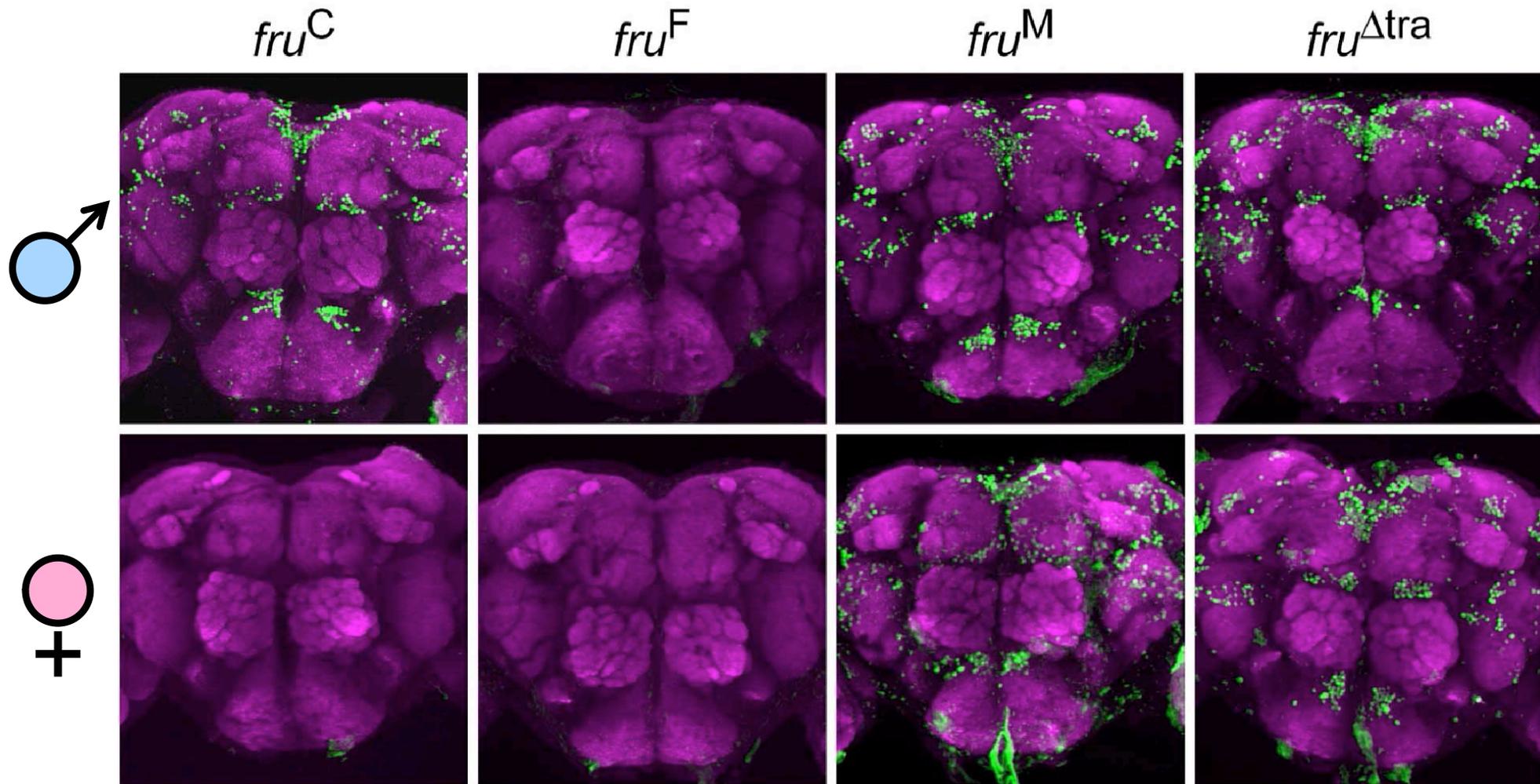


mRNA-Spleißvarianten



Genotypen	Fruitless-Proteine (Transkriptionsfaktoren)	Sexualverhalten	
WT	♂	 <p>Fru^M</p>	<i>männlich normal</i>
WT	♀	 <p>Fru^F</p>	<i>weiblich normal</i>
♂ und ♀ +	Weibchen-spezifische AS-Sequenz		<i>keinen Effekt auf SV, aber lebensnotwendig</i>
<i>fru^M</i>	♂		<i>männlich normal</i>
<i>fru^M</i>	♀ +		<i>männliches SV</i> <i>fru^M-Weibchen Balzen selektiv WT-Weibchen an</i>
<i>fru^F</i>	♂		<i>kein männliches Balzverhalten</i>
<i>fru^F</i>	♀ +		<i>weiblich normal</i>

anti-Fru^M (grün) positive Neurone in Gehirnen von *fruitless* Mutanten



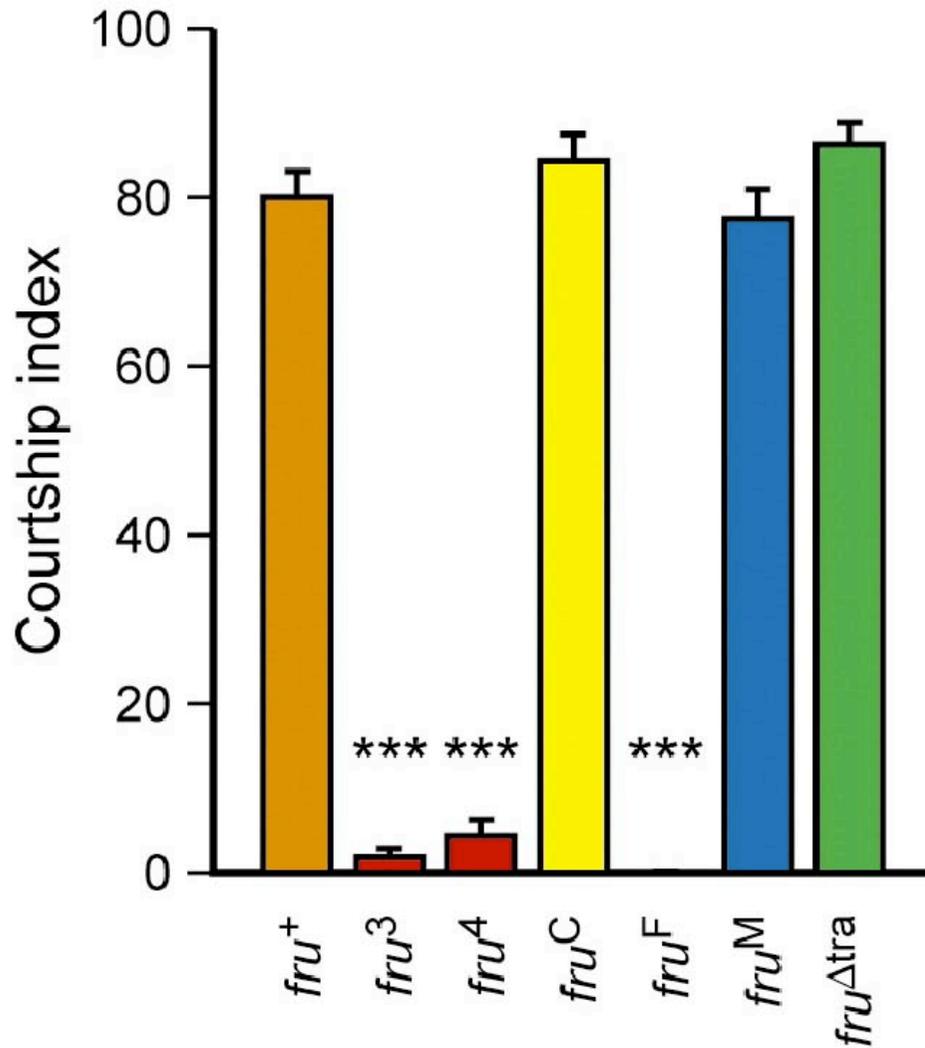
Spleißen normal

kann kein Fru^M
bilden

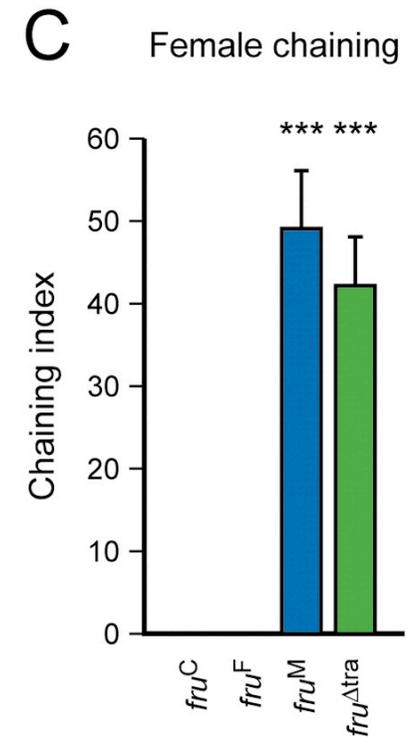
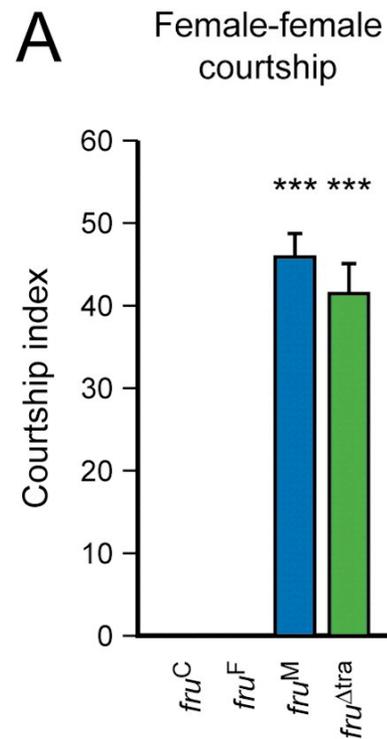
kann nur Fru^M
bilden

kann nur Fru^M
bilden

**Die männliche Spleißvariante ist für das Balzverhalten notwendig:
Männchen ohne Fru^M balzen nicht**



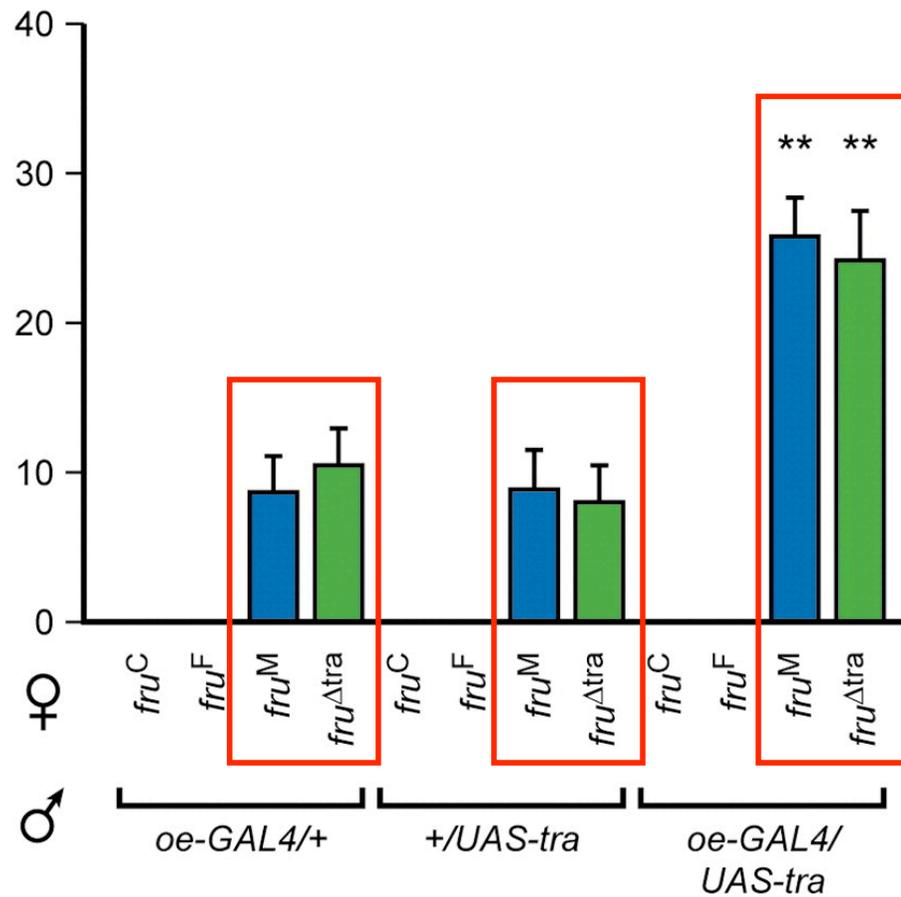
Die männliche Spleißvariante ist hinreichend für männliches Balzverhalten



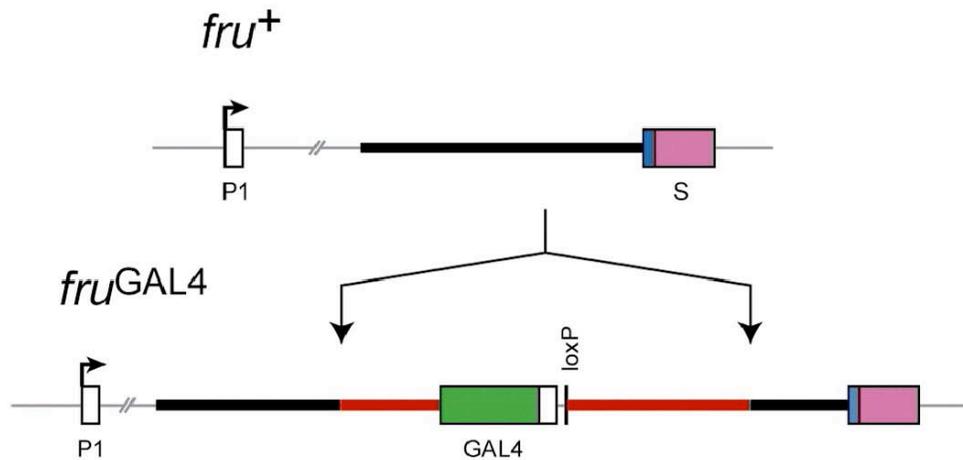
Kettenbildung bei homosexuellen Fliegen



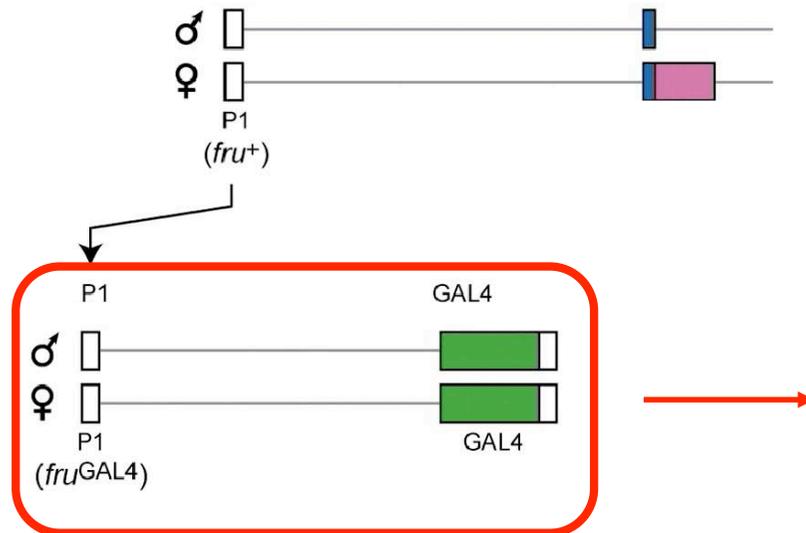
Umkehrung der Geschlechterrollen:
Weibchen mit Fru^M balzen Männchen an,
die weibliche Pheromone produzieren



Die Produktion eines P1-Gal4 Stammes durch homologe Rekombination

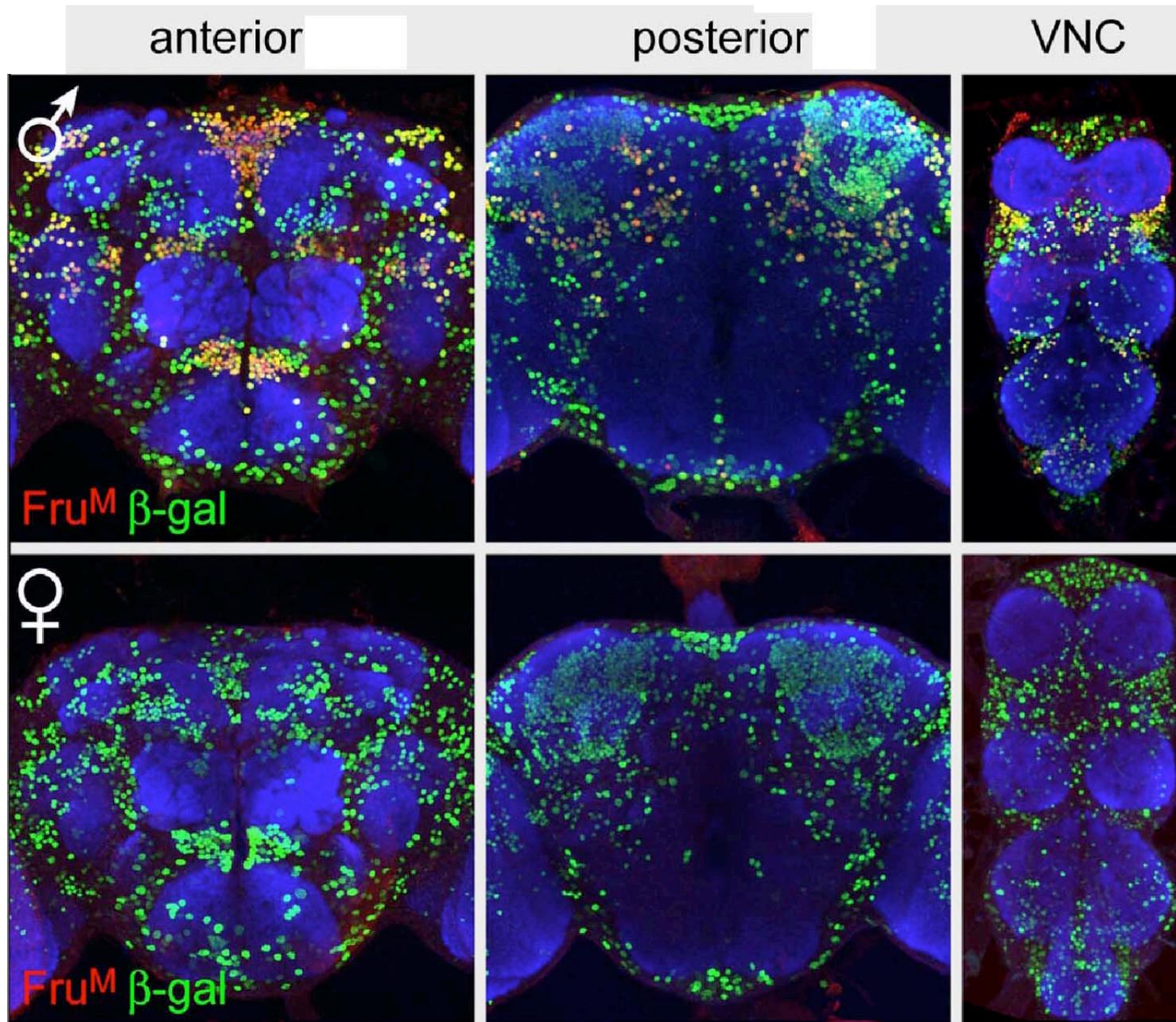


Ergebnis auf mRNA-Ebene

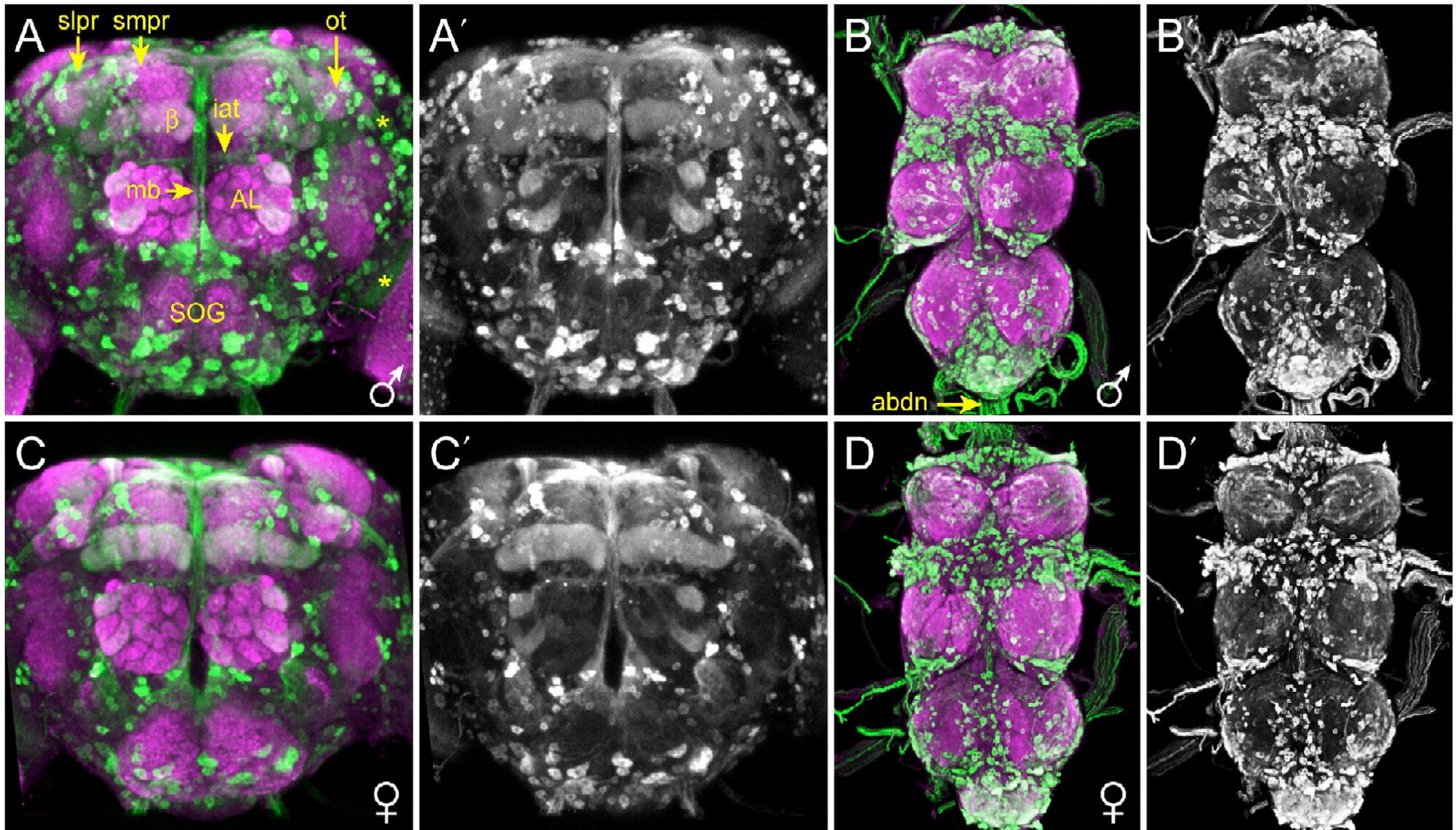


Mit diesem Werkzeug können alle Zellen mit aktivem P1-Promotor gentechnisch adressiert werden.

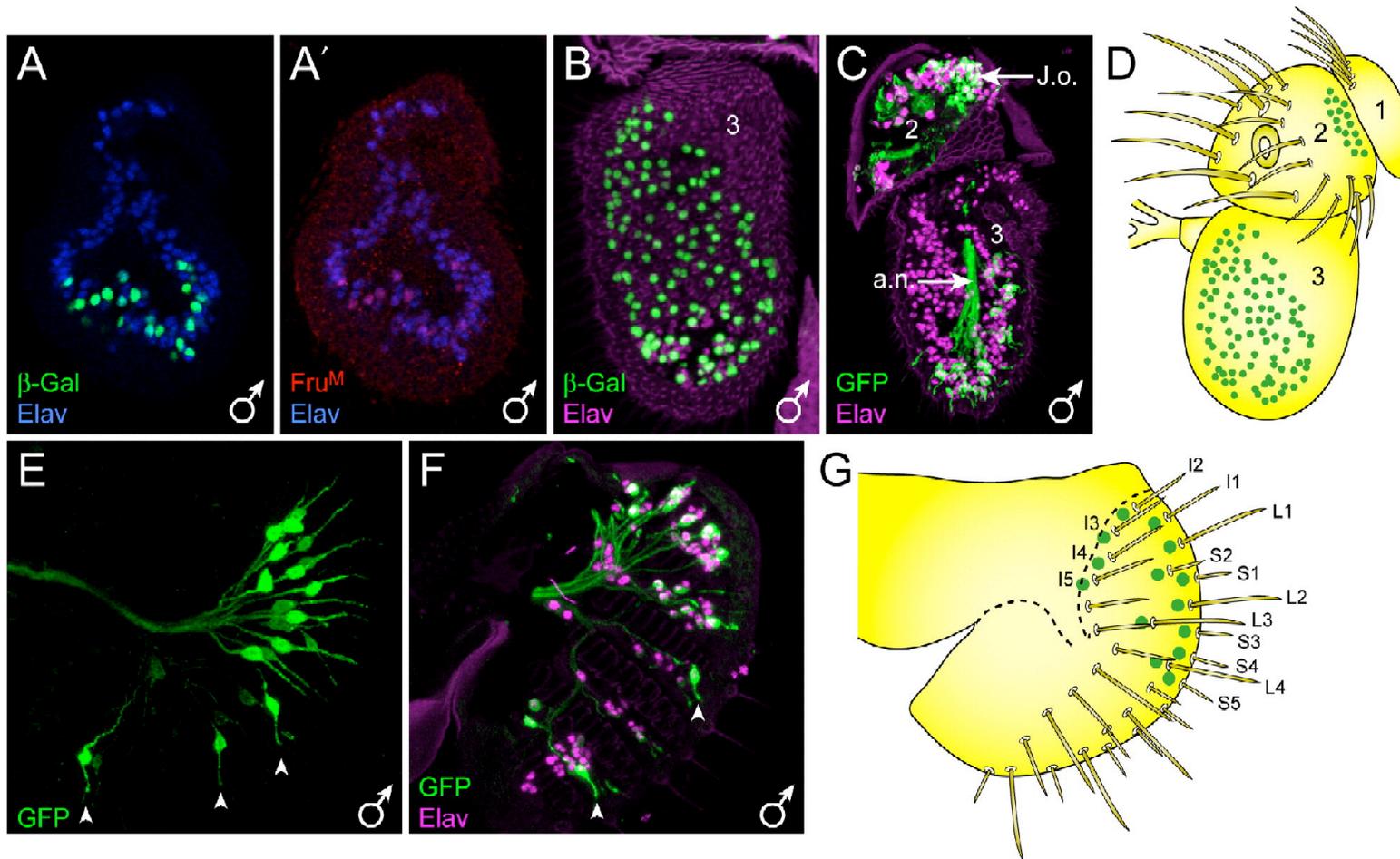
Gehirne von adulten P1-Gal4, UAS-nlacZ Fliegen



P1-Gal4 exprimierende Fasertrakte:
Es gibt keinen offensichtlichen strukturellen Sexualdimorphismus

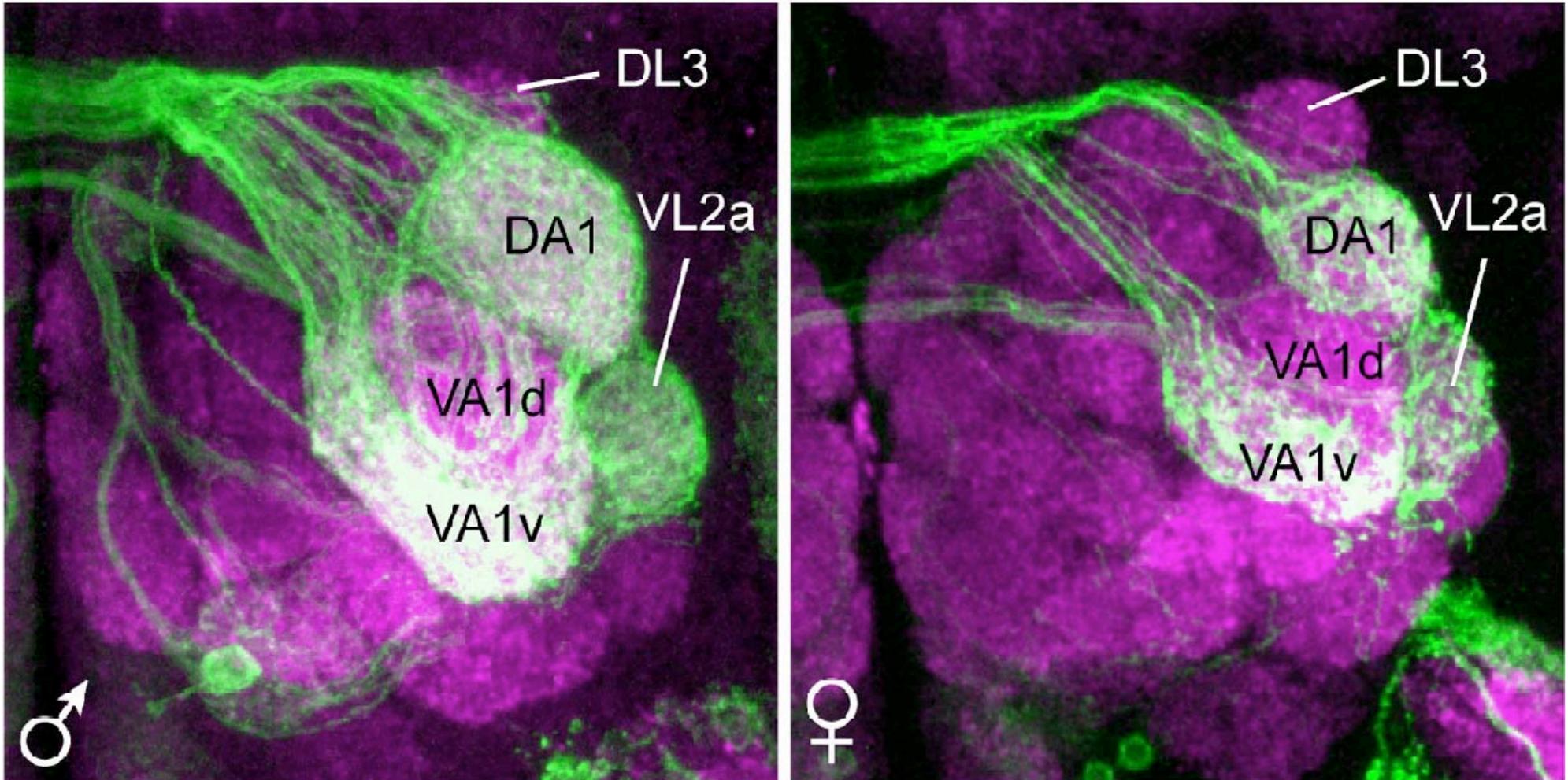


P1-aktive Neurone im PNS



P1-Gal4 positive olfaktorische Rezeptoren projizieren in geschlechtsdimorphe antennale Glomeruli spezifisch für

Pheromone



Fragen, die am Beispiel des Sexualverhaltens bearbeitet wurden

- Welchen Regeln unterliegt die Entwicklung angeborener Verhaltensweisen?
- Gibt es „Mastergene“ auch für angeborene Verhaltensweisen (wie für Organe wie Augen, Herz etc.)?
- Ist das Sexualverhalten durch genetische Programmierung vom somatische Geschlecht trennbar?

Antworten für Drosophila

- Das sexspezifische Spleißprodukt Fru^M ist **Master** des männlichen Sexualverhaltens.
- Die Expression ist neuronal und findet im PNS wie im ZNS in etwa 2% aller Neurone statt.
- Durch geeignete gentechnische Manipulationen an beiden Geschlechtern können somatische Weibchen somatische Männchen anbalzen (**Wirkung über Umkehrung der Pheromonproduktion und Wahrnehmung**).
- Ein struktureller neuronaler Sexualdimorphismus liegt im Antennallobus vor.
- Ein stürmischer Fortschritt bei dem Verständnis der neuronalen Kontrolle des Sexualverhaltens bei Drosophila findet zur Zeit statt.

行發社聞新權消



Genetische Prädispositionen für die Trennung von sexueller Orientierung und somatischem Geschlecht beim Menschen sind wahrscheinlich, aber nicht allein bestimmend

A. Homosexualität von Bruderpaaren

Wenn einer, dann auch der andere

Quelle:
Archives of General Psychiatry (1991) 48, 1089-1096

eineiige Zwillinge	52%
zweieiige Zwillinge	22%
Adoptivbrüder	11%

A. Homosexualität von Schwesterpaaren

Wenn eine, dann auch die andere

Quelle:
American Journal Psychiatry (1993)1508, 272-277

eineiige Zwillinge	48%
zweieiige Zwillinge	16%
Adoptivschwestern	6%

Vielen Dank für ihre Aufmerksamkeit!

