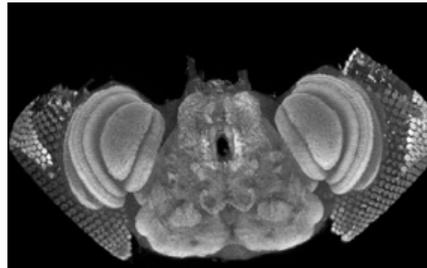


# Genetic programming of inborn behavior

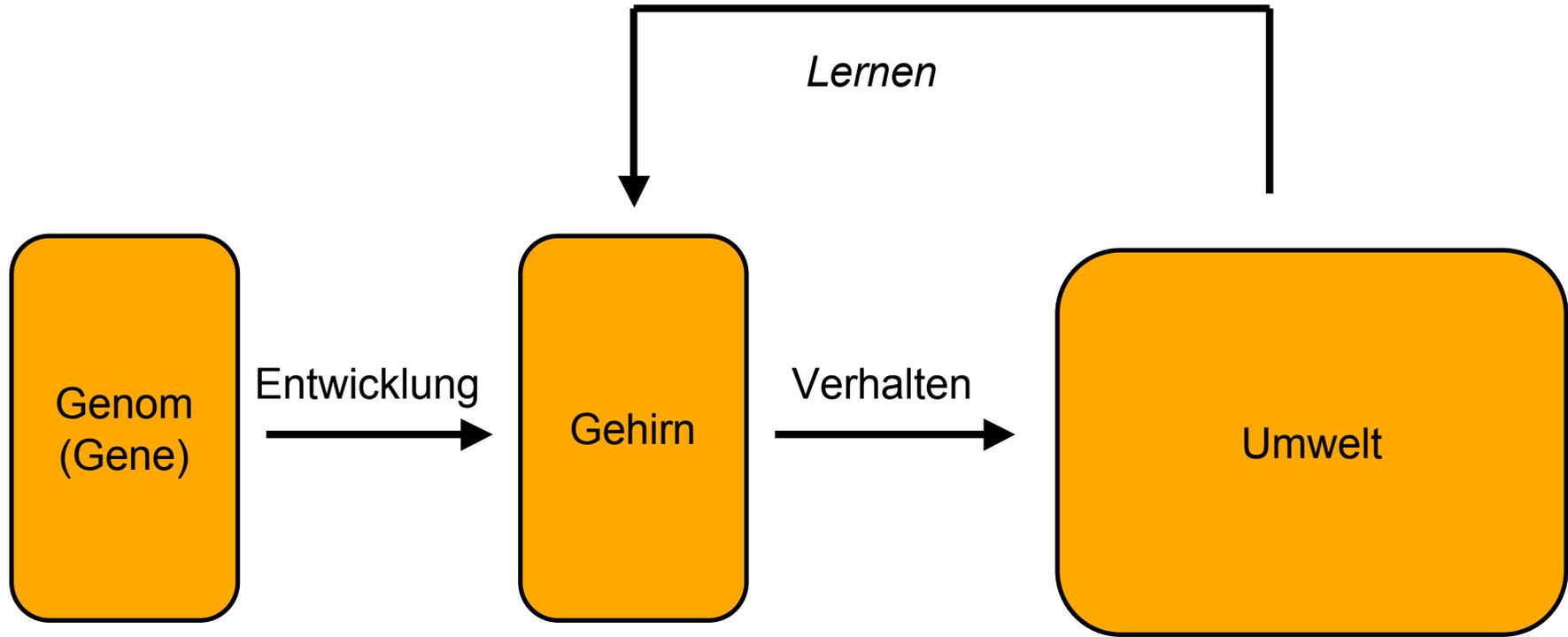


Karl-Friedrich Fischbach  
Neurogenetics  
Institut für Biologie III  
Schänzlestr. 1  
79104 Freiburg i. Brsg.

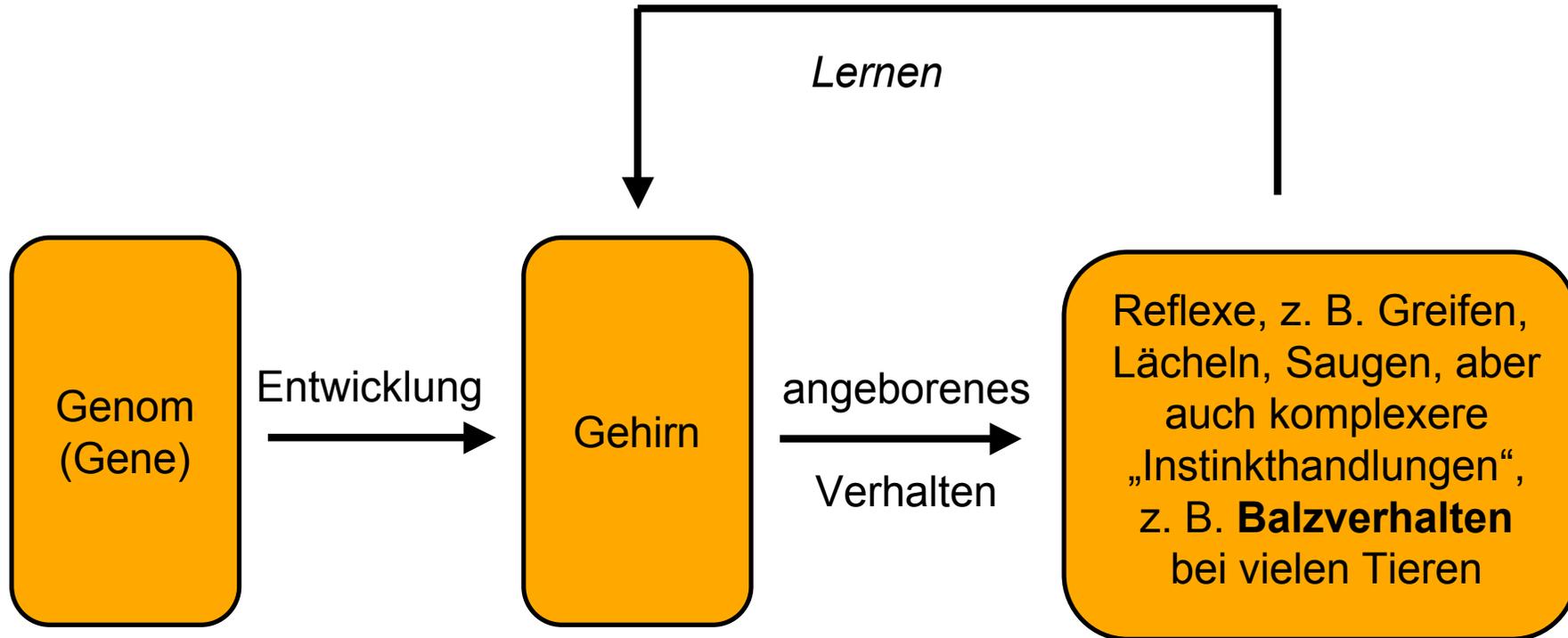
Labor Homepage: <http://filab.biologie.uni-freiburg.de>

Fragestellung der heutigen Vorlesung

**Welchen Einfluss haben Gene auf das Verhalten?**



# Systemvereinfachung: Fokus auf angeborene Verhaltensweisen



Die vereinfachte Fragestellung der Vorlesung

***„Wie entstehen die Verhaltensunterschiede zwischen den Geschlechtern im individuellen Entwicklungsprozess, welche Rolle spielen die Gene hierbei?“***

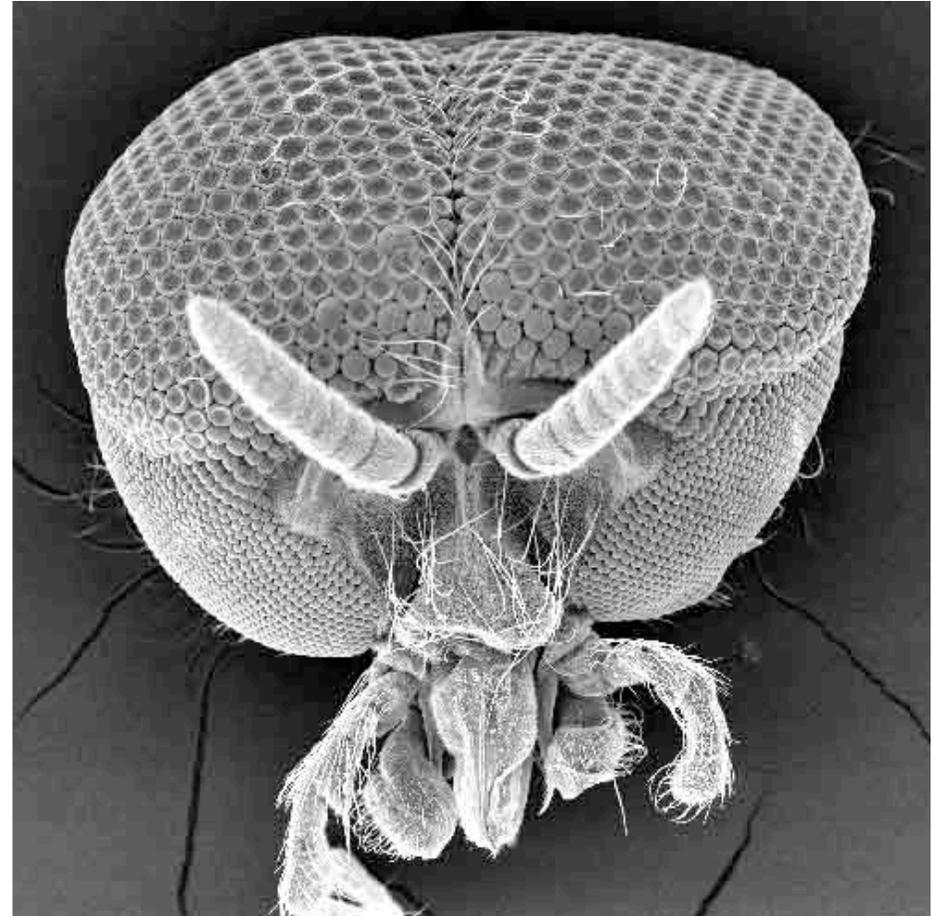
Weitere Vereinfachung:

***Invertebraten als Modellsystem***

# Sexualdimorphismus bei Simuliiden (Kriebelmücken, Black Flies)



Weibchen

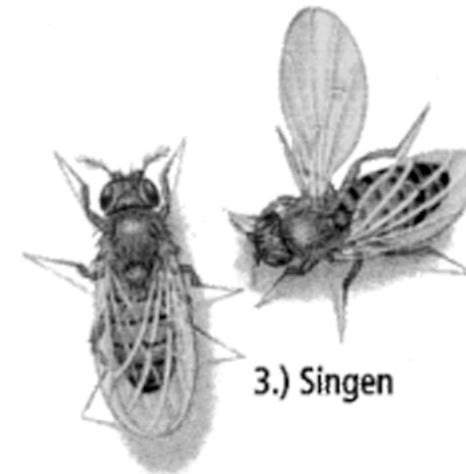
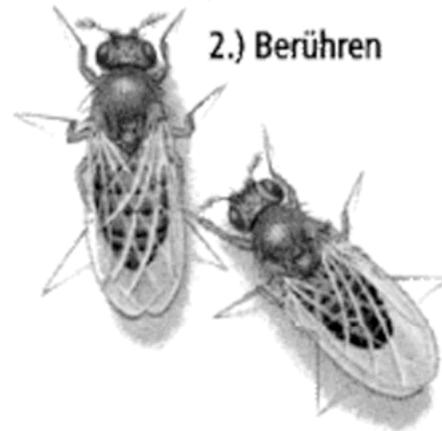
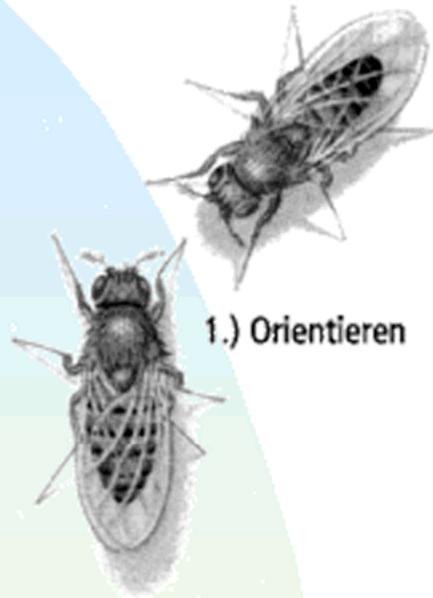


Männchen

Bei *Drosophila* gibt es im Kopfbereich keinen sichtbaren Sexualdimorphismus



# Angeborenes Balzverhalten von Drosophila



5.) Versuchte Kopulation



# Konkrete Fragen

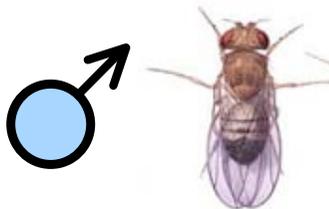
- Welchen Regeln unterliegt die Entwicklung angeborener Verhaltensweisen? Taugt das Sexualverhalten als Modell?
- Ist das Sexualverhalten durch genetische Programmierung vom somatische Geschlecht trennbar?

# Gliederungspunkte

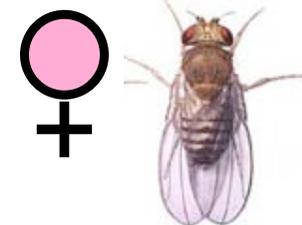
1. Ist *Drosophila* als Modellsystem geeignet?
2. Die Genkaskaden der Differenzierung der Geschlechter bei *Drosophila*
3. Die Rolle des Gens *Fruitless* für männliches Sexualverhalten
4. Genetische Manipulation der Geschlechterrollen
5. Sexualdimorphismen im Gehirn von *Drosophila*
6. Diskussion der konzeptionellen Übertragbarkeit der Ergebnisse vom Modellsystem Fliege auf den Menschen

# genetische Geschlechtsbestimmung bei *Drosophila melanogaster*

männlicher Karyotyp

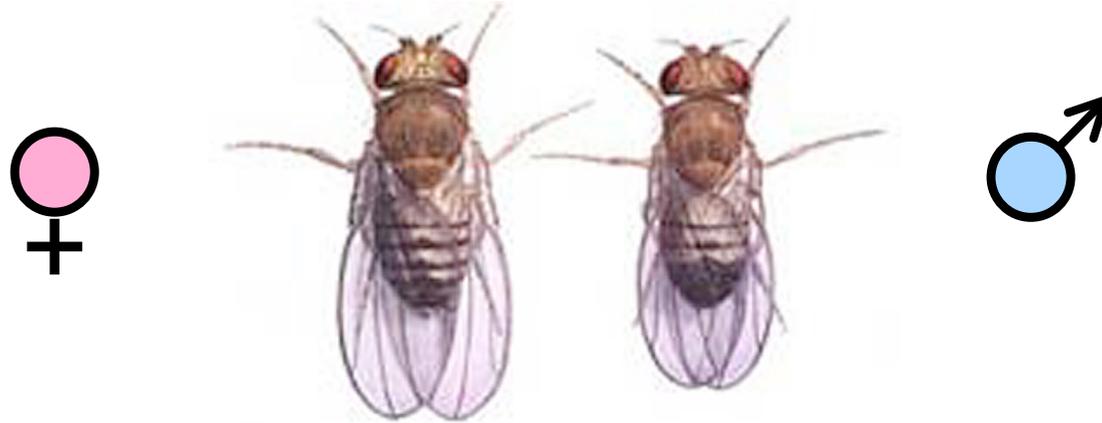


weiblicher Karyotyp



Es gibt eine genotypische Geschlechtsbestimmung

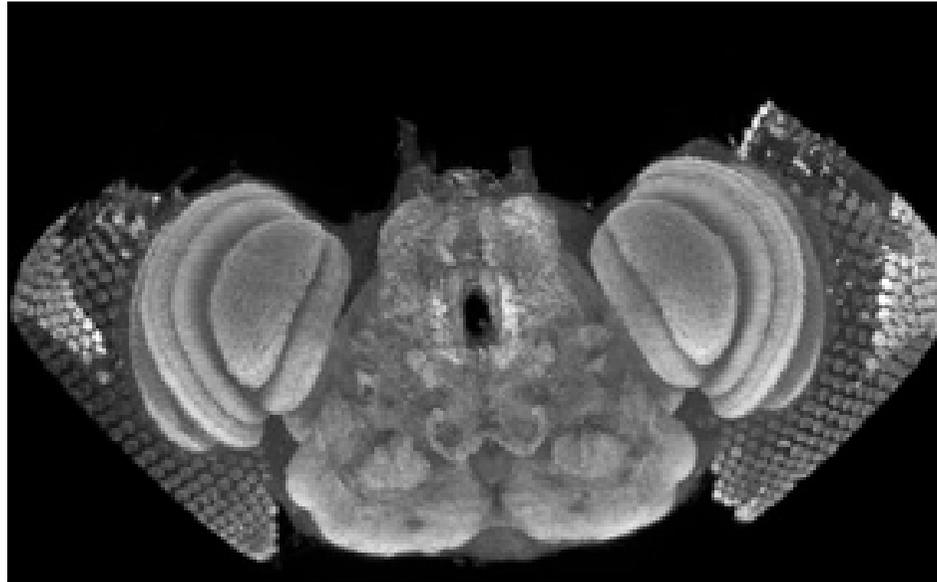
# Ist Drosophila als Modellsystem für unsere Fragestellungen geeignet?



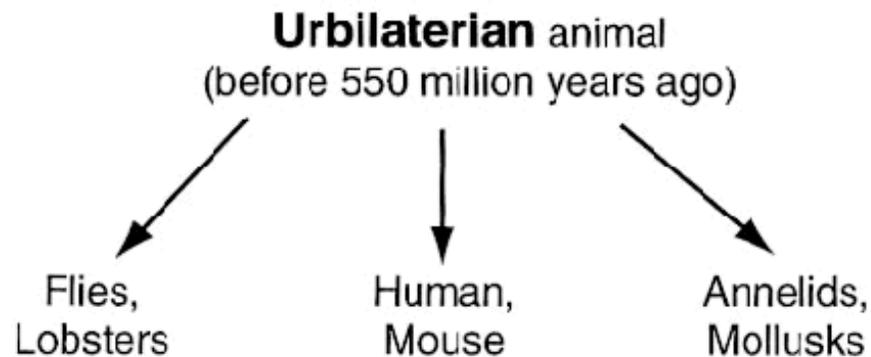
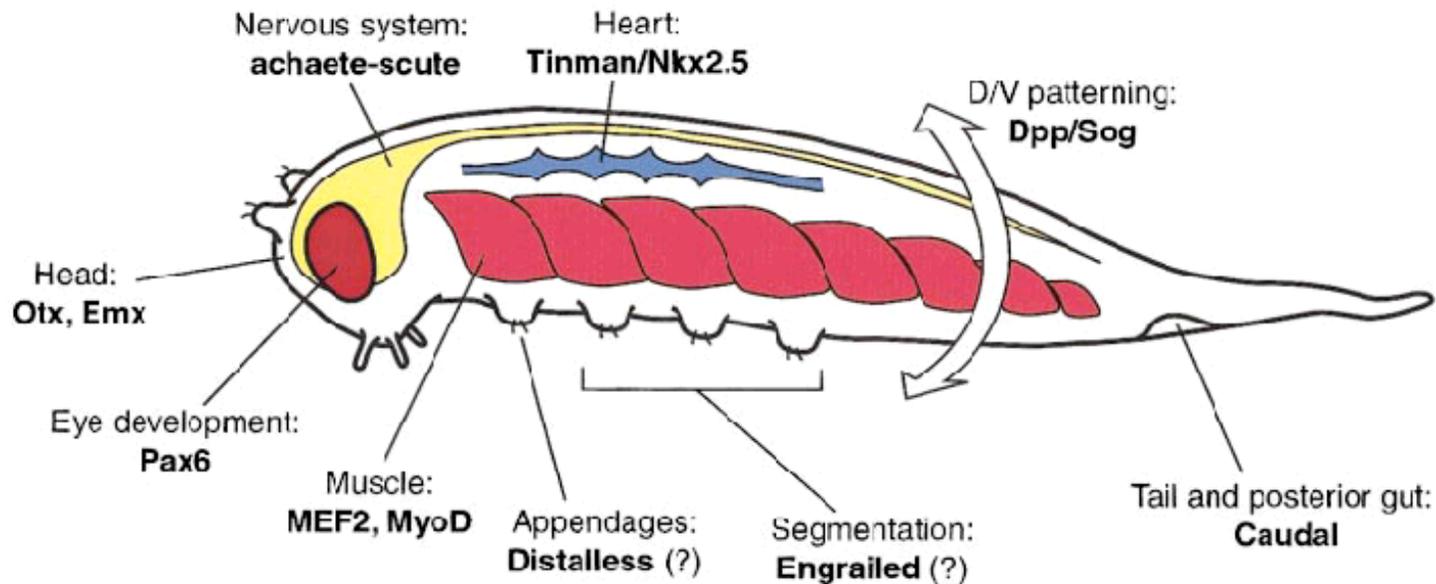
## Einige Argumente für Drosophila

1. Klein und billig zu halten
2. Hohe Nachkommenzahl
3. Kurze Generationszeit
4. Sequenziertes Genom
5. Zahlreiche Mutanten
6. Leichte gentechnische Modifizierbarkeit
7. Zu fast allen Genen gibt es homologe Gene im Menschen

## 8. Drosophila hat ein komplexes Gehirn und Verhalten



## 9. Es gibt einen gemeinsamen Vorfahren



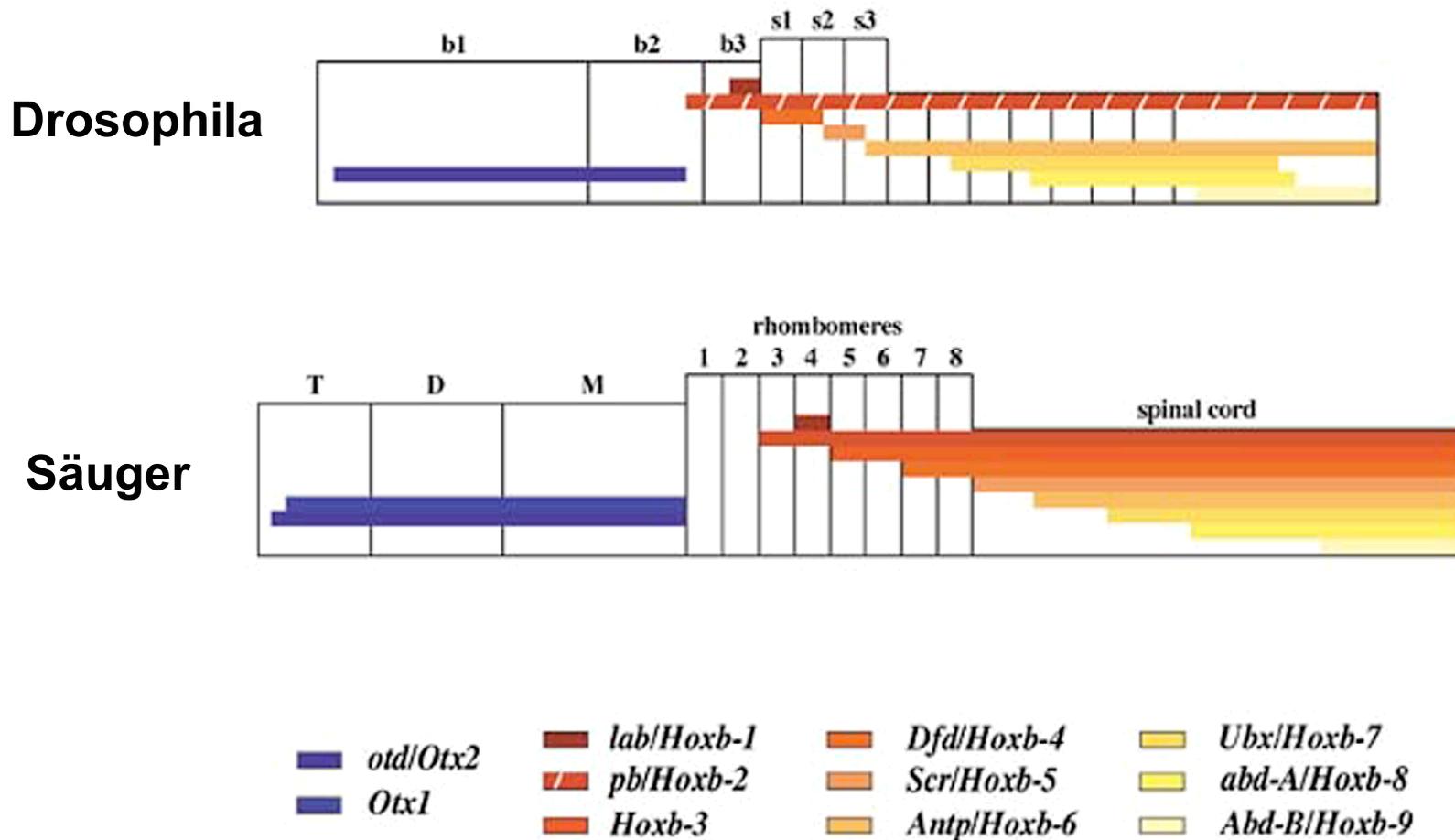
# 11. Argument für Drosophila als Modellsystem:

Die Konservierung sogenannter  
Mastergene in der Entwicklung

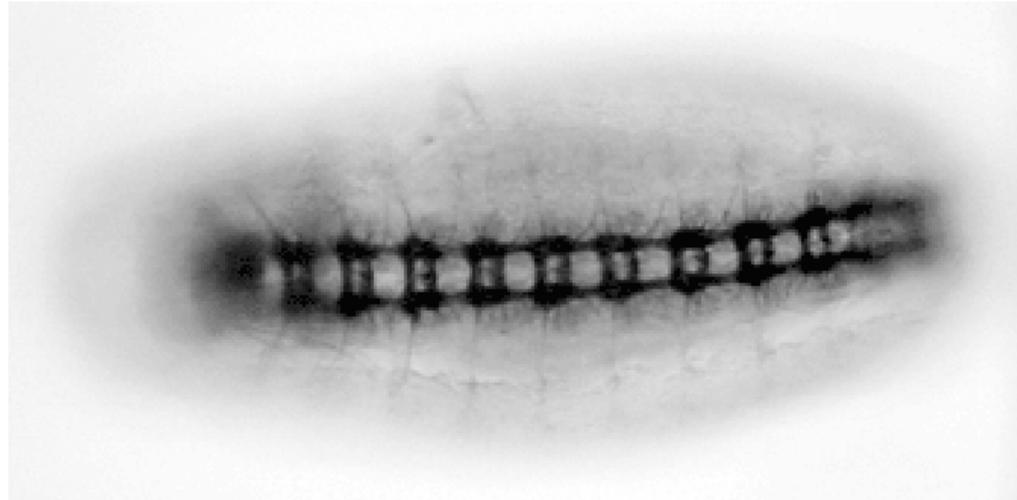
Beispiel 1  
für ein konserviertes Mastergen  
in der Entwicklung:

otd/OTX

# 10. Die Expression konservierter Gene für Transkriptionsfaktoren untergliedert die Längsachse des ZNS in vergleichbarer Weise



# Strickleiternernervensystem des Embryos

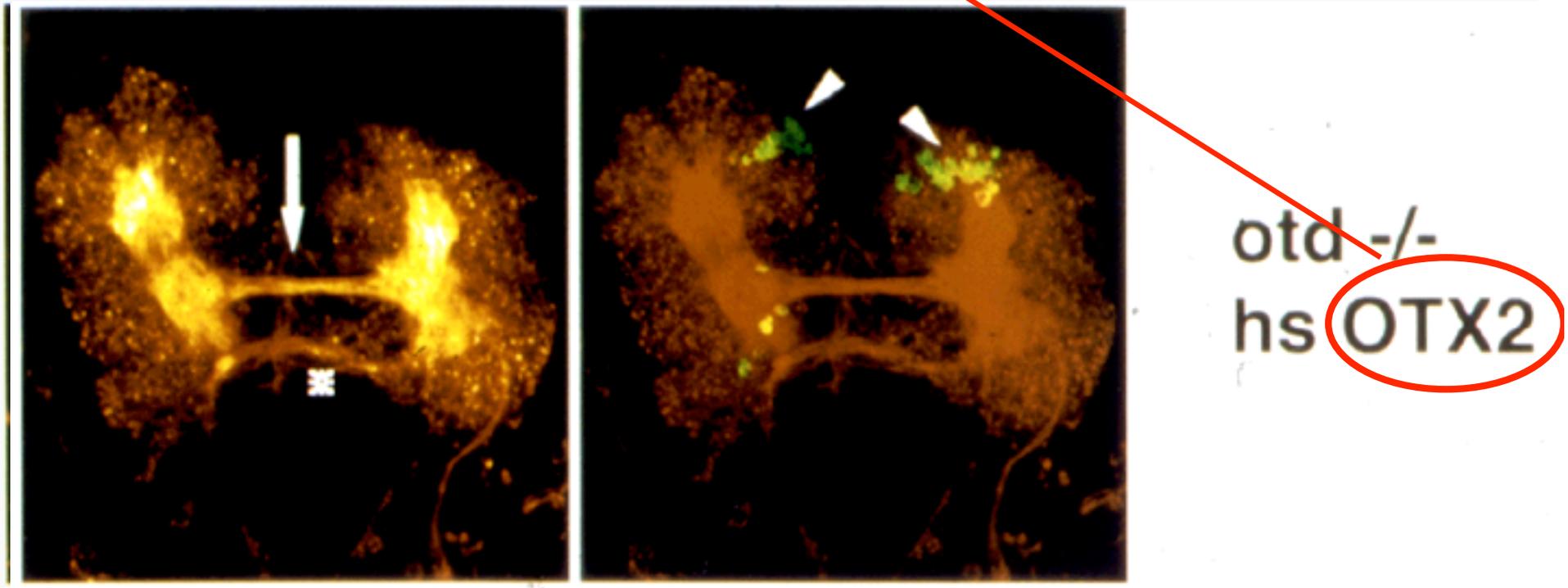


von unten



von der Seite

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

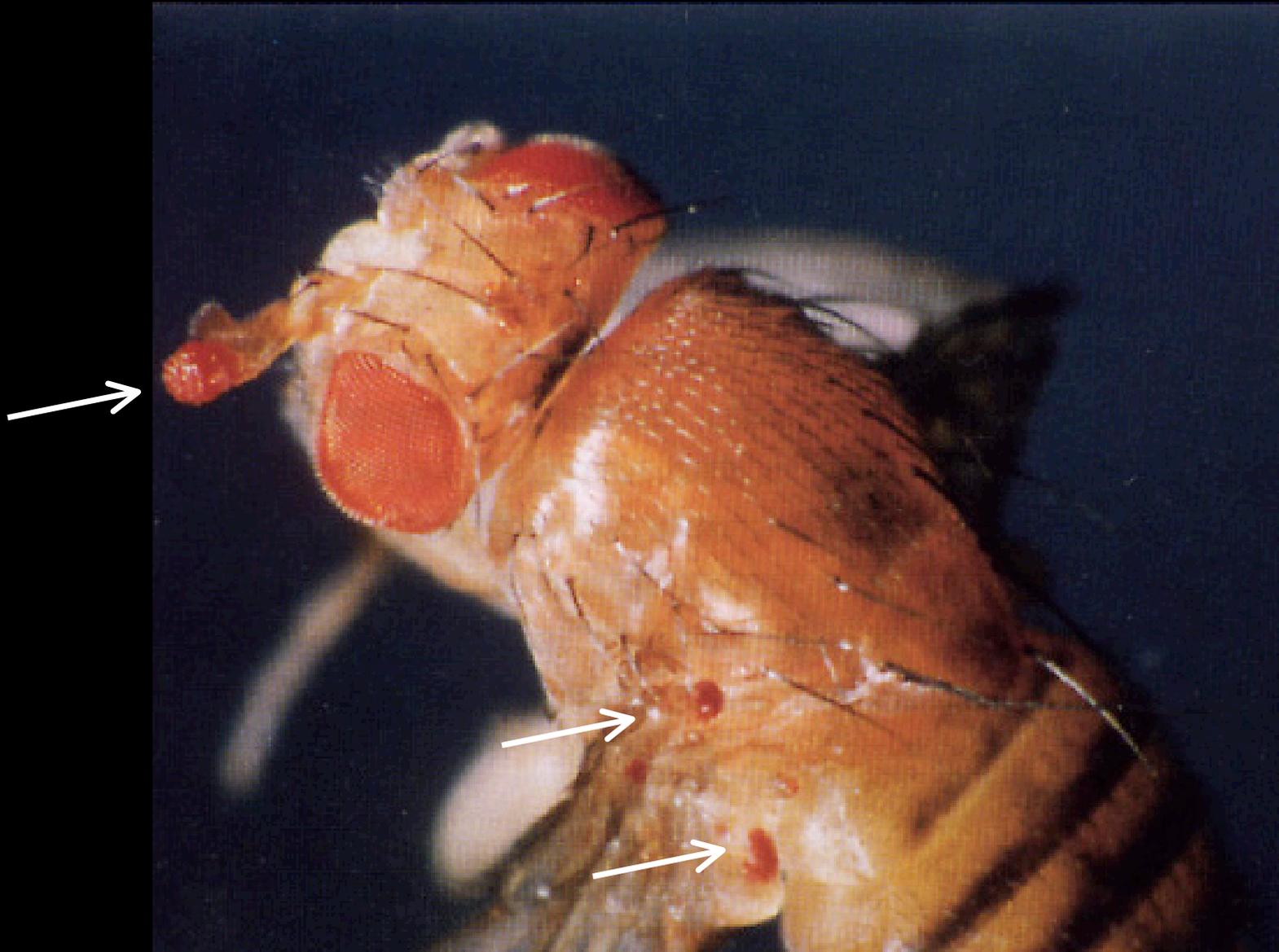


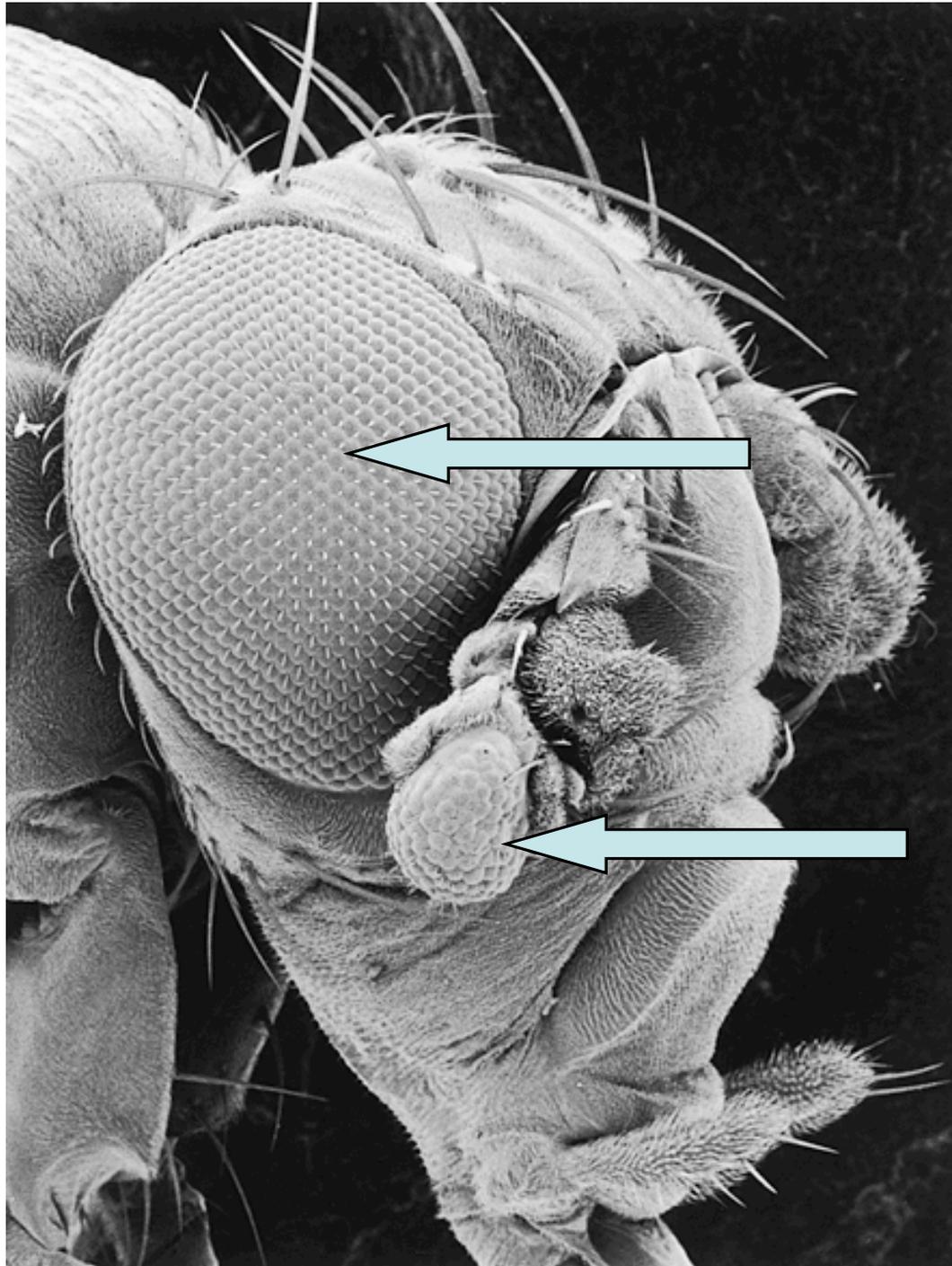
<http://www.unibas.ch/dib/zoologie/research/neuro.html>

Beispiel 2  
für ein konserviertes Mastergen  
in der Entwicklung:

eyeless / PAX6

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



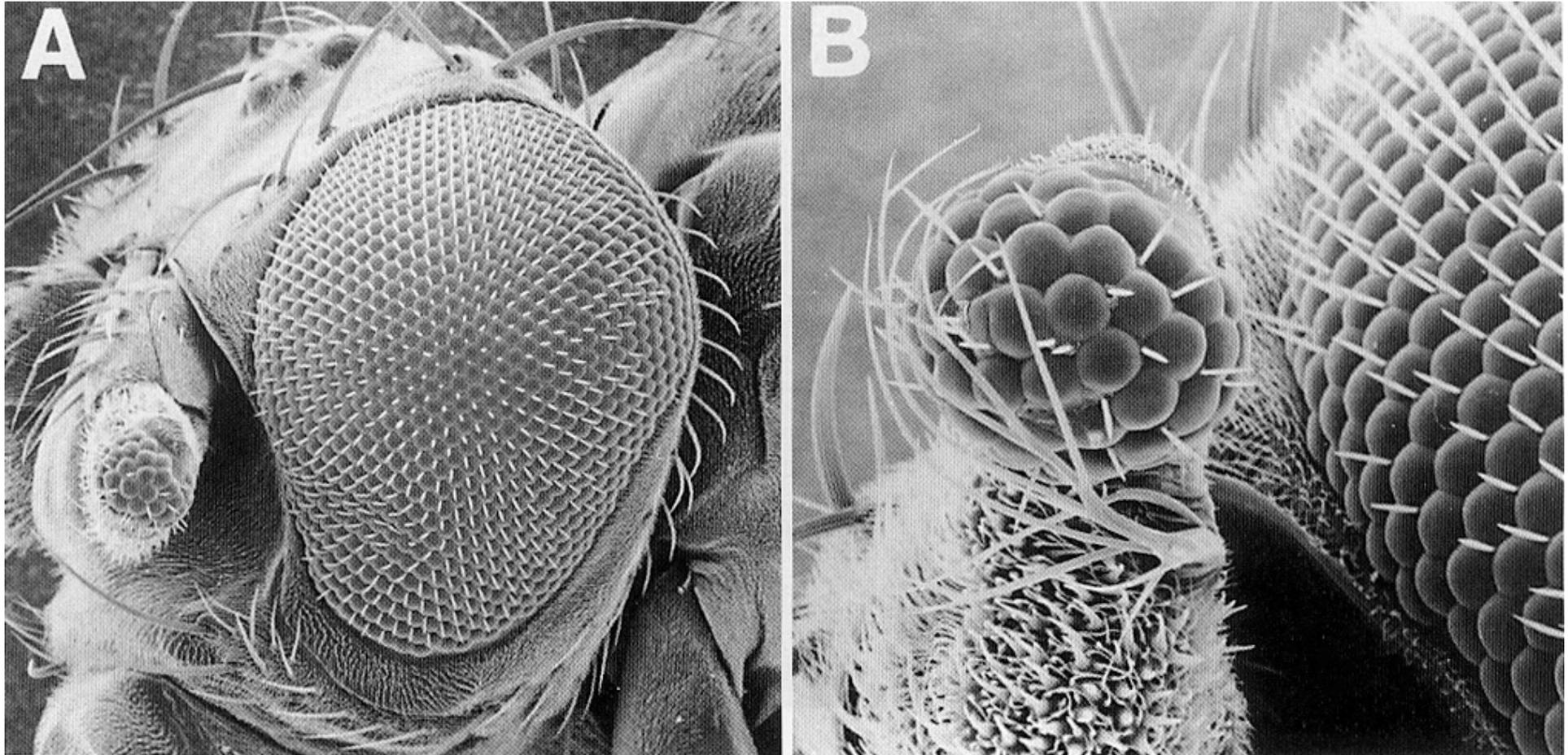


## Entwicklungsgenetik des Komplexauges von *Drosophila*

Transformierte Antenne  
durch die  
Fehlexpression des  
*eyeless*-Gens

# Transformierte Antenne durch Expression des *Small eye* Gens der Maus

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



## 12. Argument für Drosophila als Modellsystem:

Die genetische Manipulierbarkeit

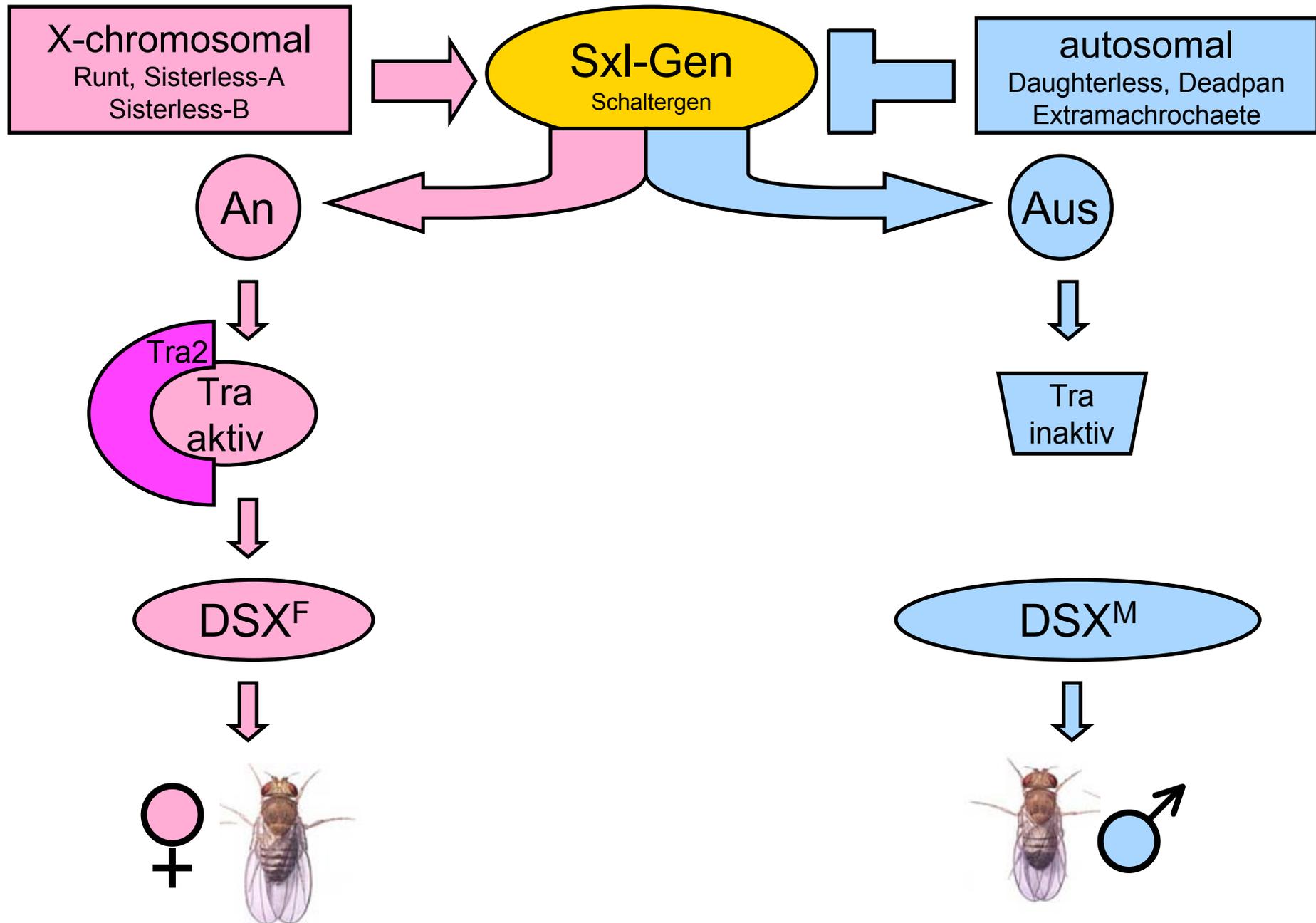
# Geschlechtsbestimmung bei Drosophila I

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

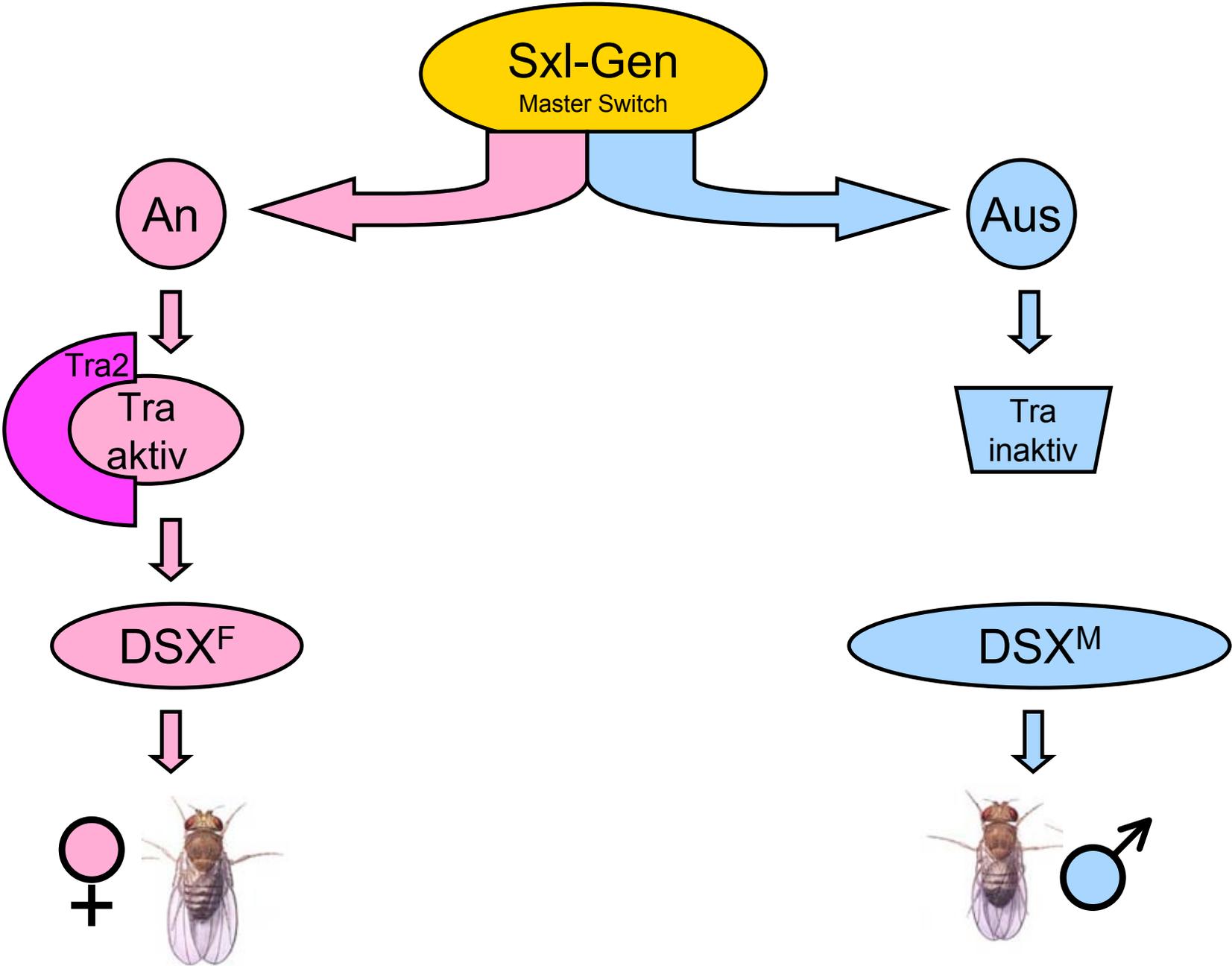
- XX → weiblich
- XY → männlich
- XO → männlich ←weiblich (Turner Syndrom)
- XXY → weiblich ←männlich (Klinefelter S.)

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

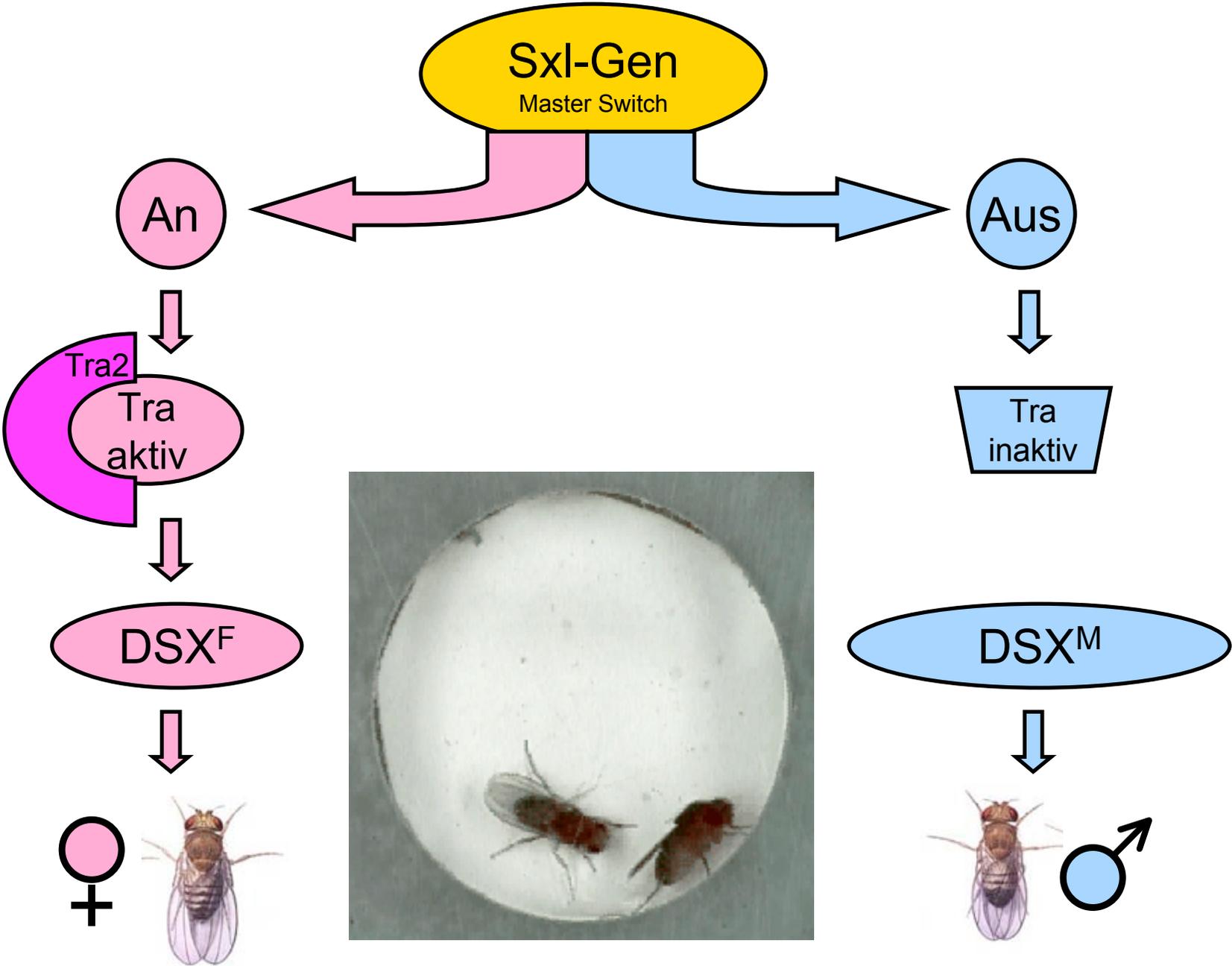
# Genetische Geschlechtbestimmung bei Drosophila



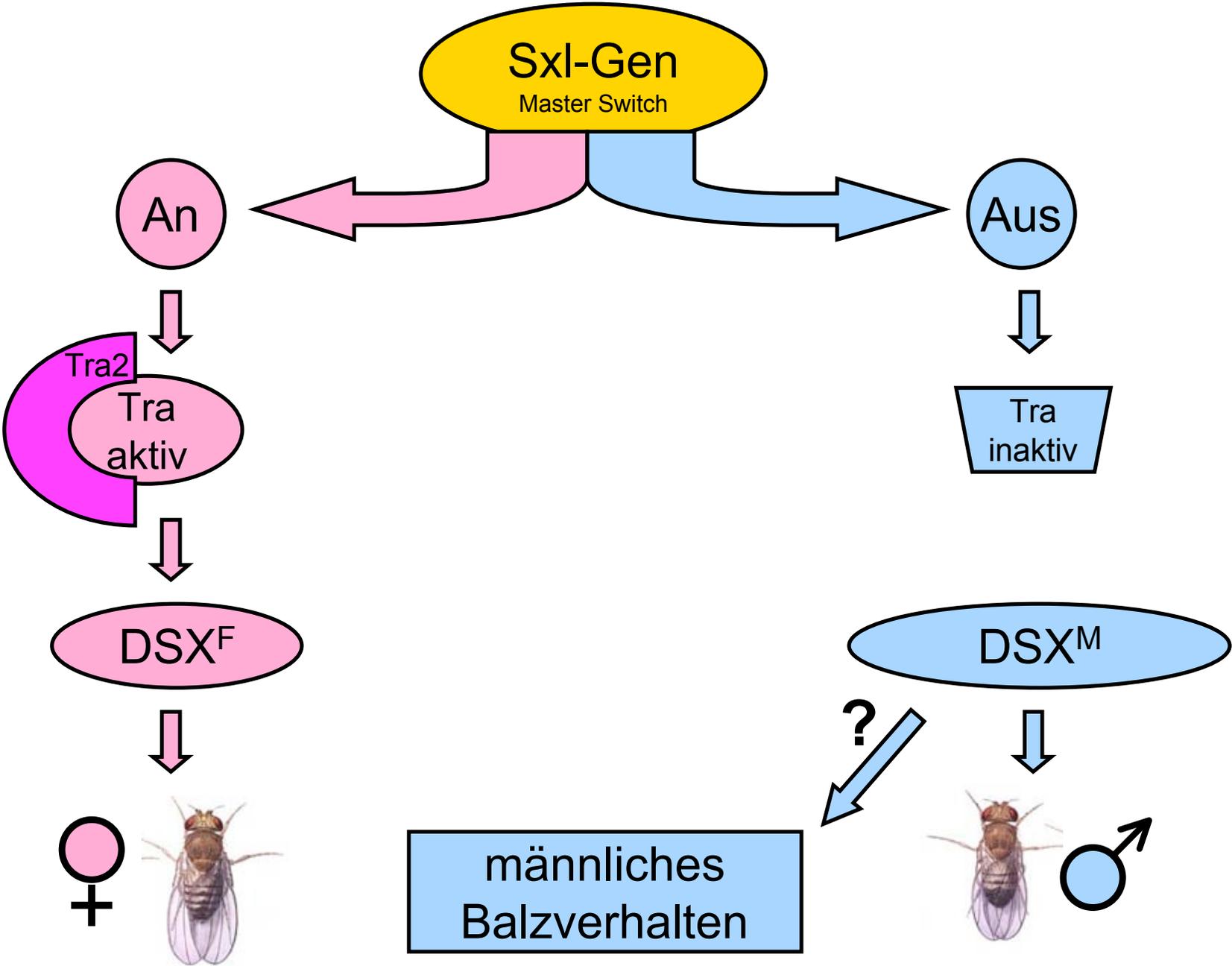
# Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



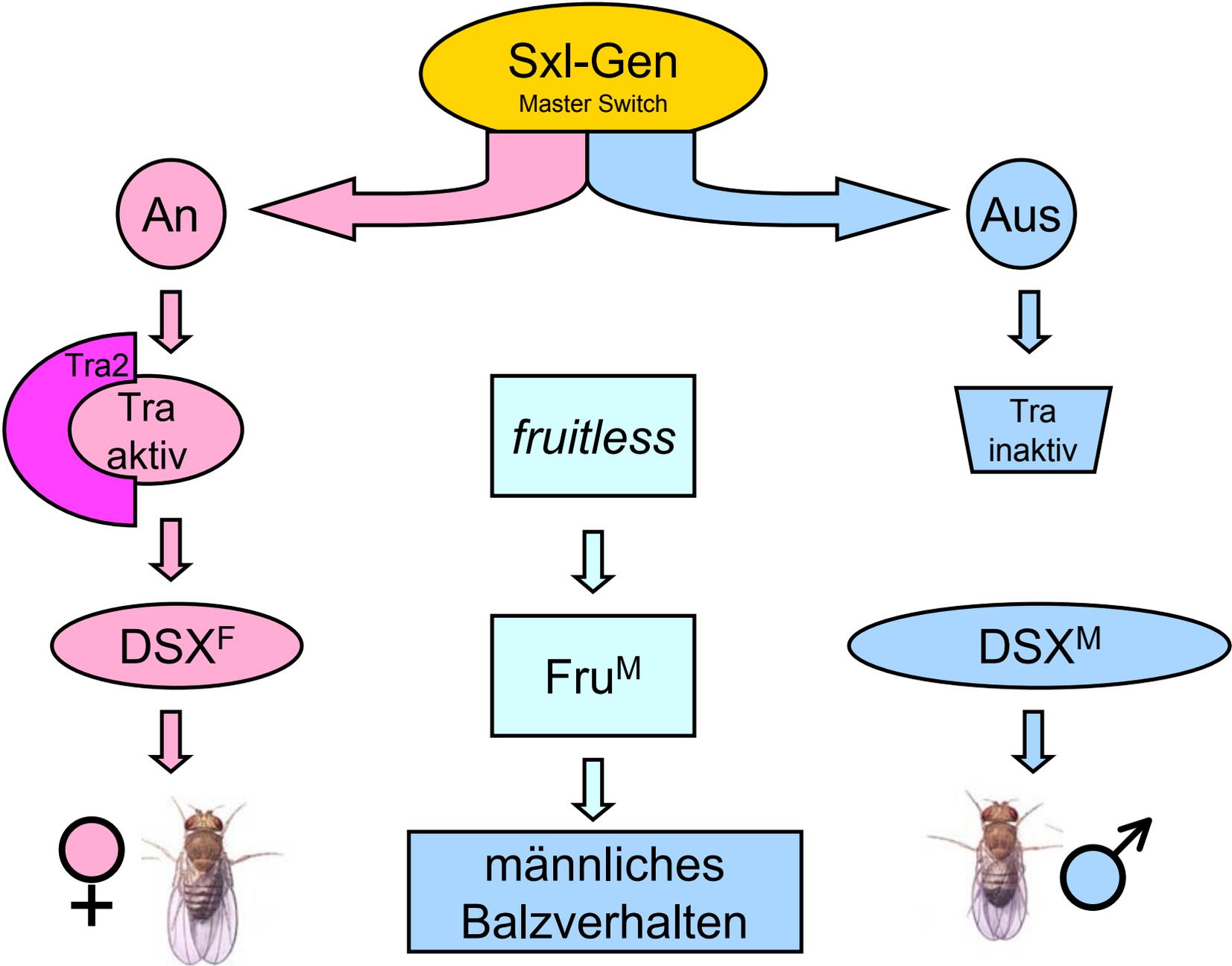
# Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



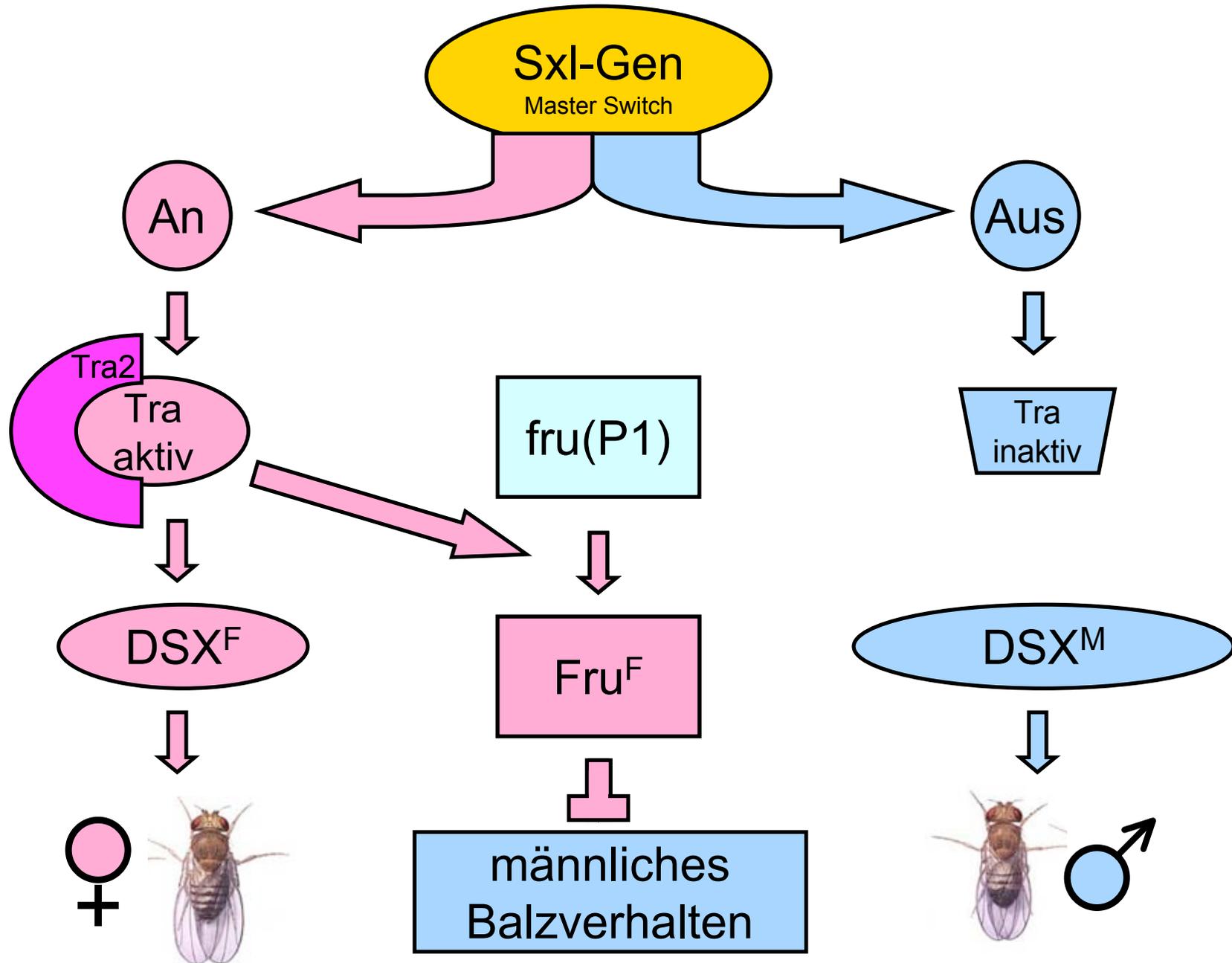
# Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



# Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten



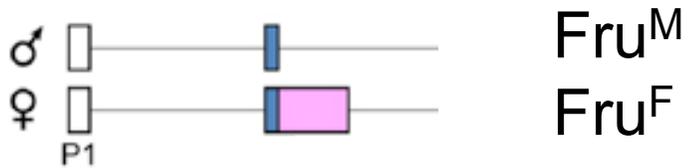
# Somatisches Geschlecht und sexuelles Verhalten

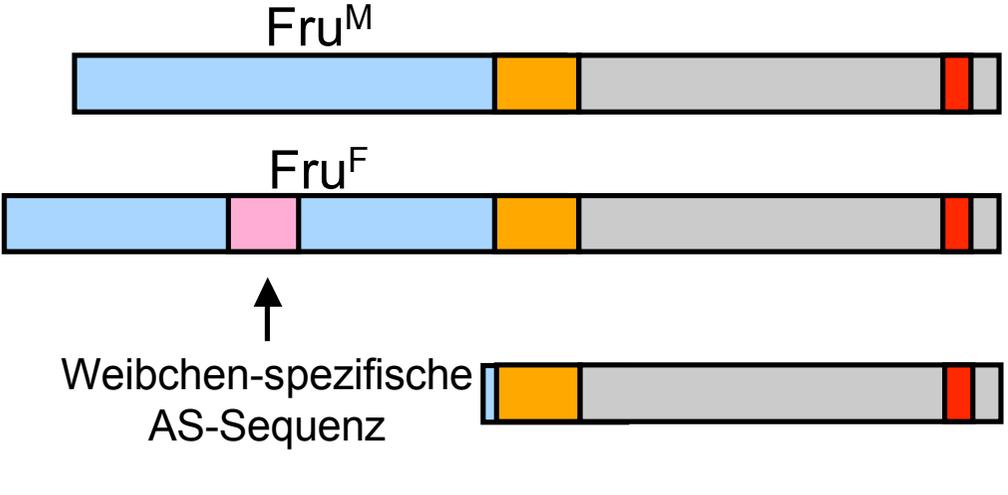
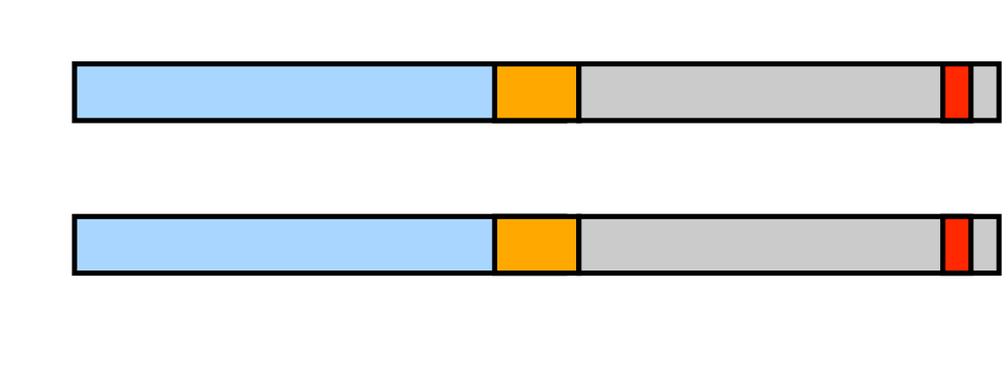
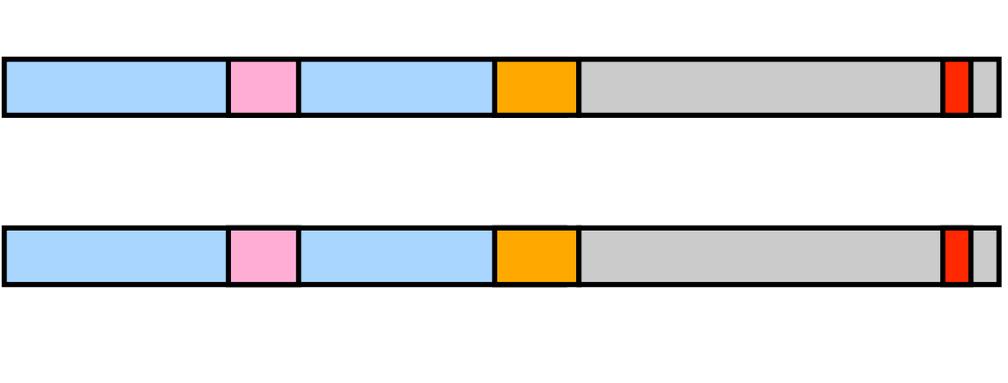


# Genomische Organisation des *fruitless*-Gen

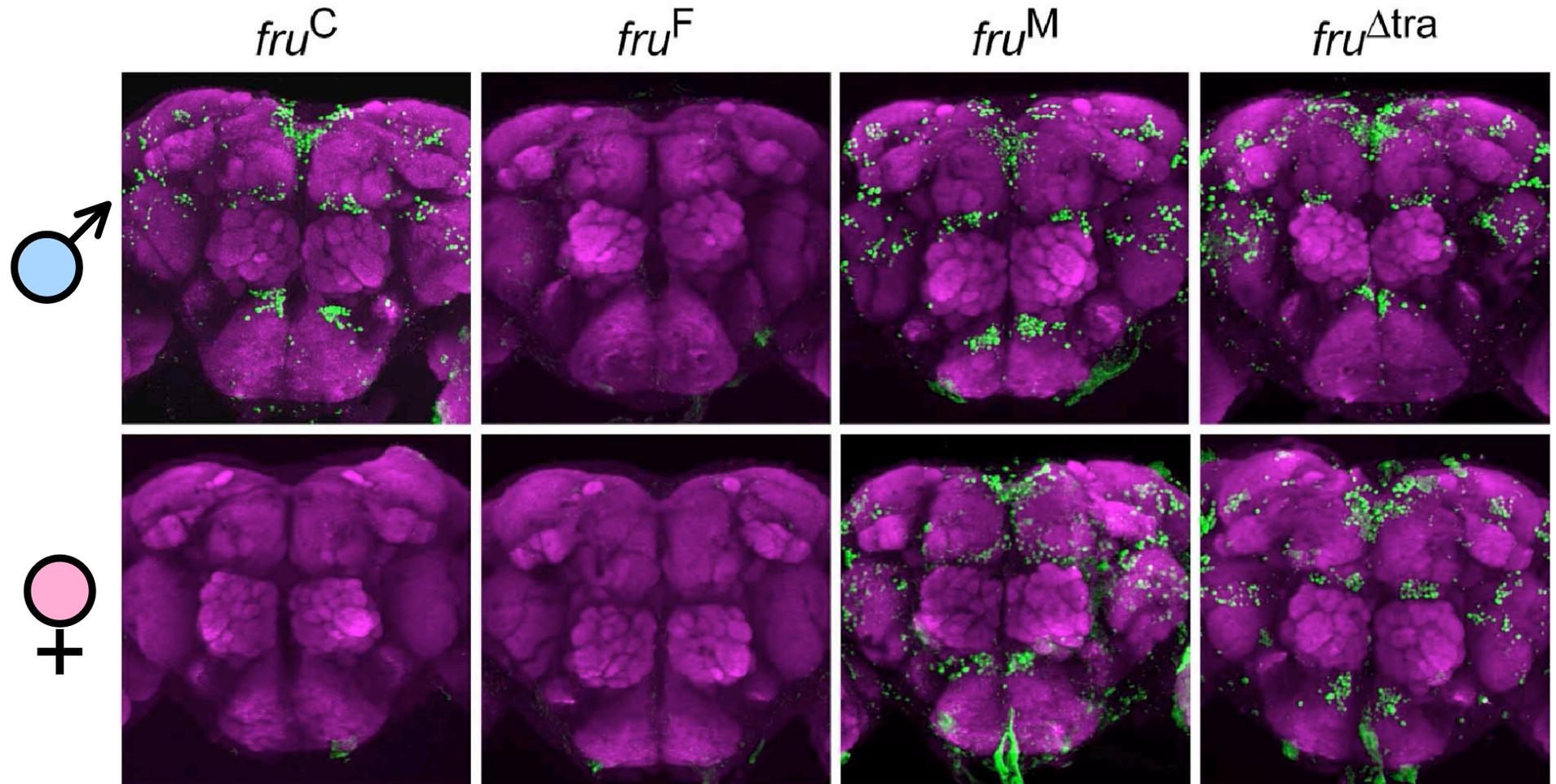


## mRNA-Spleißvarianten



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

# anti-Fru<sup>M</sup> (grün) positive Neurone in Gehirnen von *fruitless* Mutanten



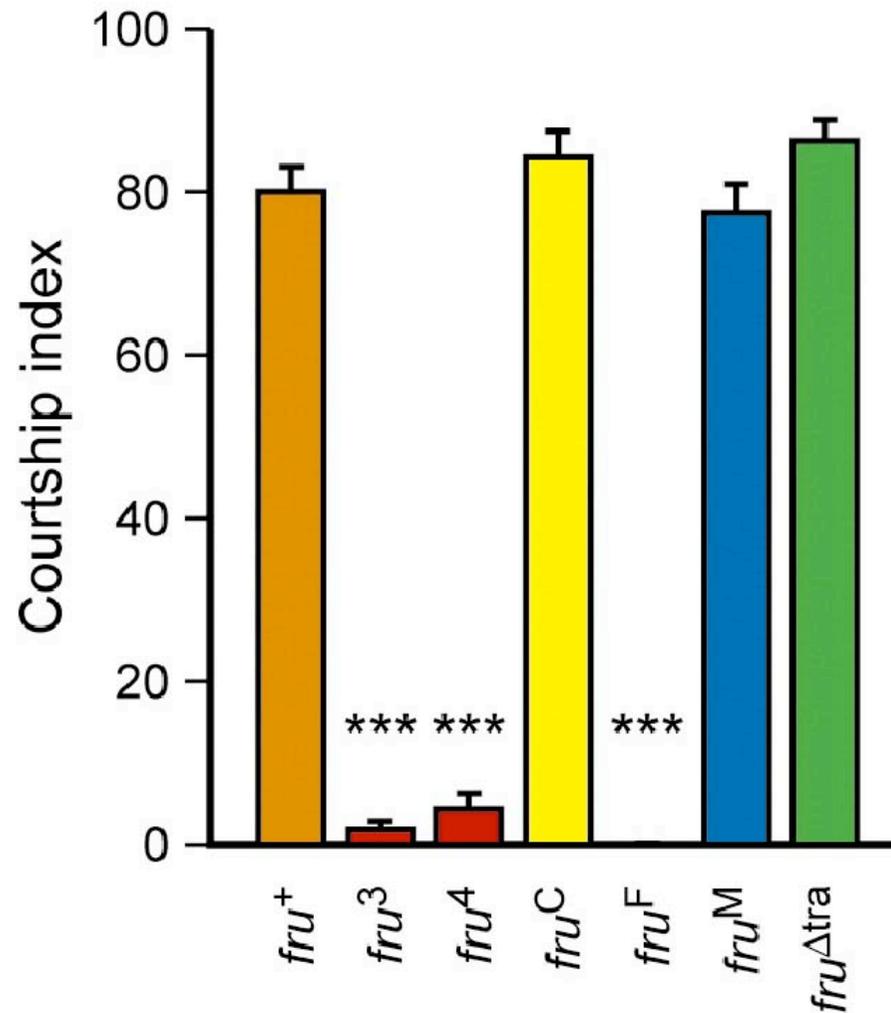
Spleißen normal

kann kein Fru<sup>M</sup>  
bilden

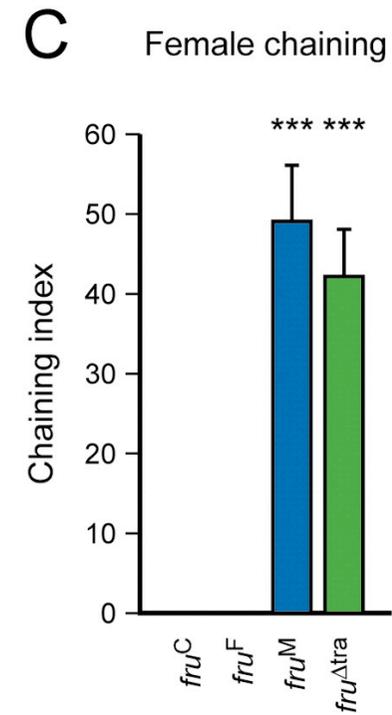
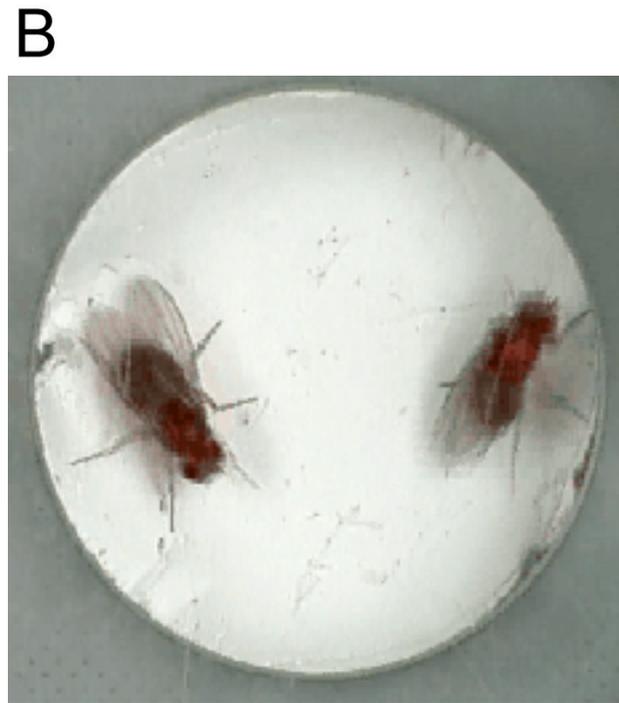
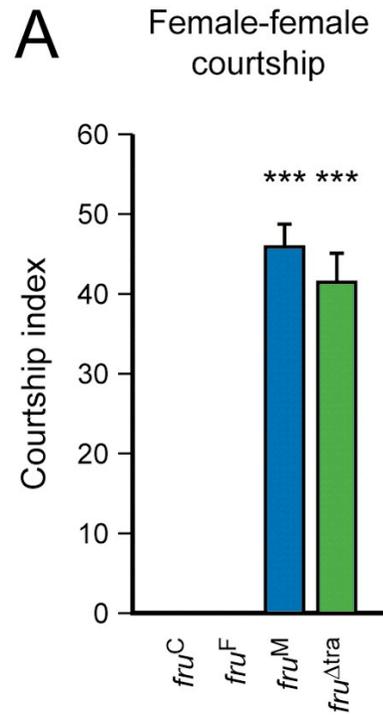
kann nur Fru<sup>M</sup>  
bilden

kann nur Fru<sup>M</sup>  
bilden

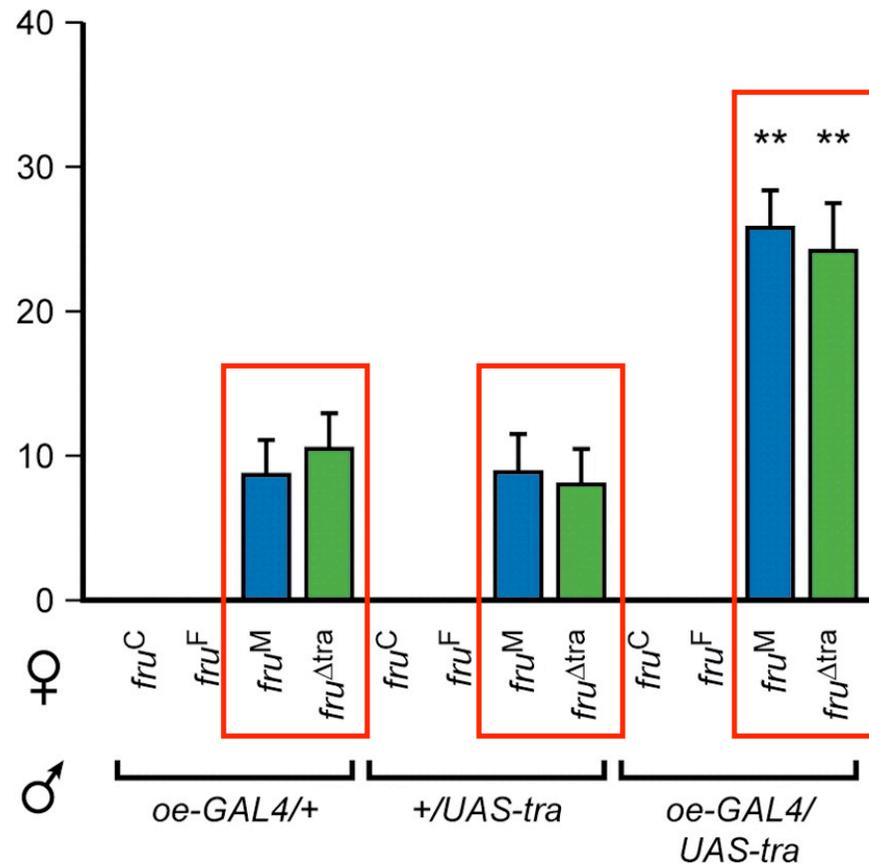
**Die männliche Spleißvariante ist für das Balzverhalten notwendig:  
Männchen ohne Fru<sup>M</sup> balzen nicht**



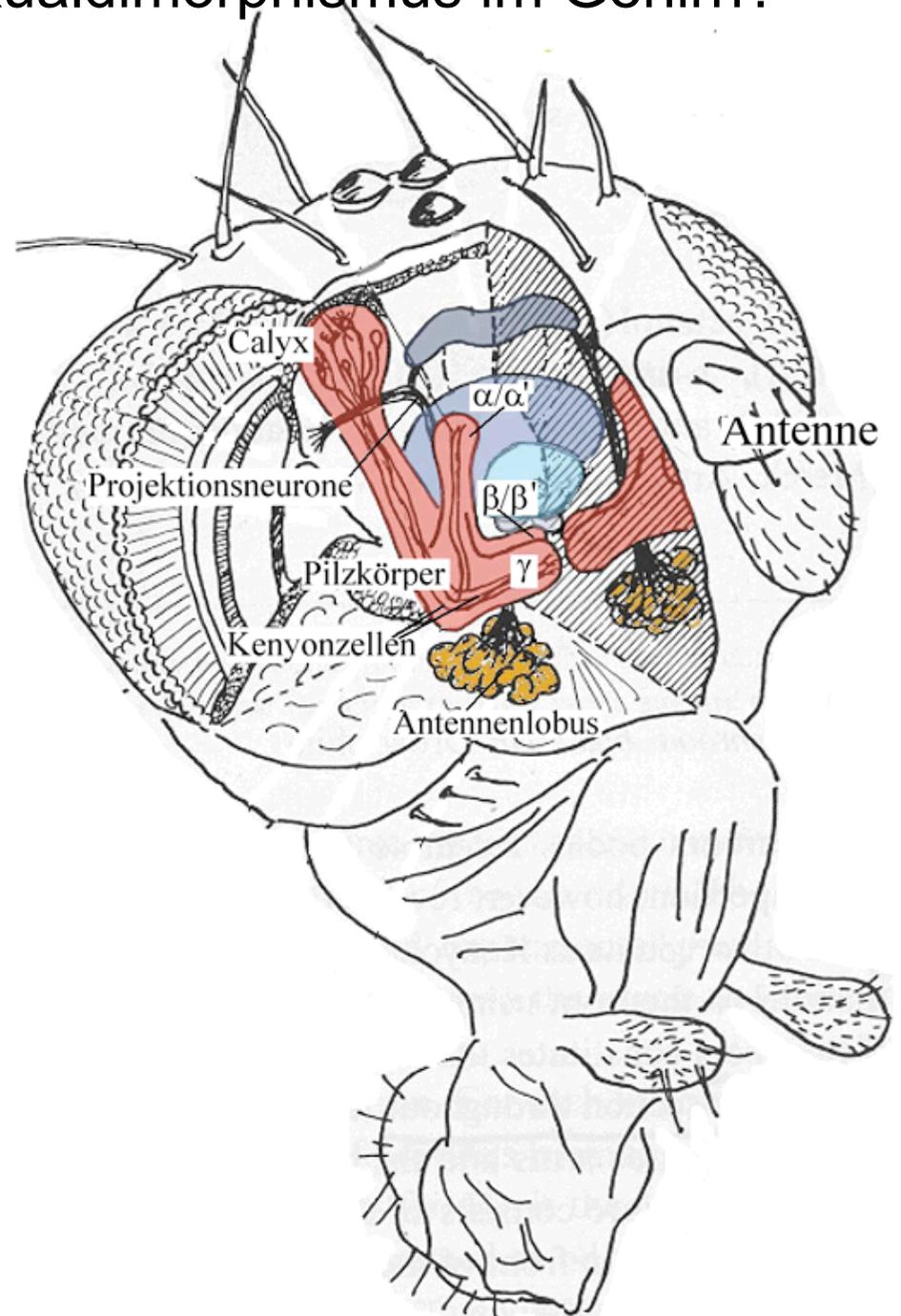
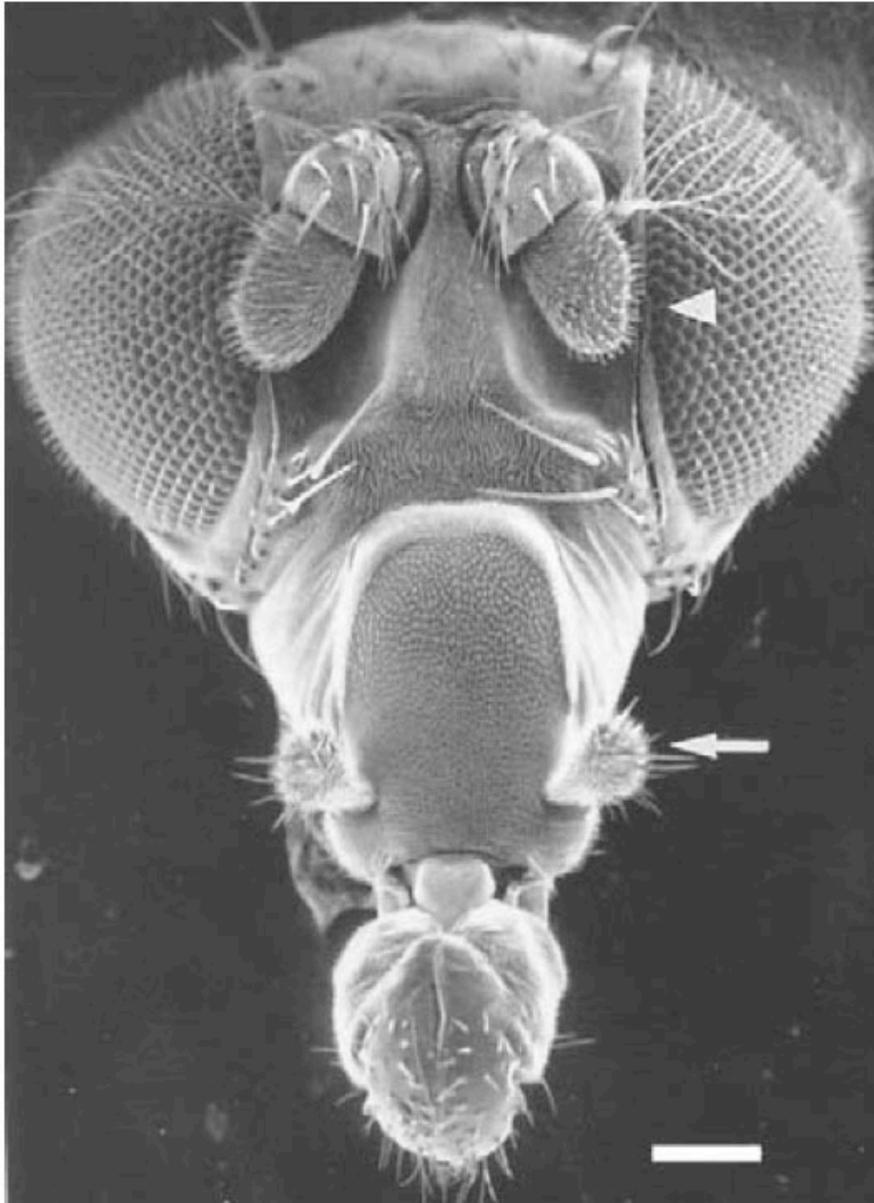
# Die männliche Spleißvariante ist hinreichend für männliches Balzverhalten



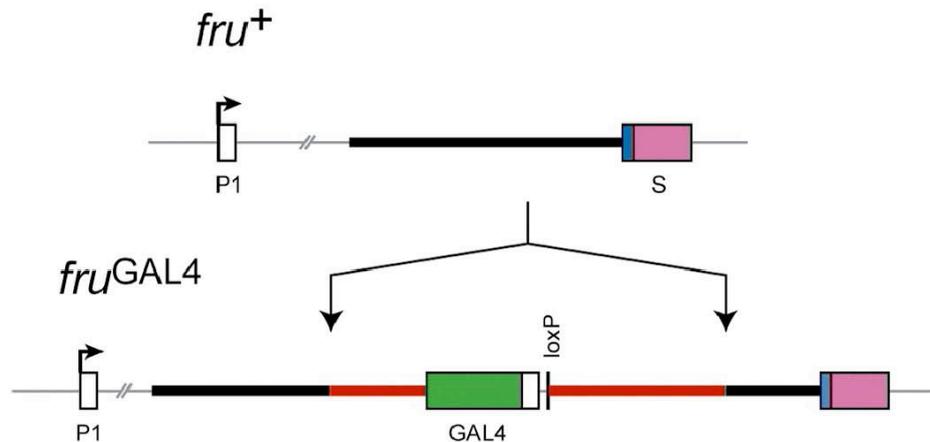
**Umkehrung der Geschlechterrollen:**  
**Weibchen mit Fru<sup>M</sup> balzen Männchen an,**  
**die weibliche Pheromone produzieren**



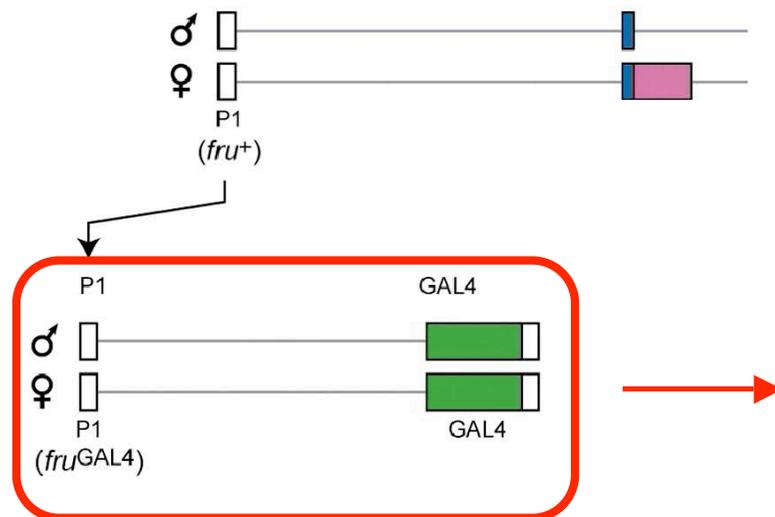
# Gibt es einen strukturellen Sexualdimorphismus im Gehirn?



# Die Produktion eines P1-Gal4 Stammes durch homologe Rekombination

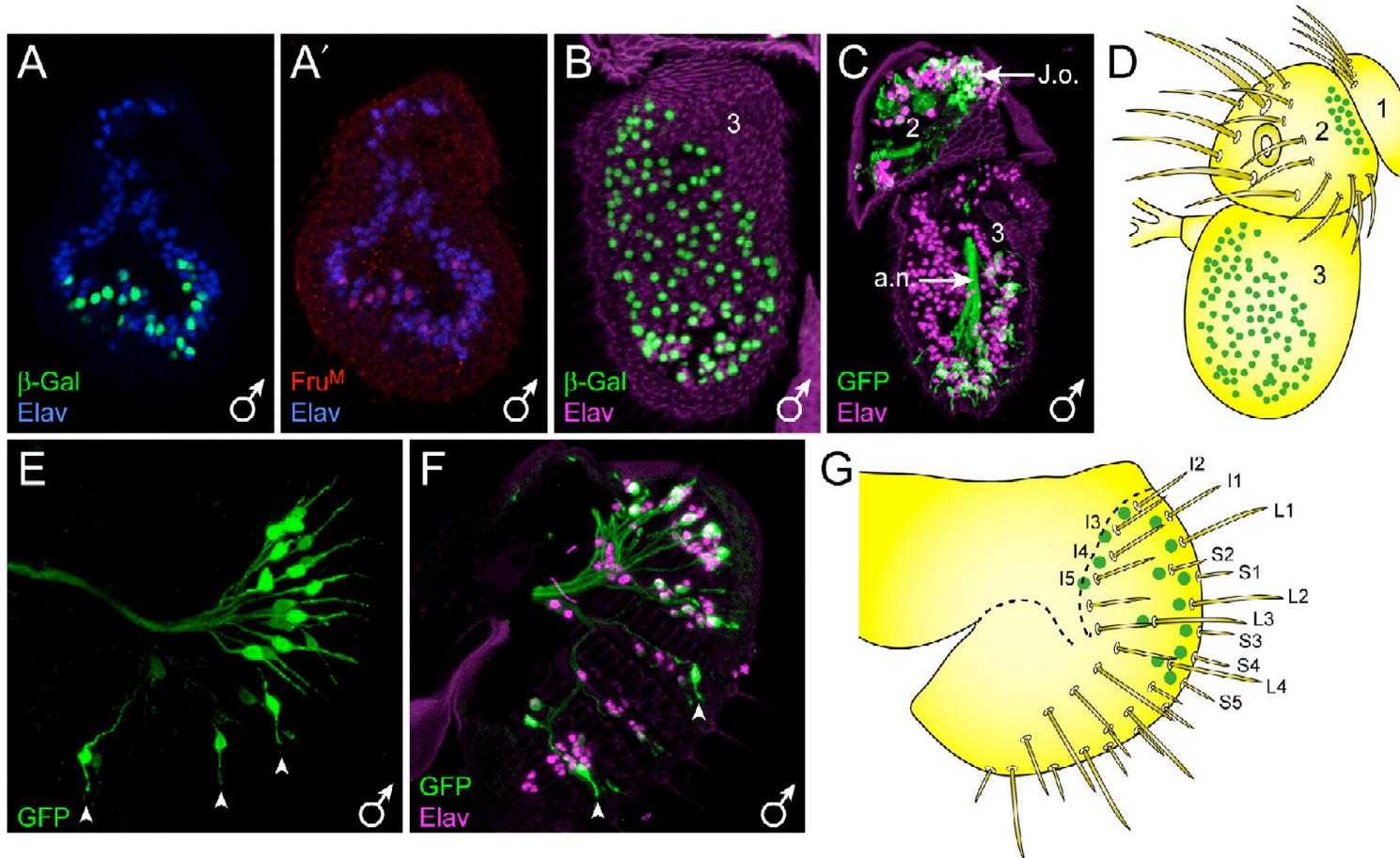


## Ergebnis auf mRNA-Ebene

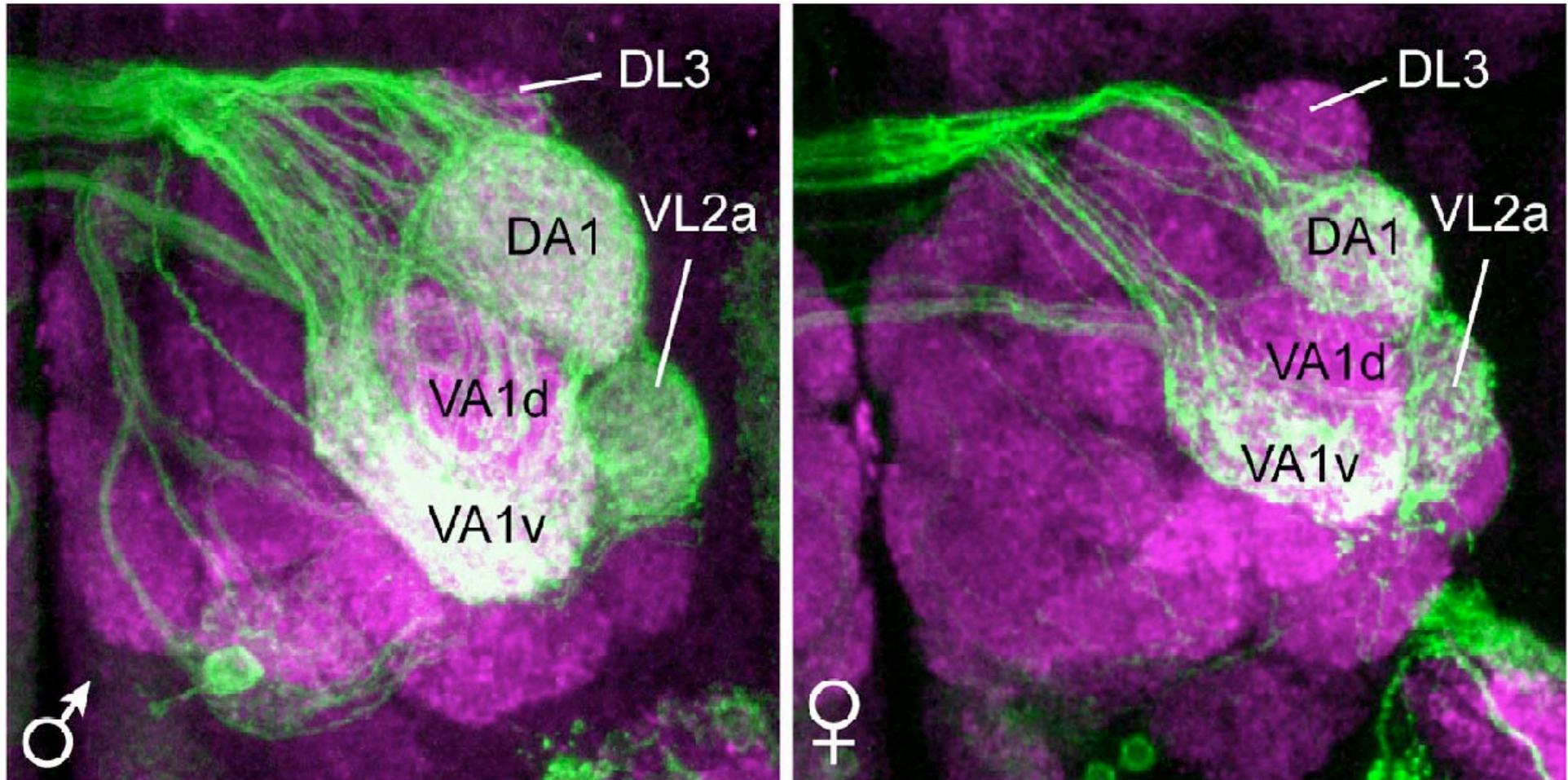


Mit diesem Werkzeug können alle Zellen mit aktivem P1-Promotor gentechnisch adressiert werden.

# P1-aktive Neurone im PNS



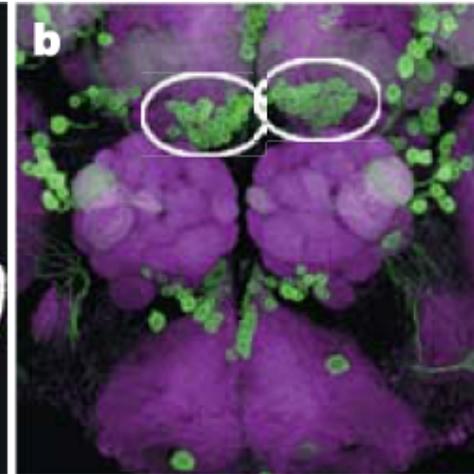
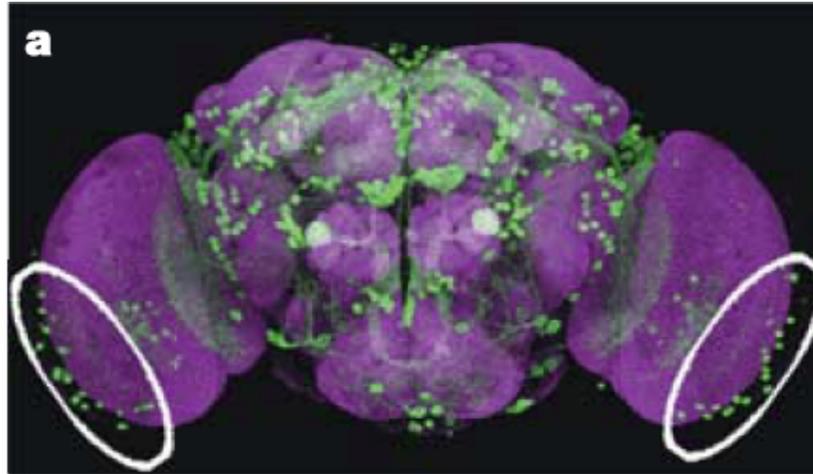
**P1-Gal4 positive olfaktorische Rezeptoren projizieren in geschlechtsdimorphe antennale Glomeruli spezifisch für Pheromone**



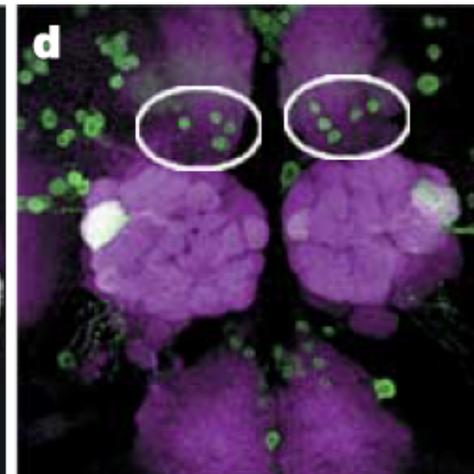
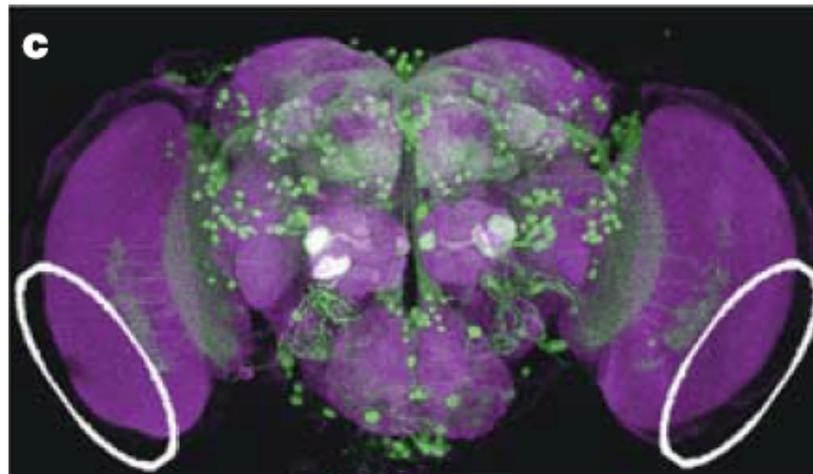
# Sexual dimorphism in the *Drosophila* brain

revealed by the NP21 Gal4-insertion in the fruitless gene

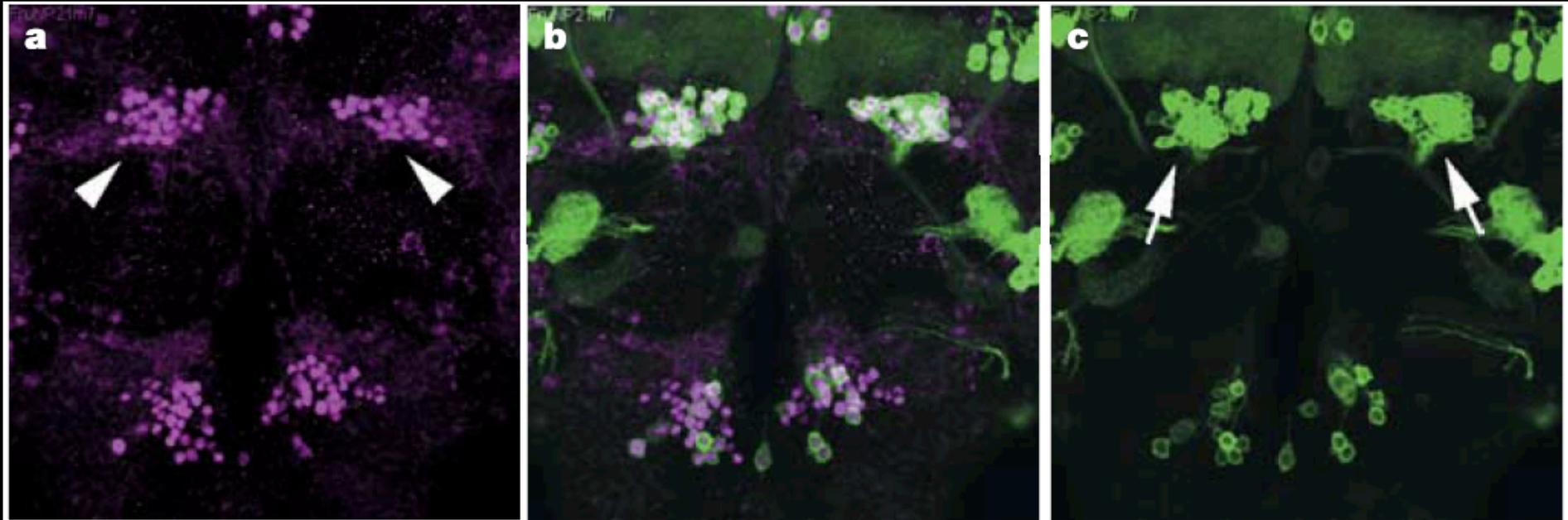
male



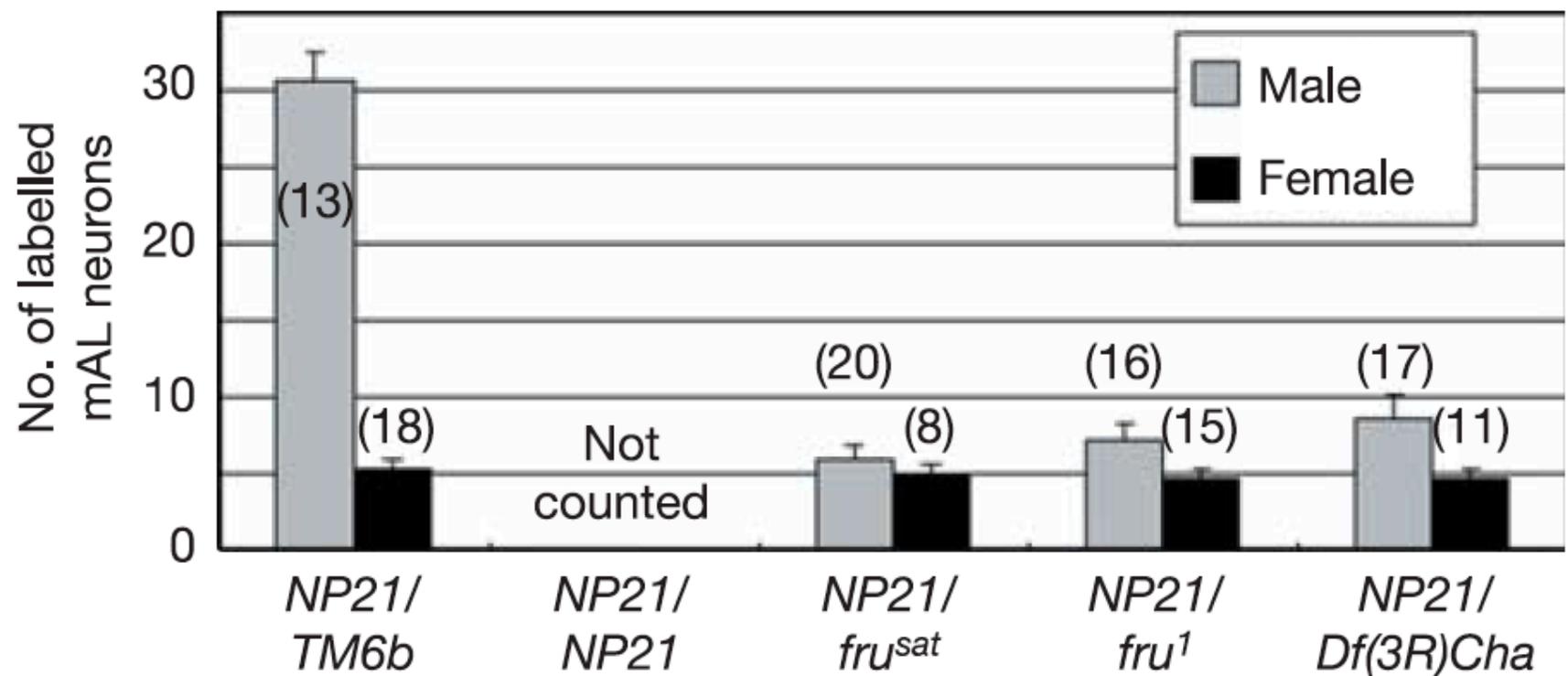
female



# mAL neurons in NP21 males are fruitless positive

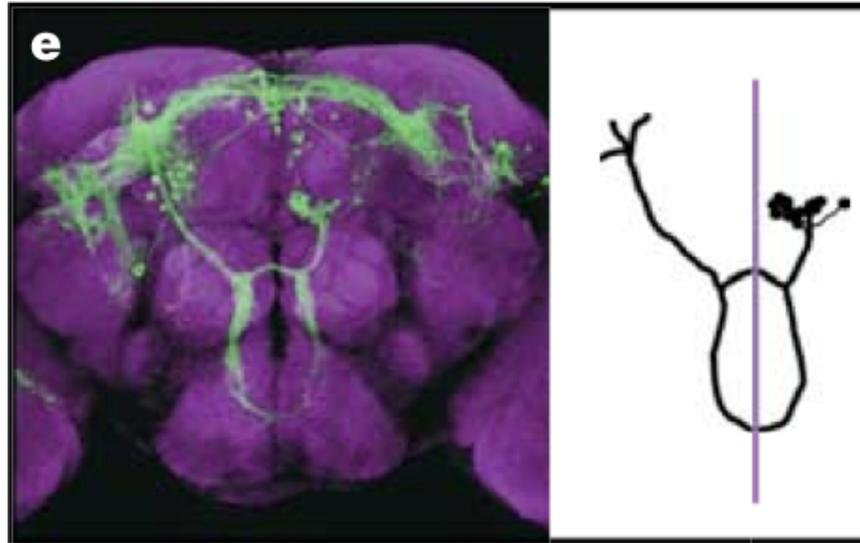


# Fruitless expression is essential for male brain phenotype to develop

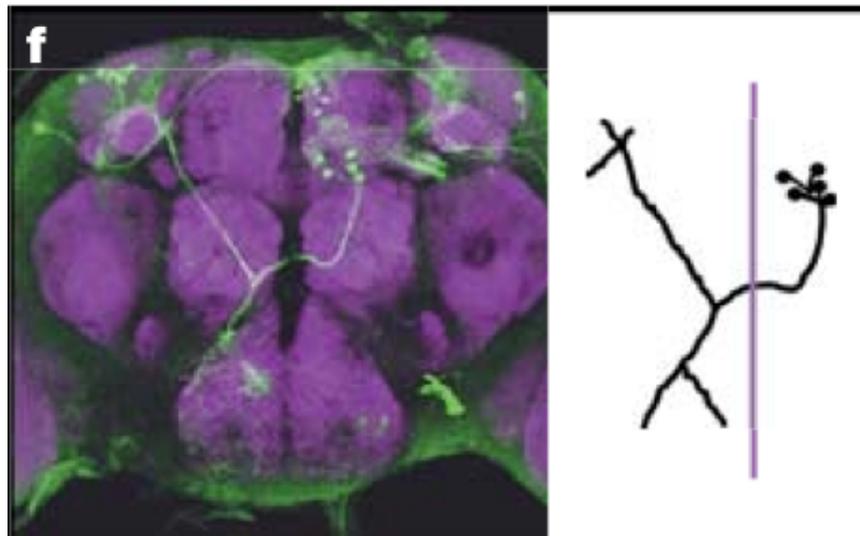


# Sexualdimorphismus im Drosophila Gehirn

male



female

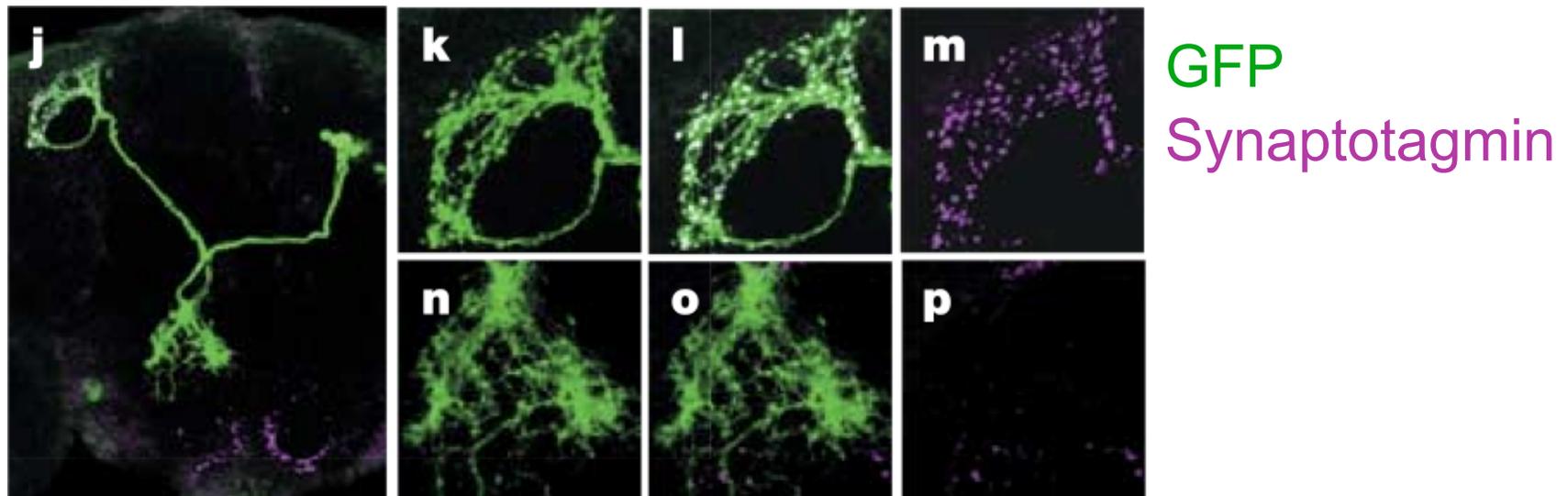


Verwendete Methode:  
Genetische Mosaik  
mit einem reprimierbaren  
Zellmarker (MARCM).

Grün: NP21-Gal4  
getriebene  
GFP Expression in  
Zellen, die nach  
Hitzeschock den Gal4-  
Repressor Gal80  
verloren haben.

# Sexualdimorphism im Drosophilagehirn

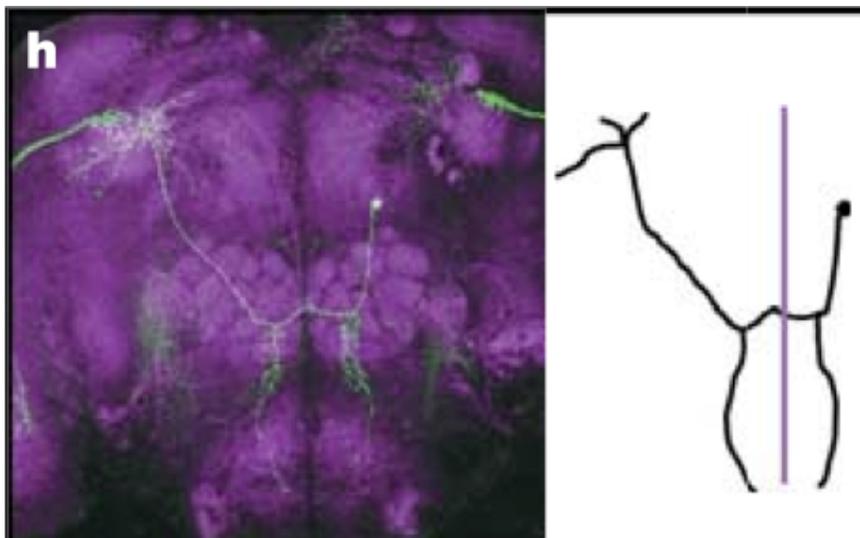
Dendritische und axonale Bereiche  
der sexspezifischen Neurone im Weibchen



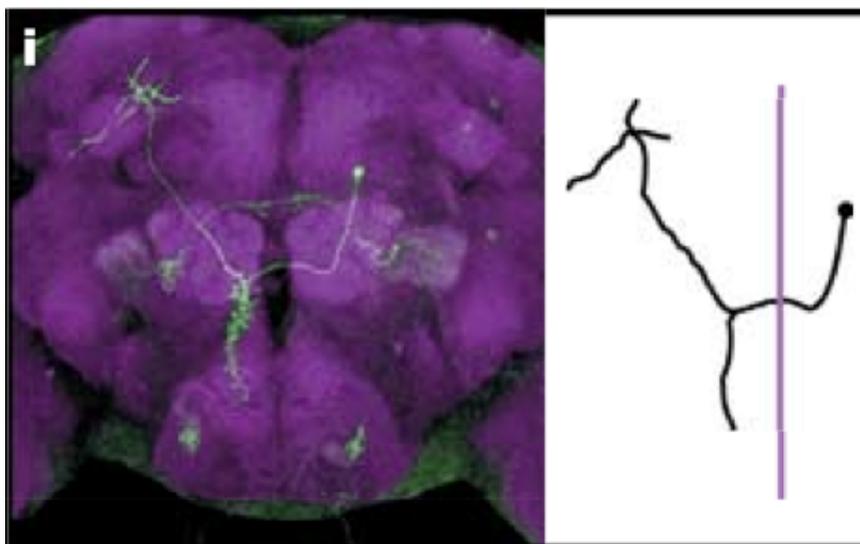
Synaptotagmin markiert Axone (präsynaptisches Protein)

# Two types of male specific neurons

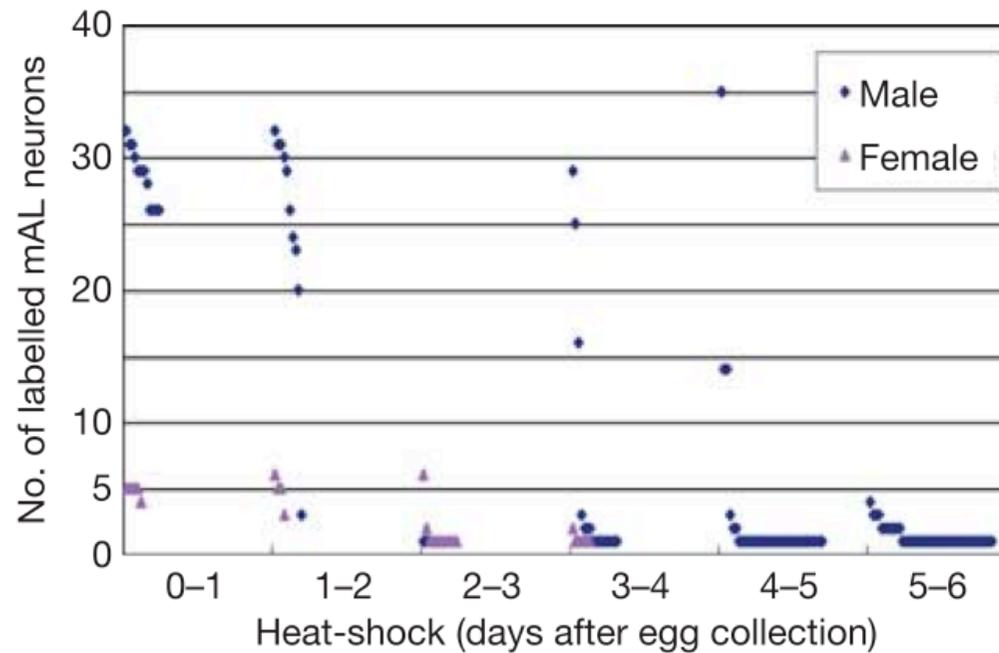
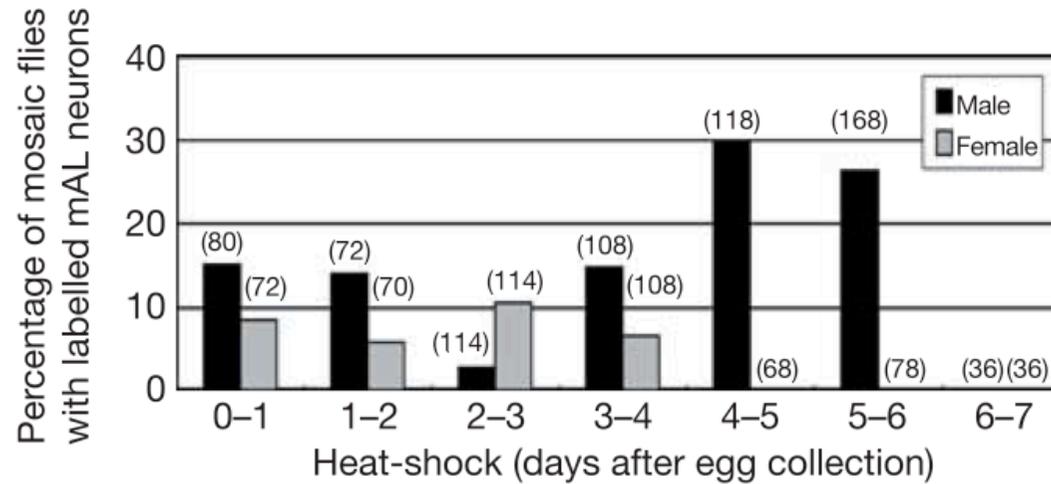
bilateral  
input



only  
contralateral  
input

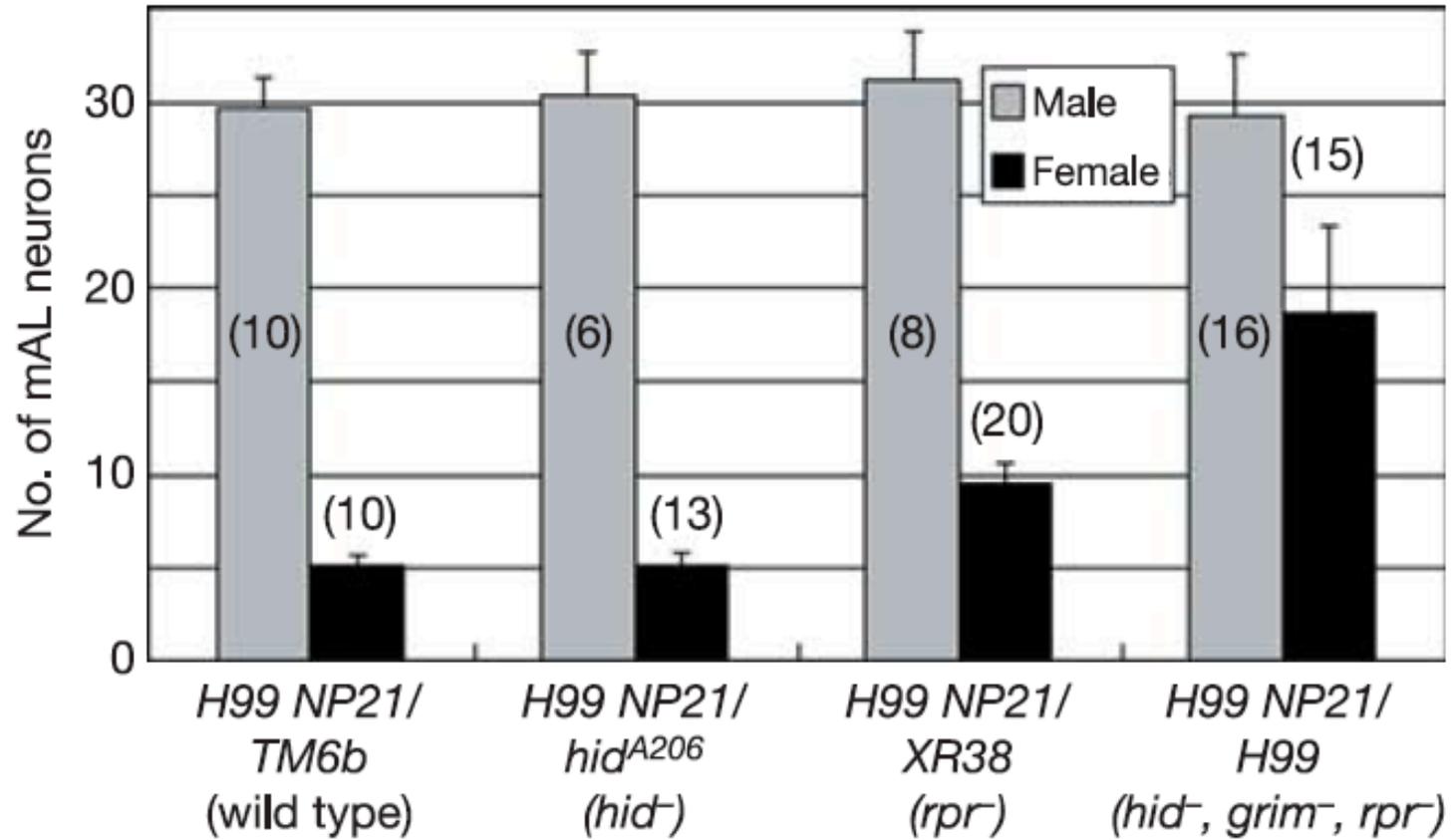


# Late heat shocks produce only male-specific clones



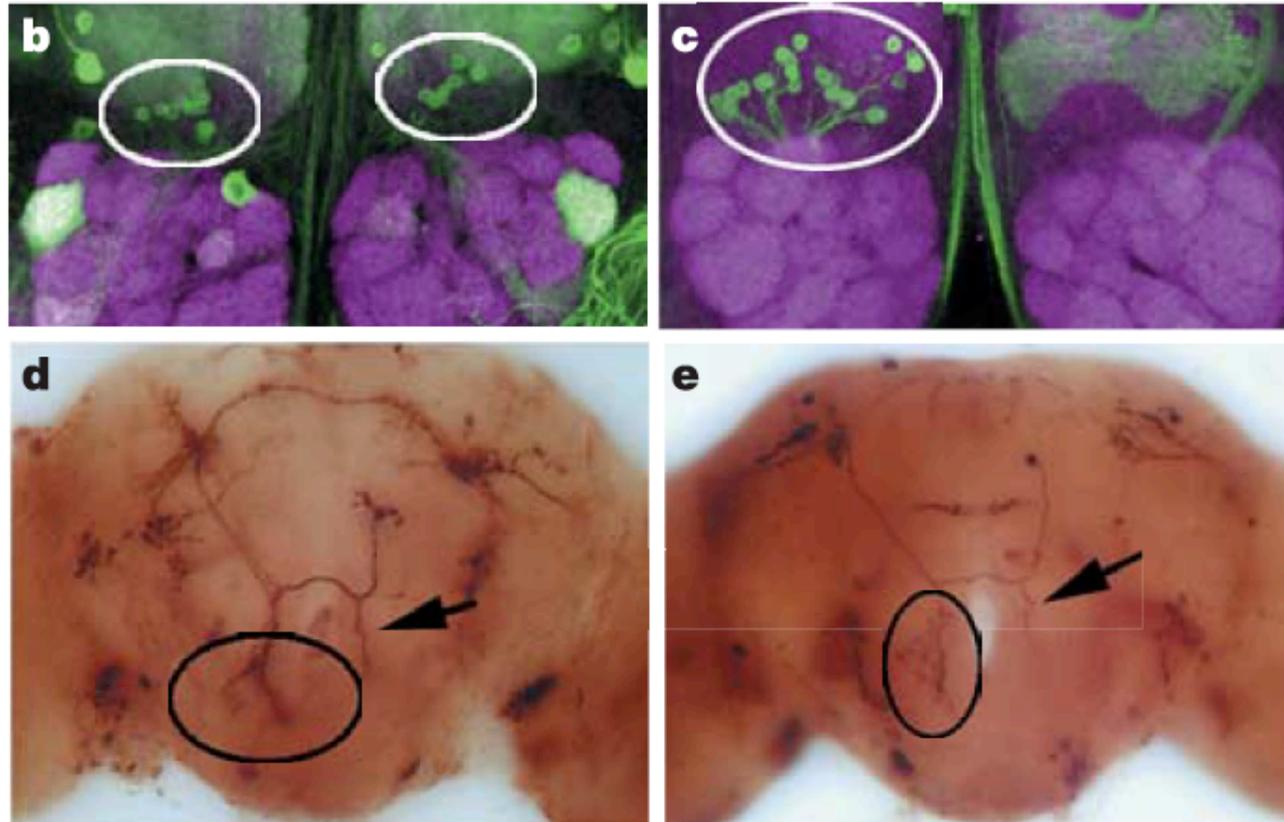


# Effect of cell death on mAL sexual dimorphism



# Effect of cell death on mAL sexual dimorphism

Here: Shape of surviving mAL neurons  
in late induced homozygous H99 clones in females



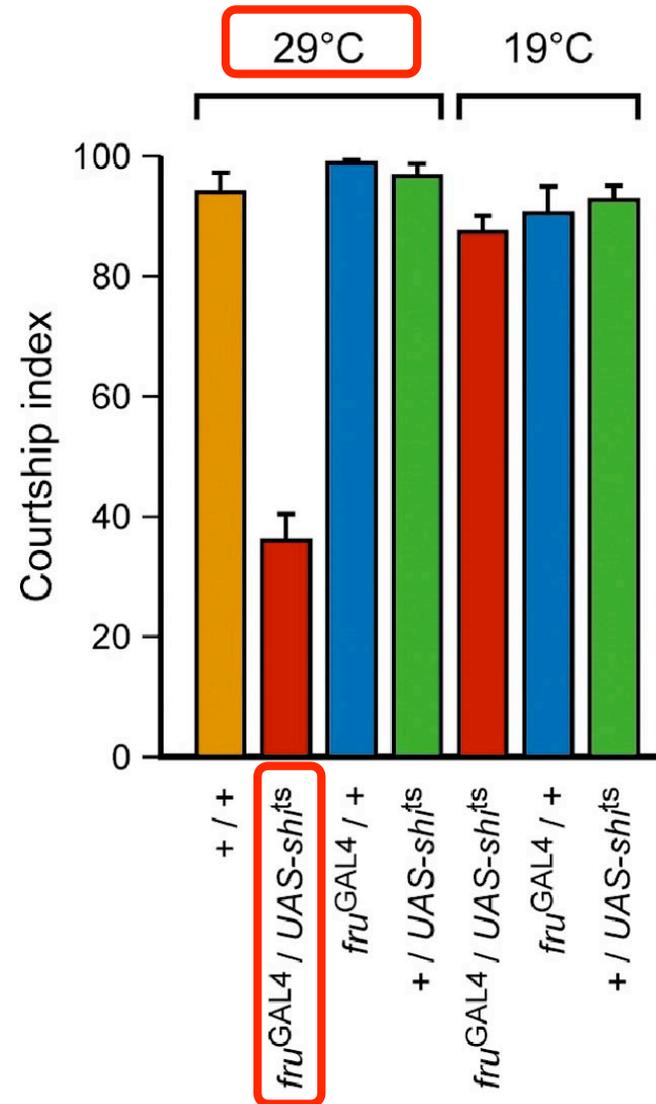
Der Sexualdimorphismus im Gehirn von  
Drosophila entsteht durch den Zelltod der  
überzähligen Neurone beim Weibchen

(bei der untersuchten Zellpopulation)

Fru<sup>M</sup> verhindert diesen Zelltod

**Wirkt Fru<sup>M</sup> nur in der Entwicklung  
oder auch im adulten Gehirn?**

## Der reversible Block synaptischer Transmission in P1-aktiven Neuronen inhibiert das männliche Balzverhalten



# Fragen, die am Beispiel des Sexualverhaltens bearbeitet wurden

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

# Antworten für Drosophila

- Das sexspezifische Spleißprodukt Fru<sup>M</sup> ist **Master** des männlichen Sexualverhaltens.
- Die Expression ist neuronal und findet im PNS wie im ZNS in etwa 2% aller Neurone statt.
- Es gibt einen Sexualdimorphismus in einer kleinen Gruppe von Neuronen. In Weibchen werden überzählige Neurone aus dieser Gruppe in Abwesenheit von Fru<sup>M</sup> durch Zelltod eliminiert.
- Durch geeignete gentechnische Manipulationen an beiden Geschlechtern können somatische Weibchen somatische Männchen anbalzen (**Wirkung über Umkehrung der Pheromonproduktion und Wahrnehmung**).



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

## A. Homosexualität von Brüderpaaren

*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

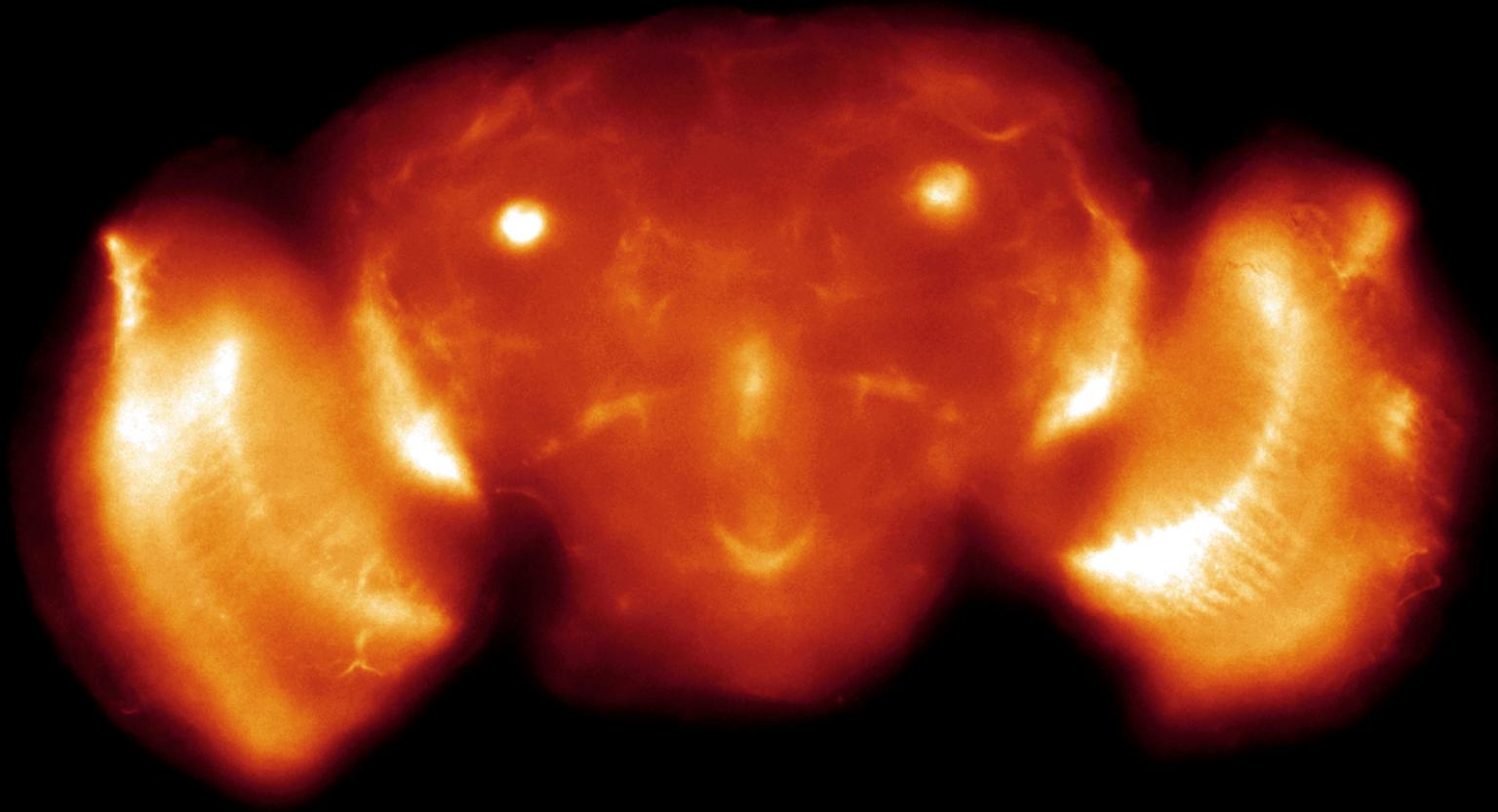
*Wenn eine, dann auch die andere*

Quelle:

American Journal Psychiatry (1993)1508, 272-277

eineiige Zwillinge	48%
zweieiige Zwillinge	16%
Adoptivschwestern	6%

Vielen Dank für ihre Aufmerksamkeit!



## **Wichtige Quellen für die heutige Vorlesung:**

### **Barry Dickson Labor (Wien)**

Stockinger P et al. (2005). **Cell** 121, 795-807

Demir E, Dickson BJ. (2005). **Cell** 121, 785-94

### **Bruce S. Baker Labor (Stanford)**

Manoli DS et al. (2005). **Nature** 436, 395-400

Manoli DS and Baker BS (2004). **Nature** 430, 564-569

### **Daisuke Yamamoto Labor (Tokio)**

Kimura et al. (2005). **Nature** 438, 299-233