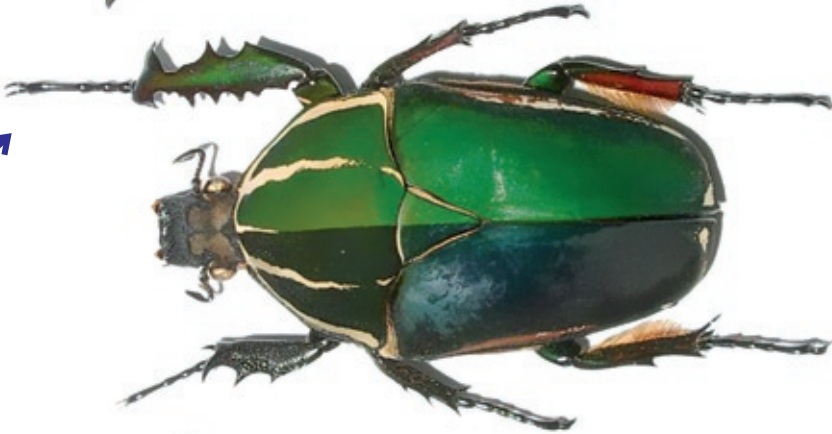


# SEX <sup>BEI</sup> <sup>DEN</sup> INSEKTEN

Von Jungfrauen, Liebesgesängen, chemischen  
Keuschheitsgürteln und Hermaphroditen



Eric Kubli und Daniel Bopp (Zürich)

*Gewidmet Pei Shen Chen und Rolf Nöthiger, den Zürcher Pionieren des  
Sex-Peptids beziehungsweise der Geschlechtsbestimmung*

*Umschlagbild:*

*Von unten nach oben: Weibchen, Hermaphrodit und Männchen des afrikanischen Rosenkäfers (Mecynorrhina torquata). Die linke Rumpfhälfte des Hermaphroditen ist weiblich, die rechte Hälfte männlich.*

# NEUJAHRSLATT

herausgegeben von der

## Naturforschenden Gesellschaft in Zürich

auf das Jahr 2011

213. Stück

2010

Veröffentlichung  
der  
Naturforschenden Gesellschaft in Zürich  
im Anschluss an den Jahrgang 155 der  
Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich

Redaktion: Conradin A. Burga, Frank Klötzli und Marlies Gloor

Ausgegeben am 31. Dezember 2010

ISSN 0379-1327

Die Redaktion der  
Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich  
dankt der Julius-Klaus-Stiftung recht herzlich  
für die Finanzierung der farbigen Abbildungen.

Druck und Verlag:  
KOPRINT AG, Untere Gründlistrasse 3, CH-6055 Alpnach Dorf

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Quellenregister gestattet

# **Sex bei den Insekten**

**Von Jungfrauen, Liebesgesängen, chemischen Keuschheitsgürteln und Hermaphroditen**

**Eric Kubli und Daniel Bopp (Zürich)**



## ZUSAMMENFASSUNG

Die Evolution hat eine überwältigende Fülle an Formen hervorgebracht. Diese Vielfalt findet sich auf allen Ebenen: vom Molekül bis zum Verhalten. Eine zentrale Stellung im Leben jedes Organismus nimmt die Reproduktion ein. Auch hier findet sich ein grosser Reichtum an Mechanismen, die zu einer erfolgreichen Fortpflanzung führen. Trotzdem gibt es bei unterschiedlichsten Lebewesen auch Gemeinsamkeiten. Exemplarisch werden mit der «Geschlechtsbestimmung bei Insekten» und dem «Sex-Peptid von *Drosophila melanogaster*» zwei Gebiete aus der Reproduktionsbiologie von Insekten vorgestellt.

Von fundamentaler Bedeutung für die geschlechtliche Reproduktion ist die Bildung von Spermien produzierenden Männchen und Eier legenden Weibchen. Dennoch finden wir bei Insekten eine erstaunliche Vielfalt von verschiedenen

Mechanismen, welche die geschlechtliche Identität des Individuums festlegen. Neuere Studien an verschiedenen Insektenarten deuten auf ein allgemeingültiges Prinzip der genetischen Kontrolle dieser wichtigen Entscheidung hin, und dies trotz Unterschieden auf den Stufen der geschlechtsbestimmenden Signale.

Das Sex-Peptid wird vom *Drosophila*-Männchen bei der Begattung mit den Spermien in das Weibchen übertragen. Es löst dort eine Vielfalt von physiologischen Reaktionen aus: unter anderem gesteigerte Eilegerate, reduzierte Kopulationsbereitschaft, Änderungen in der Futteraufnahme und im Schlafverhalten. Diese Reaktionen sind biologisch sinnvoll, aber nicht gleich vorteilhaft für die beiden Geschlechter. Ein evolutives Seilziehen sorgt daher für den «Kampf der Geschlechter».

**Schlagwörter:** Begattungsreaktionen – *Drosophila* – Evolution – Geschlechtsbestimmung – Oviposition – Rezeptivität – Sexpeptid – Sexualverhalten

## SUMMARY

Evolution has produced an amazing variety of forms. Diversity is found at different levels: up from the molecule to behavior. Reproduction is a central activity of life. Successful reproduction is based on an immense variety of mechanisms. Nevertheless, common principles can be detected in different organisms. Taking «Sex-Determination» and «The Sex-Peptide of *Drosophila melanogaster*» as examples, we discuss two topics of insect reproduction.

Formation of sperm producing males and egg laying females is fundamental to sexual reproduction. Nevertheless, we find an amazing variety of mechanisms in insects determining the sexual fate of the individual. Recent studies in dif-

ferent species suggest a general principle of the genetic control of this fundamental decision, although there exist a great variety of sex-determining signals. Sex-peptide is synthesized in the male genital tract and transferred into the female during mating. In the female it elicits about a dozen so-called postmating responses: e.g. drastic increase of oviposition, reduced receptivity, increased food intake and inhibition of siesta sleep. All these responses elicited by the peptide make biological sense. But they are not necessarily to the same advantage for both sexes. An evolutionary «tug of war» leads to sexual competition between males and females.

**Key words:**     **Drosophila – Evolution – Oviposition – Postmating responses – Receptivity – Sex Determination – Sexpeptide – Sexual behavior**



# INHALT

<b>ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY</b>	<b>5</b>
<b>VORWORT: THE GREATEST SHOW ON EARTH</b>	<b>9</b>
<b>1 GESCHLECHTSBESTIMMUNG BEI INSEKTEN (D. Bopp)</b>	<b>11</b>
1.1 Vive la différence!	11
1.2 Männchen und Weibchen sind verschieden. Auch bei Insekten!	13
1.3 Wie entstehen Weiblein und Männlein?	16
1.4 Gibt es ein allgemeingültiges Prinzip der Geschlechtsbestimmung?	22
1.5 <i>Drosophila</i> : ein Paradigma für die genetische Kontrolle der Geschlechtsbestimmung	24
1.6 Wie machen es die anderen Insekten?	30
1.6.1 Die Stubenfliege, <i>Musca domestica</i>	30
1.6.2 Der Seidenspinner, <i>Bombyx mori</i>	33
1.6.3 Der Reismehlkäfer, <i>Tribolium castaneum</i>	34
1.6.4 Die Honigbiene, <i>Apis mellifera</i>	34
1.6.5 Die Erzwespe, <i>Nasonia vitripennis</i>	35
1.7 Überlegungen zur Evolution geschlechtsbestimmender Mechanismen. Das Sanduhrmodell	37
<b>2 DAS SEX-PEPTID VON DROSOPHILA MELANOGASTER (E. Kubli)</b>	<b>39</b>
2.1 Das Begattungsritual und die Begattungsreaktionen	39
2.2 Der Lebenslauf einer Tauftriebe	42
2.3 Das Sex-Peptid	43
2.3.1 Die Entdeckung des Sex-Peptids	45
2.3.2 Struktur-Funktionsbeziehungen Teil 1	48
2.4 Der Spermieneffekt	50
2.4.1 Das N-terminale Ende des Sex-Peptids bindet irreversibel an Spermien	52
2.4.2 An Spermien gebundenes Sex-Peptid wird an der N-terminalen Trypsin-Stelle gespalten	53
2.5 Sex-Peptid und das Immunsystem	57
2.6 Sex-Peptid und Nahrungsaufnahme	59
2.7 Sex-Peptid und Siesta	61

2.8	Sex-Peptid und Tod	63
2.9	Rezeptoren für das Sex-Peptid, Signalkaskaden und die Evolution des Sex-Peptid-Rezeptors SPR	65
2.9.1	Welche Zielorgane?	65
2.9.2	Wieviele Rezeptoren? Struktur-Funktionsbeziehungen Teil 2	67
2.9.3	Signalkaskaden	69
2.10	Das Sex-Peptid-Netzwerk	72
2.11	Wem nützt's? Das evolutionäre Seilziehen der Geschlechter	74
<b>3</b>	<b>PRAKTISCHE ANWENDUNGEN? SCHLUSSBETRACHTUNGEN</b>	<b>76</b>
	<b>WEITERFÜHRENDE LITERATUR</b>	<b>79</b>

## VORWORT: «THE GREATEST SHOW ON EARTH»

So heisst der Titel des zeitgemäss im Darwin-Jahr 2009 erschienenen Buchs des Evolutions- und Weltanschauungsbiologen Richard Dawkins (DAWKINS, 2009). Eindrucksvoll demonstriert dieses mit Bildmaterial schön ausgestattete Werk, dass die Evolution im Laufe der Jahrmillionen nicht nur eine überwältigende Vielzahl von Arten hervorgebracht hat, sondern auch Formen von grosser Schönheit und Komplexität. Den Naturkundigen und den Züchtern war diese Vielfalt seit Jahrhunderten bekannt. Stellvertretend zeigen wir auf dem Titelbild dieses Heftes (Bildmitte) einen ganz besonderen Käfer: halb Weibchen, halb Männchen, einen Hermaphroditen. In diesem Exemplar des afrikanischen Rosenkäfers (*Mecynorrhina torquata*) zeigt sich der bei Käfern häufig ausgeprägte Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern in ein und demselben Tier. Wie kommt so etwas zustande? Noch grundlegender: Wie entstehen die beiden Geschlechter? Und was für einen Einfluss hat die geschlechtliche Entwicklung auf die für die Reproduktion wichtigen Interaktionen zwischen den Geschlechtern?

Dies sind die beiden zentralen Themen dieses Neujahrsblatts. In einem ersten Teil geht es um die «Geschlechtsbestimmung bei Insekten» (D. Bopp). Die im Titelbild so auffälligen Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen zeigen sich bei Organismen der gleichen Art aber nicht nur in der Morphologie. Die verschiedenen reproduktiven Aufgaben der beiden Geschlechter manifestieren sich auf allen Ebenen: vom Molekül bis zum Verhalten. Dies ist das Thema des

zweiten Teils. Beim «Sex-Peptid von *Drosophila melanogaster*» (E. Kubli) geht es um die vielfältigen Auswirkungen eines vom Männchen übertragenen Moleküls im Weibchen.

Exemplarisch fragen wir uns: (1) Wie kommt es im Verlaufe der Entwicklung eines Tieres zur Ausbildung der beiden Geschlechter? (2) Welche reproduktive Arbeitsteilung findet zwischen Weibchen und Männchen statt und wie interagieren sie miteinander? Die Beschränkung auf Insekten und insbesondere auf *Drosophila* erlaubt es uns, mehr in die Tiefe zu gehen. In «Seitenblicken» schauen wir auch über den «Tellerrand» auf andere Organismen und weiten die Thematik aus.

Die Forschungen zur genetischen Geschlechtsbestimmung von Insekten wurden vor mehr als hundert Jahren im Labor von Thomas Hunt Morgan an der Columbia University begonnen, die Untersuchungen über das Sex-Peptid vor etwa 40 Jahren im Labor von Pei Shen Chen an der Universität Zürich. Entsprechend liegt das Schwergewicht beim Teil 1 auf genetischer, beim Teil 2 auf biochemisch-molekularer Ebene. Die letzten 50 Jahre biologischer Forschung haben gezeigt, dass die ungeheure Komplexität der biologischen Phänomene auch auf molekularer Stufe zu finden ist. Auch dieser Aspekt wird, vor allem im zweiten Teil, durchschimmern.

Mit Ausnahmen haben wir uns auf die neuesten Übersichts- und Originalarbeiten beschränkt. Über Wikipedia, Google, PubMed und andere Suchmaschinen ist es ein Leichtes, an die älteren Originalarbeiten und weitere Informations-

quellen heranzukommen. Wir werden um einige Fachausdrücke nicht herumkommen. Sie sind **fett** markiert, dort wo sie zum ersten Mal auftauchen. An einigen Stellen finden sich auch knappe Definitionen. Auch die Molekularbiologie spielt an einigen Stellen eine wichtige Rolle. Als knappe Einführung und Nachschlagewerk empfehlen wir das Buch «Genetik. 50 Schlüsselfragen» von Mark Henderson.

# 1 GESCHLECHTSBESTIMMUNG BEI INSEKTEN

## 1.1 Vive la différence!

Die meisten Tier- und Pflanzenarten auf unserem Planeten pflanzen sich geschlechtlich fort. Die Erbinformationen zweier Individuen werden so zusammengeführt, dass ein neuer Organismus daraus entstehen kann. Damit es zu dieser Vereinigung von **Genomen** (Gesamtheit aller Gene eines Individuums) kommt, müssen zwei spezielle Typen von Zellen miteinander verschmelzen, nämlich ein Spermium und eine Eizelle. Dieser Vorgang bedingt aber, dass diese Zellen kompatibel sind und sich zwecks Fusion finden können. Bei fast allen Arten werden dafür zwei Geschlechter gebildet, die sich auf die Produktion einer der beiden Zelltypen (auch Keimzellen oder Gameten genannt) spezialisiert haben. Durch Paarung bringen sie die beiden Zelltypen zusammen. Dasjenige Geschlecht, welches die Eizellen für die Reproduktion bereitstellt, wird das Weibchen genannt, dasjenige Geschlecht, welches die Spermien produziert und überträgt, wird als Männchen bezeichnet. Diese Arbeitsaufteilung hat sich bei den meisten geschlechtlich reproduzierenden Arten durchgesetzt. Es gibt aber auch Arten, deren Mitglieder befähigt sind, beide Typen von Gameten herzustellen. In diesen Fällen spricht man von funktionellen Zwittern. Die Gartenschnecke ist ein Zwitter, der während der Paarung mit einem Artgenossen sowohl Eizellen wie auch Spermien auf den Partner übertragen kann. In anderen Fällen können solche Zwitter sogar sich selbst befruchten, wie zum Beispiel der Fadenwurm *Caenorhabdi-*

*tis elegans*. Hier kann aber kein Austausch von Erbinformation stattfinden. Man nimmt an, dass die Möglichkeit, genetische Information zwischen Individuen einer Population auszutauschen, ein wichtiger Grund für den Erfolg der geschlechtlichen Fortpflanzung ist. Dieser Austausch bürgt dafür, dass die genetische Vielfalt einer Population erhalten bleibt und damit auch die Fähigkeit, sich einer sich ständig ändernden Umwelt anzupassen. Letzten Endes hat sich also die Arbeitsaufteilung in der Gametenbildung als vorteilhaft erwiesen und der geschlechtlichen Fortpflanzung zu ihrem Siegeszug verholfen.

Die Herstellung von funktionellen Eizellen oder Spermien setzt bestimmte Eigenschaften voraus, die jedes Geschlecht mitbringen muss. Deshalb werden wir zuerst auf die Frage eingehen, in welchen Aspekten sich die beiden Spezialisten, Männchen und Weibchen, unterscheiden. Von zentraler Bedeutung ist dann die nächste Frage, wie es zur Ausbildung zweier Geschlechter kommt. Was bestimmt, ob ein Individuum ein Weibchen wird und Eizellen produziert oder sich zu einem Spermien produzierenden Männchen entwickelt? Unterliegt diese wichtige Entscheidung einem sich gleichbleibenden Prinzip, das sich im Laufe der stammesgeschichtlichen Entwicklung der Arten bewährt hat? Oder hat die Natur dazu immerzu neue Strategien erfunden? Um diese Fragen exemplarisch zu beantworten, wollen wir die neuesten Untersuchungen bei Insekten heranziehen. Die Insekten

gehören nicht nur zur artenreichsten Klasse der Gliederfüßer, sondern sie sind auch die artenreichste Klasse der Tiere überhaupt. Mindestens 80 Prozent der bekannten Tierarten, d. h. weit über eine Million Arten, gehören dazu. Man rechnet allerdings mit einem Vielfachen; vor allem in den tropischen Regenwäldern werden noch Millionen unentdeckter Arten vermutet. In der Tat gibt es eine Vielzahl von verschiedenen Fortpflanzungsstrategien und Mechanismen der Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Dies erfreut insbesondere den Evolutionsbiologen, da dieser enorme Fundus es ihm erlaubt, der Frage nachzugehen, wie eine solche Diversität im Zuge der Evolution entstehen konnte.

**Seitenblicke: Nur zwei Geschlechter?** Wenn die Aufrechterhaltung der genetischen Vielfalt tatsächlich der Hauptgrund für die erfolgreiche Verbreitung der sexuellen Fortpflanzung in der Tier- und Pflanzenwelt ist, warum gibt es nur Männchen und Weibchen? Wären mehrere Geschlechtspartner an der Weitergabe der genetischen Information beteiligt, würde die daraus resultierende Vielfalt grösser. Praktisch alle Tier- und Pflanzenarten beschränken sich dennoch auf zwei Geschlechter. Es gibt aber auch Ausnahmen. Bei bestimmten Ameisenarten (*Pogonomyrmex barbatus* und *Pogonomyrmex rugosus*) wird vermutet, dass sie drei Geschlechter haben. Hier findet man nebst Weibchen zwei genetisch unterschiedliche Typen von Männchen. Je nachdem, mit welchem Typ sich die Königin paart, resultieren daraus entweder fruchtbare Königinnen oder sterile Arbeiterinnen. Zwar haben auch andere Hymenopterenarten fertile und sterile Weibchen, aber die Möglichkeit zur Entscheidung, ob sich eine Königin oder Arbeiterin entwickelt über die Paarung mit verschiedenen Männchen, scheint eher eine Ausnahme zu sein. Bei der Honigbiene zum Beispiel sind es bestimmte

Sekretzusätze in der Nahrung, der Gelée Royale, die einen «krönenden» Einfluss ausüben. Aus weiblichen Larven werden dann Königinnen (WHITFIELD, 2004).

## 1.2 Männchen und Weibchen sind verschieden. Auch bei Insekten!

Ein Deutscher sass neulich in einem Pariser Café und ass seine Suppe, als eine Fliege in seiner Suppenschüssel landete. «Da ist *un mouche* in meiner Suppe», rief der Gast. Worauf ihn der herbeigeeilte Kellner korrigierte: «Non, Monsieur, *une mouche*». Erstaunt erwiderte der Gast: «Meine Güte, Ihr Franzosen habt aber gute Augen!» In der Tat ist es für den Laien meist schwer zu erkennen, ob es sich bei einem gefundenen Insektenexemplar um ein Männchen oder um ein Weibchen handelt. Geschlechtsspezifische Merkmale sind selten klar erkennbar, da oft unmerklich klein oder versteckt. Auch der geübte Insektenforscher braucht in den meisten Fällen technische Hilfsmittel, z. B. ein Lupenmikroskop, um die geschlechtliche Identität eines Exemplars zu bestimmen. In der Insektenwelt gibt es aber auch Beispiele mit sehr ausgeprägten geschlechtlichen Unterschieden (**Dimorphismen**), die mit blossem Auge zu erkennen sind. Gerade bei Faltern gibt es viele Beispiele von auffälligen Dimorphismen. Das Männchen des Vogelschwingenfalters (*Ornithoptera goliath*) in Abb. 1.2.1A ist deutlich kleiner als das Weibchen, und auch in der Ornamentierung und Färbung der Flügel sind die Geschlechter sehr verschieden. Der nicht fachkundige Beobachter würde vermutlich die beiden Geschlechter fälschlicherweise verschiedenen Arten zuordnen. Insektenmännchen können sehr auffällige Attribute haben, wie zum Beispiel das Geweih des Hirschkäfers (Abb. 1.2.1B), das gegen Rivalen in territorialen Kämpfen eingesetzt wird. Bei Riesengespenstschrecken (*Heteropteryx dilatata*) können Körpergrösse und Kör-

perbau sehr stark voneinander abweichen (Abb. 1.2.1C). Solche gut sichtbaren Geschlechtsdimorphismen sind nicht die Regel. Auch ein sehr gutes Sehvermögen des oben erwähnten Kellners hätte kaum gereicht, um ohne Hilfsmittel die Dimorphismen bei der Stubenfliege, *Musca domestica*, zu erkennen. Die beiden Geschlechter unterscheiden sich äusserlich nur in geringem Masse. Die beiden Facettenaugen liegen beim Weibchen etwas weiter voneinander entfernt als beim Männchen (Abb. 1.2.1D). Man vermutet, dass dieser Abstandsunterschied auf unterschiedliche visuelle Ansprüche der beiden Geschlechter zurückzuführen ist. Weibchen brauchen ein grösseres Sichtfeld, um geeignete Eiablageplätze zu finden, für Männchen ist stereoskopisches Sehen von Vorteil, damit sie Distanzen besser abschätzen können, wenn sie Paarungspartner verfolgen. Auf der Bauchseite finden wir im hinteren Bereich die männlichen und weiblichen Genitalstrukturen, die unter dem Mikroskop in Form und Pigmentierung klare Unterschiede aufzeigen. Viele Fliegenarten lassen sich nur mit Hilfe einer Lupe geschlechtlich einordnen. Eine Ausnahme ist die wohlbekannte Taufliege, *Drosophila melanogaster*. Dank der starken Pigmentierung der hinteren Tergiten im Abdomen kann man die Männchen auch mit blossem Auge von den Weibchen unterscheiden (Abb. 1.2.1E). Es gibt noch zahlreiche andere geschlechtsspezifische Unterschiede, die von aussen nicht sichtbar sind. Insbesondere sind die inneren Genitalien und die Keimdrüsen, der Ort, wo die Gameten heranreifen, unterschiedlich aufgebaut. In den männ-

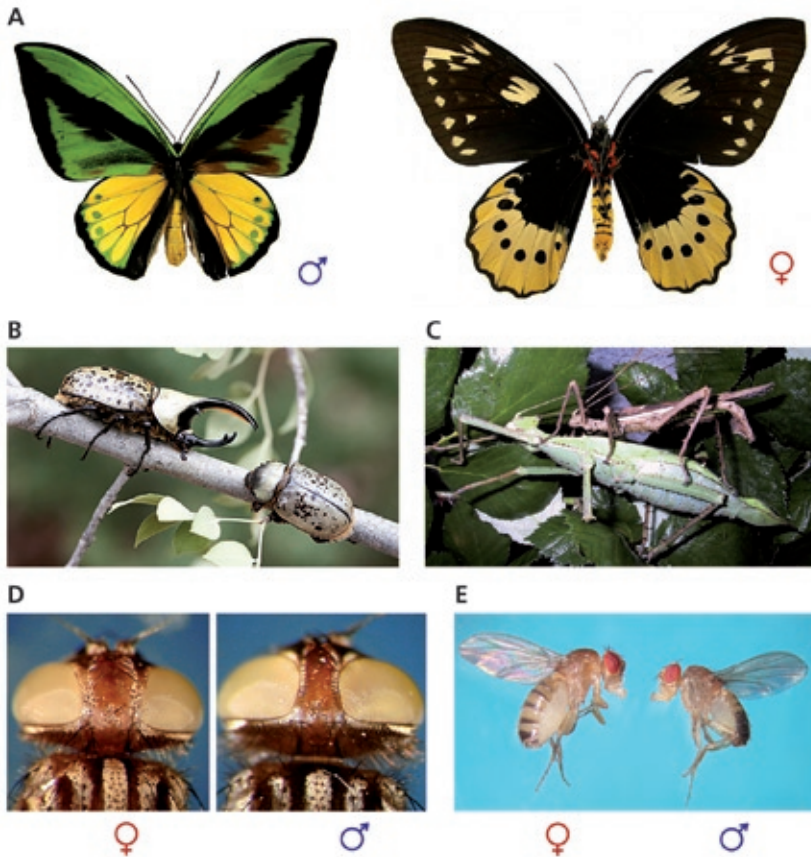


Abb. 1.2.1. Geschlechtsdimorphismen bei Insekten. (A) Männchen (links) und Weibchen (rechts) der Schmetterlingsart *Ornithoptera goliath* unterscheiden sich in Grösse und Musterung der Flügel (Fotographie: Thomas Neubau, [www.butterflycorner.net](http://www.butterflycorner.net)). (B) Beim Herkuleskäfer (*Dynastes granti*) trägt das Männchen (links) ein imposantes Horn, um das «hornlose» Weibchen (rechts) zu beeindrucken. (C) Das braune Gespensterschreck-Männchen (*Heteropteryx dilatata*), auf dem Rücken des grünen Weibchens, hat lange funktionelle Flügel. Das Weibchen hingegen besitzt nur ein paar Stummelflügel. (D) Die Distanz zwischen den Facettenaugen der Stubenfliege (*Musca domestica*) ist bei Weibchen (links) und Männchen (rechts) unterschiedlich gross. (E) Die männliche Taufliege (*Drosophila melanogaster* «schwarzbäuchig») ist leicht an der stärkeren Pigmentierung im hinteren Bereich des Abdomens zu erkennen.

Fig. 1.2.1. Sexual dimorphisms in insects. (A) Males (left) and females (right) of the lepidopteran species *Ornithoptera goliath* differ in size and ornamentation of the wings (photography: Thomas Neubau, [www.butterflycorner.net](http://www.butterflycorner.net)). (B) The male Hercules beetle (*Dynastes granti*) on the left displays a large horn to impress the «hornless» female on the right. (C) The brown male on the back of the green female phasmid (*Heteropteryx dilatata*) has long functional wings. The female wings, in contrast, are vestigial and non-functional. (D) The distance between the compound eyes of the male housefly (right) is significantly shorter than in the female (left). (E) The male fruit fly (right) can be easily identified due to the darker pigmentation of the posterior part of the abdomen.



lichen Keimdrüsen, den Hoden, werden aus Vorläuferzellen reife Spermien gebildet. Der männliche Genitalapparat besitzt zudem verschiedene Drüsen, welche zusätzliche Komponenten der Samenflüssigkeit bereitstellen müssen. Zum Beispiel bei *D. melanogaster* sind es die akzessorischen Drüsen, die das Sex-Peptid herstellen. Die für die Reproduktion ausserordentlich wichtigen Funktionen dieses Peptides werden ausführlich im zweiten Teil beschrieben. In Weibchen differenzieren sich die Keimdrüsen zu Ovarien, in denen die Eizellen heranreifen. Da die Gameten der beiden Geschlechter sehr verschieden in Aufbau und Zusammensetzung sind, müssen die entsprechenden Produktionsstätten auch unterschiedlichen Ansprüchen genügen. Weitere Unterschiede ergeben sich aus den verschiedenen Bedürfnissen bezüglich der Physiologie. Zum Beispiel werden die Dotterproteine in den Fettkörperzellen von Weibchen gebildet und an die **Hämolymphe** (Blut der Insekten) abgegeben. Diese Proteine gelangen so zu den reifenden Eizellen, wo sie als Nahrungsreserve eingelagert werden. Diese Proteine werden in den Männchen nicht benötigt, da Spermien keinen Dotter einlagern. Männchen besitzen zwar Fettkörperzellen, ihre Dotterprotein-Gene sind aber nicht aktiv. Die Fettkörperzellen «wissen» offenbar, ob sie männlich oder weiblich sind. Entsprechend wird die Aktivität dieser Gene reguliert (BOWNES, 1994).

## 1.3 Wie entstehen Weiblein und Männlein?

Wie wird das Geschlecht eines Individuums bestimmt? Welche Art von Information legt die geschlechtliche Identität fest? Beruht diese Entscheidung auf einem Zufallsprinzip? Spielen vielleicht auch Umwelteinflüsse eine Rolle? Schon seit der Antike und in biblischen Erzählungen haben sich Menschen mit diesen Fragen auseinandergesetzt. So glaubte Aristoteles 335 v. Chr., dass beim Menschen die «Hitze des Geschlechtsaktes» die Wahrscheinlichkeit erhöhe, einen Jungen zu gebären. Bis ins 19te Jahrhundert war die Meinung vorherrschend, dass solche oder andere Umwelteinflüsse die geschlechtliche Identität eines Individuums festlegen. Erst um die Wende zum 20sten Jahrhundert wurde aufgrund von Fortschritten in der Mikroskopie erkennbar, dass das Geschlecht bei verschiedenen Insektenarten mit einer bestimmten Kombination von Chromosomen im Zellkern zusammenhängt. Zwar haben beide Geschlechter die gleiche Zahl von Chromosomenpaaren, jedoch unterscheidet sich ein Paar in Grösse und Aufbau. Diese Geschlechtschromosomen (**Gonosomen**) bezeichnet man als X und Y. Die anderen gleichförmig aussehenden Chromosomenpaare nennt man **Autosomen**. Weibchen haben zwei X-Chromosomen, während Männchen nur ein X- und ein meistens kürzeres Y-Chromosom besitzen. Die Entdeckung der Geschlechtschromosomen bei Insekten, und bald darauf auch beim Menschen, haben neues Licht auf die alte Frage der Geschlechtsbestimmung geworfen (WILSON, 1905). Offenbar sind es intrinsische Faktoren, welche festlegen, ob aus der befruchteten Eizelle ein Männchen oder

ein Weibchen hervorgeht. Bei der Gametenreifung erhalten Eizellen stets ein X-Chromosom, während Spermien entweder ein X oder Y abbekommen. Wird ein Ei von einem X-haltigen Spermium befruchtet, so entsteht ein Weibchen; Befruchtung mit einem Y-haltigen Spermium führt zu einem Männchen.

**Seitenblicke: Sterben die Männer aus?** Das menschliche Y-Chromosom ist der Kümmerling des Genoms. Während das X Chromosom mehr als 2000 Gene enthält, liegen auf dem Y weniger als 100 Gene. Einst waren das X- und Y-Chromosom identisch, denn sie stammen ursprünglich vom gleichen Chromosomenpaar ab. In den letzten 300 Millionen Jahren aber ist das Y-Chromosom durch Anhäufung von Mutationen und zunehmendem Verlust von Genen so weit zusammengeschrumpft, dass es heute weniger genetische Information enthält als jedes andere Chromosom. Die Erklärung für diese fortschreitende Korrosion ist das Fehlen der Rekombination, d. h. es findet praktisch kein Austausch von Chromosomenmaterial zwischen X und Y mehr statt, mit Ausnahme der beiden Enden, den so genannten pseudoautosomalen Regionen (die molekulare Rekombination ist ein probates Mittel, um fehlerhafte Informationen in der DNA auszumerzen). Es wurde postuliert, dass bei dieser Schwundrate dem Y keine 125 000 Jahre mehr bleiben, bis es vollständig verschwindet (SYKES, 2006). Die meisten Wissenschaftler teilen diese pessimistische Einschätzung nicht, denn man geht davon aus, dass die natürliche Auslese dieser Korrosion entgegenwirkt. Nur Männer mit einem funktionellen Y-Chromosom können sich fortpflanzen und dieses an ihre Söhne weitergeben. Zudem zeigen neueste

Forschungen, dass das Y-Chromosom einen effizienten Reparaturmechanismus entwickelt hat, um weitere Verluste von Genfunktionen einzudämmen. Weite Teile des Chromosoms sind so genannte Palindrome. Die genetische Information in diesen längeren Bereichen kann sowohl vorwärts wie auch rückwärts gelesen werden (Bsp. GGGACATT/TTACAGGG). Bei der Verdopplung (Replikation) des Chromosoms können so die neuen Genkopien mit ihren Spiegelbildern im Palindrom abgeglichen werden. Allfällige Fehler können von der Reparaturmaschinerie in der Zelle behoben werden. Es gibt also durchaus Hoffnung für das Überleben von Adam (BACHTROG, 2006).

Es gibt auch einige wenige Fälle, bei denen Umwelteinflüsse eine entscheidende Rolle für die Geschlechtsbestimmung spielen. So wird bei verschiedenen Reptilien- und Amphibienarten das Geschlecht durch die Bebrütungstemperatur der Eier bestimmt (GEORGES et al., 2010). Auch bei Insekten können Umweltbedingungen die geschlechtliche Entwicklung beeinflussen. Wenn sich zum Beispiel Embryonen mit einem männlichen Chromosomensatz der Mücke *Aedes stimulans* bei 29 °C statt bei 25 °C entwickeln, löst dies eine Geschlechtstransformation aus, und es entstehen nur Weibchen. Im Tierreich ist die Geschlechtsbestimmung durch Umweltfaktoren jedoch eher die Ausnahme als die Regel. Wenig ist über den zu Grunde liegenden Mechanismus bekannt. Man vermutet, dass es gewisse Varianten geschlechtsbestimmender Gene gibt, die auf Einflüsse aus der Umgebung reagieren. In temperatursensitiven Genvarianten (**Allelen**) kann die Umgebungstemperatur massgeblich auf deren Aktivität Einfluss nehmen. Wenn wir also vorwiegend von einer genetischen Grundlage für die

Geschlechtsbestimmung ausgehen, stellt sich die Frage, um welche Art von genetischer Instruktion es sich dabei handelt. Das oben beschriebene XX-XY-System ist zwar bei Wirbeltieren sehr verbreitet, bei Insekten ist dies hingegen nur eine Variante unter vielen. In der Insektenwelt finden wir eine erstaunliche Fülle verschiedener geschlechtsbestimmender Mechanismen. Eine Auswahl ist in Abb. 1.3.1 aufgelistet:

- a) Wenn das **heterogametische Geschlecht** männlich ist, jenes mit zwei unterschiedlichen Geschlechtschromosomen, reden wir von einem XX-XY-System. In diesem System gibt es prinzipiell zwei verschiedene Arten der Geschlechtsbestimmung. Entweder enthält das Y-Chromosom einen dominanten Faktor, der die männliche Entwicklung festlegt. Ist dieser Faktor nicht vorhanden, wie in XX-Individuen, entstehen Weibchen. Oder es ist die Zahl der vorhandenen X-Chromosomen in der Zygote, welche das Geschlecht bestimmt. Sind zwei X-Chromosomen vorhanden, wird dies als weibliches Signal interpretiert. Wenn nur ein X vorliegt, wird der männliche Entwicklungsweg eingeschlagen. Hier hat das Y also keinen Einfluss auf die Entscheidung. Diese Art der Geschlechtsbestimmung wurde in der Taufliege *Drosophila melanogaster* und im Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* vorgefunden und war in diesen beiden biologischen Modellsystemen Gegenstand ausführlicher Untersuchungen (CLINE and MEYER, 1996).
- b) Ist das heterogametische Geschlecht hingegen weiblich, spricht man von einem ZZ-ZW-System. ZW-Individuen entwickeln sich zu Weibchen und homogametische ZZ-Individuen zu Männchen. Dieses System ist weit ver-



<b>Genetische Faktoren:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Y chromosomaler Faktor</li> <li>- männlich dominante Faktoren</li> <li>- weiblich dominante Faktoren</li> <li>- W chromosomaler Faktor</li> <li>- Anzahl X-Chromosomen</li> <li>- Anzahl Chromosomensätze</li> <li>- mütterliche Faktoren</li> </ul>	 <b>XX</b> <b>+/+</b> <b>F/+</b> <b>ZW</b> <b>2X</b> <b>diploid</b> <b>F'/+</b>	 <b>XY</b> <b>M/+</b> <b>+/+</b> <b>ZZ</b> <b>1X</b> <b>haploid</b> <b>+/+</b>	<b>Beispiele:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Musca, Tribolium</i></li> <li><i>Musca</i></li> <li><i>Musca</i></li> <li><i>Bombyx</i></li> <li><i>Drosophila</i></li> <li><i>Apis, Nasonia</i></li> <li><i>Chrysomya, Musca</i></li> </ul>
<b>Umweltfaktoren:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Temperatur</li> <li>- Wolbachia-Bakterien</li> </ul>	<b>hoch</b> <b>Infektion</b>	<b>tief</b> <b>keine Infektion</b>	<i>Aedes stimulans</i> viele Insektenarten

Abb. 1.3.1. Verschiedene Strategien der Geschlechtsbestimmung bei Insekten. In dieser Abbildung sind verschiedene Typen von Primärsignalen aufgeführt. Man unterscheidet zwischen genetischen Faktoren und Umweltfaktoren, die das Geschlecht festlegen. Die verschiedenen Mechanismen werden im Kapitel 1.6. ausführlicher beschrieben.

Fig. 1.3.1. Different sex determining strategies in insects. In this figure different types of primary signals are listed. Sex-determining signals belong to two different classes, either they are genetic or environmental. They are described in more detail in chapter 1.6.

breitet in der Ordnung der Schmetterlinge und Motten (Lepidoptera). Auch hier kann dem geschlechtsbestimmenden Prinzip entweder die An- oder Abwesenheit eines dominanten weiblichen Faktors auf dem W-Chromosom zu Grunde liegen oder die Zahl der vorhandenen Z-Chromosomen in der Zygote. Ein bekanntes Beispiel dazu ist der Seidenspinner *Bombyx mori*. In dieser Art vermutet man einen weiblich bestimmenden Faktor auf dem W-Chromosom (TRAUT et al., 2007).

- c) Es gibt auch viele Insektenarten, die keinen sichtbaren Unterschied im Chromosomensatz zwischen den

Geschlechtern aufweisen, die also weder vom Typ XX-XY noch ZZ-ZW sind. In solchen Fällen vermutet man das Vorhandensein eines einzelnen dominanten männlich oder weiblich bestimmenden Faktors, welcher die geschlechtliche Identität festlegt. Dominant weibliche Faktoren werden meistens mit **F** gekennzeichnet und dominant männliche Faktoren mit **M**. Diese Systeme unterscheiden sich von den vorherigen nur insofern, als das Chromosom, welches den geschlechtsbestimmenden Faktor trägt, sich morphologisch nicht von seinem homologen Partnerchromosom unterscheidet. Man vermutet

jedoch, dass solche Chromosomen über längere Zeit verkümmern und zu einem W-Chromosom werden, wenn sie einen F-Faktor, beziehungsweise zu einem Y-Chromosom werden, wenn sie einen M-Faktor tragen (siehe obige Seitenblicke: «Sterben die Männer aus?»).

- d) Ein weiteres eher selten bei Insekten gefundenes Prinzip der Geschlechtsbestimmung beruht auf der genetischen Ausstattung des Muttertieres. Bei diesen Insektenarten gibt es in natürlich vorkommenden Populationen zwei Typen von Weibchen. Solche, die nur männliche Nachkommen produzieren, und solche, die nur weibliche Tiere hervorbringen. Ein Beispiel ist die Schmeissfliege *Chrysomya ruficacies* (ULLERICH, 1984).
- e) Als letztes Beispiel für diese Vielfalt wollen wir noch einen Mechanismus betrachten, bei dem die Anzahl der Chromosomensätze zwischen «männlich» oder «weiblich» entscheiden. In diesem System können sich auch unbefruchtete Eizellen entwickeln, diese besitzen aber dann nur einen Chromosomensatz von der Mutter. Diese so genannten **haploiden Individuen** ( $1n$ ) werden sich zu Männchen entwickeln. Wird die Eizelle aber von einem Spermium befruchtet, erhöht sich der Chromosomensatz um den des Vaters. Diese **diploiden Individuen** ( $2n$ ) entwickeln sich zu Weibchen. Ein solcher Typus der Geschlechtsbestimmung ist bei Hautflüglern (Hymenopteren: Ameisen, Bienen und Wespen) weit verbreitet. Zudem wird geschätzt, dass etwa 20% aller Tierarten sich dieses Mechanismus' für die Geschlechtsbestimmung bedienen (VAN WILGENBURG et al., 2006).

Eine weitere Besonderheit bei Insekten ist das Auftreten von gynandromorphen Individuen, auch **Gynander oder Hermaphroditen** genannt. Diese Tiere sind genetische Mosaik, die aus einem Gemisch von männlichem und weiblichem Gewebe bestehen. Diese dimorphen Strukturen liegen nebeneinander mit einer klaren Begrenzung zwischen eindeutig männlichen und eindeutig weiblichen Zellen. Verschiedene Exemplare sind in der Abb. 1.3.2 dargestellt. Auch auf dem Deckblatt ist der mittlere der drei abgebildeten afrikanischen Rosenkäfer (*Mecynorrhina torquata*) ein Gynander oder Hermaphrodit. Bei allen hier gezeigten Exemplaren verläuft die Unterteilung zwischen männlich und weiblich entlang der Hauptkörperachse. Dies muss aber nicht zwingend der Fall sein. Der Anteil an männlichen oder weiblichen Zellen und der Verlauf der Grenze kann stark variieren. Es handelt sich bei Gynandern um seltene Fehlleistungen in der Geschlechtsbestimmung. Die Ursachen können verschieden sein und werden im nächsten Kapitel behandelt. Die klare Abgrenzung zwischen männlichem und weiblichem Gewebe ist ein wichtiger Hinweis dafür, dass Zellen die geschlechtsbestimmenden Instruktionen offenbar unabhängig voneinander interpretieren können. Dies deutet auf ein autonomes Handeln der Zelle hin und wird deshalb auch als zellautonome Differenzierung bezeichnet. Im Gegensatz dazu sind es bei Säugern vor allem die in den Keimdrüsen gebildeten geschlechtsspezifischen Hormone (Testosteron in den Hoden und Östrogen in den Ovarien), welche durch den Blutkreislauf zu den Körperzellen gelangen und die entsprechende Instruktion für männliche oder weibliche Differenzierung vermitteln.

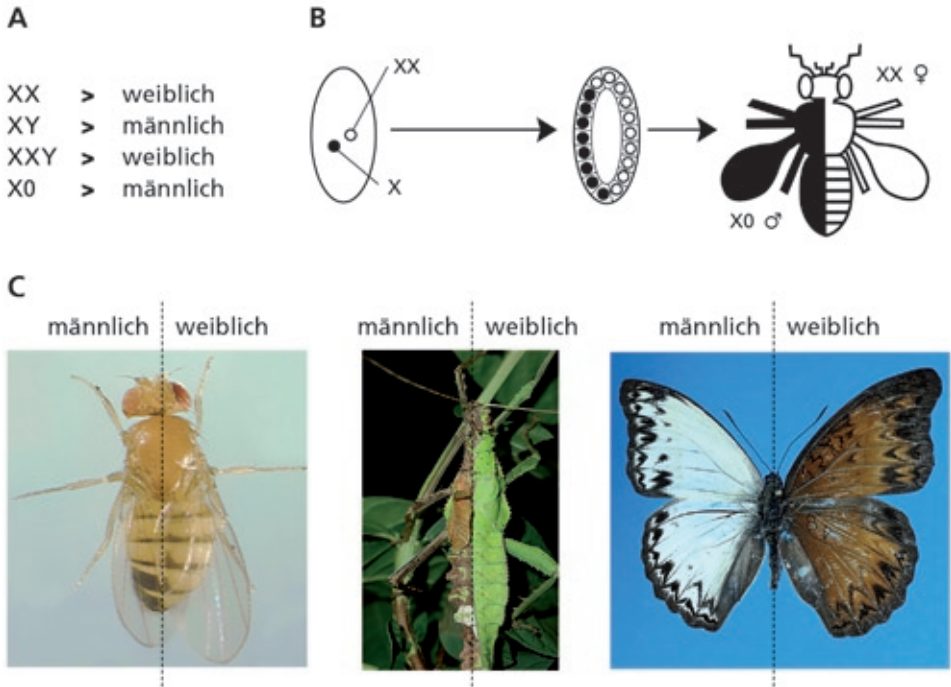


Abb. 1.3.2. Gynandromorphe Entwicklung bei Insekten. (A) Bei *Drosophila* bestimmt die Zahl der vorhandenen X-Chromosomen das Geschlecht. Zwei X-Chromosomen werden als weibliches Signal interpretiert, ein X-Chromosom als männliches Signal. Das Y-Chromosom spielt in dieser Entscheidung keine Rolle. (B) In seltenen Fällen kann während der Frühentwicklung des XX-Individuums ein X-Chromosom in ein paar Zellen spontan verloren gehen. Die daraus resultierenden Tochterzellen haben nur ein X statt deren zwei (XO). Es entsteht ein genetisches Mosaik, das aus XX-Zellen, die sich weiblich differenzieren, und aus XO-Zellen, die sich männlich differenzieren, besteht. (C) Verschiedene Beispiele solcher Gynander: eine *Drosophila*-Fliege (links), eine Gespensterschrecke (Mitte) und ein Falter der Art *Cymothoe caenis* (rechts).

Fig. 1.3.2. Gynandromorphic development in insects. (A) In *Drosophila* it is the number of X-chromosomes that determines the sexual fate. Presence of two X-chromosomes in the cell constitutes a female signal, presence of one X constitutes a male signal. The Y-chromosome has no role in this process. (B) In rare cases an X-chromosome can be lost in some cells during early development of an XX-individual. The derived daughter cells have only one instead of two X (XO). As a result, a mosaic individual will develop which is composed of XX-cells that differentiate female structures and XO-cells that differentiate male structures. (C) Different examples of gynandromorphs: a *Drosophila* fly (left), a phasmid (middle) and a specimen of the butterfly species *Cymothoe caenis* (right).

**Seitenblicke: Auch Parasiten können das Geschlecht des Wirtes bestimmen.** *Wolbachia* ist ein weit verbreiteter Parasit bei Insekten. Schätzungsweise 17 bis zu 70% aller Insektenarten sind von einer Infektion mit diesem

gramnegativen Bakterium betroffen. Dieser Parasit lebt bevorzugt in den Geschlechtsorganen der Wirtsorganismen und beeinflusst dort deren Fortpflanzung zu seinem Vorteil. Verbreitet ist die vertikale Übertragung

durch Einnistung in die Eizelle. So kann der Parasit auf wirksame und schnelle Art an die nächste Generation des Wirtes weitergegeben werden. Das Weibchen ist der bessere Wirt für eine Verbreitung als das Männchen, da sich die sehr kleinen Spermien als Übertragungsvehikel nicht besonders gut eignen. Für das Überleben von *Wolbachia* ist es somit von Vorteil, wenn bei einer betroffenen Art möglichst viele Weibchen infiziert sind. Dazu hat das Bakterium verschiedene Strategien entwickelt. Unter anderem kann es in bestimmten Insektenarten in den Prozess der Geschlechtsbestimmung eingreifen und diese so manipulieren, dass mehrheitlich Weibchen entstehen. Dadurch wird das normalerweise ausgewogene Verhältnis von männlichen und weiblichen Nachkommen in Richtung Weibchen verschoben (HORNETT et al., 2009). Wie das Bakterium dies bewerkstelligt, ist zum grossen Teil noch unklar und Gegenstand heutiger Forschung.

## 1.4 Gibt es ein allgemeingültiges Prinzip der Geschlechtsbestimmung?

Im Prinzip handelt es sich bei der Geschlechtsbestimmung um eine binäre Entscheidung zwischen zwei möglichen Entwicklungsprogrammen. Entweder folgt die befruchtete Eizelle dem Entwicklungsweg, der zu einem fertilen Weibchen führt, oder sie entwickelt sich zu einem fertilen Männchen. Trotz der verwirrenden Vielfalt von in der Natur vorhandenen geschlechtsbestimmenden Signalen, stellt sich die Frage, ob es Gemeinsamkeiten in der Umsetzung dieser Entscheidung gibt. Gerade das Beispiel der Stubenfliege *Musca domestica* zeigt, dass verschiedene Typen von Signalen in ein und der gleichen Art verwendet werden können (DUBENDORFER et al., 2002). Dies deutet darauf hin, dass bei *Musca* trotz dieser Verschiedenartigkeit eine gleiche Grundlage der Signalübermittlung existieren muss. Man geht davon aus, dass die genetischen Instruktionen eine Kaskade von molekularen Abläufen in der Zelle regulieren, die zwischen den beiden Programmen «weiblich» bzw. «männlich» unterscheiden. Um eine korrekte Ausführung zu gewährleisten, sind zwei wichtige Voraussetzungen nötig. Erstens muss die Entscheidung relativ früh in der Individualentwicklung gefällt werden, da viele Aspekte der dimorphen Entwicklung betroffen sind, wie z. B. Physiologie, Anatomie, Morphologie, Verhalten und zweitens muss die Festlegung so koordiniert werden, dass alle Zellen des heranwachsenden Individuums die gleiche Identität bekommen. Es entstehen sonst Gynander, die aus männlichen und weiblichen Strukturen bestehen, die

aber letztlich nicht funktionell sind (wie oben beschrieben).

Wir unterscheiden drei Stufen im Ablauf des Entscheidungsweges, der zu einem weiblichen bzw. männlichen Organismus führt: erstens **Instruktion**, zweitens **Übertragung** und drittens die **Ausführung**. Zuerst in der Kaskade wirkt das geschlechtsbestimmende Signal, auch Primärsignal genannt. Diese Instruktion wird von einem direkt untergeordneten Gen gelesen und entsprechend weitergeleitet (Übertragung). Das untergeordnete Gen hat damit die Schlüsselposition in der Kaskade inne. Es wirkt als **genetischer Schalter**, der entweder von einem weiblichen Signal aktiviert wird oder bei einem männlichen Signal inaktiv bleibt. Beide Zustände sind vergleichbar mit den in der binären Computersprache verwendeten Zuständen 1 und 0. Der gewählte Zustand «EIN» bzw. «AUS» wird dann auf weitere untergeordnete Gene übertragen, bis er zu den **Differenzierungsgenen** gelangt (Ausführung) und diese solcherart reguliert, dass sie entweder das weibliche oder männliche Entwicklungsprogramm ausführen. Zum Beispiel müssen die Dotterprotein-Gene in weiblichen Fettkörperzellen aktiviert werden, jedoch in den männlichen Fettkörperzellen ausgeschaltet bleiben.

Rolf Nöthiger und Monica Steinmann-Zwicky haben 1985 postuliert, dass die regulatorischen Abläufe unterhalb des Primärsignals bei allen Insekten weitgehend gleich geblieben sind (NÖTHIGER and STEINMANN-ZWICKY, 1985). Eine Diversifizierung hat nur auf der Ebene des Pri-



märsignals stattgefunden. Nach dieser These benutzen also verschiedene Primärsignale die gleichen Schaltergene, um die geschlechtliche Identität festzulegen und weiterzuleiten. Dies würde bedeuten, dass die Natur durchaus auch auf bewährte Mechanismen zurückgreift, statt immerfort neue Strategien zu entwickeln. Studien bei einzelnen Vertretern der grösseren Insektenordnungen haben in den letzten zwei Jahrzehnten Evidenzen erbracht, die diese These erhärten. Bevor wir auf die Details eingehen, werden wir im nächsten Kapitel die grundlegenden molekularen Abläufe der Geschlechtsbestimmung bei der Taufliege *Drosophila melanogaster* erläutern. Denn solche Vergleichsstudien setzen ein Referenzsystem voraus, welches gründlich erforscht sein muss.

## 1.5 *Drosophila*: ein Paradigma für die genetische Kontrolle der Geschlechtsbestimmung

Für die Suche nach geschlechtsbestimmenden Genen braucht es ein Modell, das für genetische Studien geeignet und zugänglich ist. Nur in einem genetisch klar definierten System können die Funktionen einzelner Gene gezielt und effektiv untersucht werden. Gene werden primär aufgrund von Fehlleistungen identifiziert, d. h. ein wichtiger Ansatz in der Genforschung ist die Suche nach bestimmten Gendefekten (**Mutationen**). Aufgrund der Auswirkung, die eine Mutation auf die Entwicklung hat, lässt sich herleiten, welche Funktion das betroffene Gen normalerweise hat. Findet man eine Mutation, die eine Geschlechtsumkehr bewirkt, welche z. B. zu einem XX-Männchen führt, ist sie für unser Thema von besonderem Interesse, weil das betroffene Gen eine entscheidende Rolle in der Geschlechtsbestimmung spielen könnte. Für solche genetische Untersuchungen hat sich die Taufliege *Drosophila melanogaster* als besonders geeignet erwiesen. Schon seit den Anfängen der *Drosophila*-Forschung vor hundert Jahren war die Geschlechtsbestimmung Gegenstand detaillierter genetischer Studien. Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass die Geschlechtsbestimmung heute zu einem der am besten verstandenen Prozesse in der Entwicklung mehrzelliger Organismen gehört. Anfangs der 20er Jahre des letzten Jahrhunderts hat Calvin Bridges, ein Schüler von Thomas Hunt Morgan, dem Gründungsvater der *Drosophila*-Forschung, entdeckt, dass das Geschlecht der Taufliege durch die Anzahl der X-Chromosomen bestimmt wird (BRIDGES, 1921). Hat das Individuum eine XX- oder XXY-

Zusammensetzung (letzteres durch Befruchtung mit einem aberranten XY-haltigen Spermium), so entsteht ein Weibchen. War der Chromosomensatz aber XY oder XO (letzteres durch Befruchtung mit einem Spermium, das weder X noch Y trägt), dann entstehen Männchen. Diese Befunde legten nahe, dass das *Drosophila* Y-Chromosom keinen Einfluss auf das Geschlecht hat, sondern dass die Anzahl X-Chromosomen in diesem System als Signal benutzt wird. Sind zwei X-Chromosomen vorhanden, wird dies als weibliches Signal interpretiert. Ist nur ein X-Chromosom vorhanden, wirkt dies als männlich bestimmendes Signal. Spätere Studien zeigten dann, dass dieses Signal noch vor dem Erreichen des Blastodermstadiums wirkt, das heisst 1,5 bis 2 Stunden nach der Befruchtung. Die etwa 6000 Zellen, die zu diesem Zeitpunkt durch 13 Teilungen gebildet worden sind, können dieses Primärsignal unabhängig voneinander lesen und interpretieren. Belegt ist dies durch die genetische Analyse von Gynandern. In seltenen Fällen kann es passieren, dass während den ersten Teilungen ein X-Chromosom spontan verloren geht. Es entstehen dadurch in einer Zygote zwei Populationen von Zellen, solche mit beiden X-Chromosomen und solche mit nur einem X-Chromosom. Da jede Zelle ihre geschlechtliche Identität für sich bestimmt, entsteht aus diesem Gemisch ein Gynander mit weiblich (XX) bzw. männlich differenzierten Zellen (XO), wie in Abb. 1.3.2 dargestellt. Lange Zeit blieb im Dunkeln, wie ein derart kleiner quantitativer Unterschied zu einer klaren Entscheidung zwischen zwei

alternativen Entwicklungswegen führen kann. Wie werden die X-Chromosomen gezählt? Welcher zelluläre Mechanismus ist überhaupt in der Lage, einen solchen feinen Unterschied zu erkennen? Während Jahrzehnten haben viele Forscher versucht, dieses in der Biologie einzigartige Phänomen mit rein theoretischen Modellen zu erklären. Erst mit der Identifikation des Gens *Sex-lethal* (*Sxl*) durch Thomas Cline 1978, wurde ein wichtiges Puzzlestück gefunden, das wesentlich dazu beitrug, dieses Geheimnis zu lüften (CLINE, 1978). Anhand von einigen wohlüberlegten genetischen Studien konnte Cline zeigen, dass die weibliche Entwicklung ein aktives *Sxl*-Gen bedingt. Bleibt dieses Gen hingegen ausgeschaltet, führt dies zu männlicher Entwicklung. Es ist also der Aktivitätszustand dieses *Sxl*-Gens: EIN weiblich, AUS männlich, der die geschlechtliche Identität festlegt. Damit war das Ziel des Primärsignals und damit der erste Hauptschalter in diesem Kontrollweg identifiziert worden. Zur etwa gleichen Zeit wurden weitere Gene identifiziert, die in der Signalübertragung eine wesentliche Rolle spielen. Zum Beispiel das dem *Sxl*-Gen untergeordnete *transformer* (*tra*)-Gen. Ähnlich wie *Sxl* wird dieses Gen auch als ein EIN/AUS-Schalter benutzt, um die Instruktion von *Sxl* zum nächsten Gen weiterzuleiten. Diese unterste Stufe in der Kaskade wird von dem Gen *doublesex* (*dsx*) besetzt. Anders als die übergeordneten Schaltergene wirkt dieses Gen als Doppelschalter und ist sowohl in männlichen wie auch weiblichen Zellen aktiv. Es entsteht entweder eine weibliche Protein-Variante des *dsx*-Gens,  $DSX^F$ , oder eine männliche Variante,  $DSX^M$  (die Namen/Abkürzungen der Gene werden in konventioneller Weise kursiv, die Namen der Genprodukte normal und gross geschrieben). Man geht davon aus, dass die meis-

ten Differenzierungsgene, wie z. B. die Dotterprotein-Gene, direkt von diesen Varianten reguliert werden. Wird  $DSX^F$  in der Zelle gebildet, führt das zur Aktivierung der Dotterprotein-Gene im Fettkörper. Die männliche Variante,  $DSX^M$ , hingegen unterdrückt die Aktivität derselben Gene im Fettkörper. Beide Varianten wirken also als Genregulatoren auf die gleichen Zielgene jedoch mit entgegengesetzter Wirkung. Ein Ausfall des *dsx*-Gens hätte zur Folge, dass die betroffenen Zellen in eine Identitätskrise bezüglich ihres Geschlechts gerieten, d. h. männliche wie auch weibliche Gene würden aktiviert, und daraus entsteht meist ein steriler Intersex.

Zusammengefasst haben genetische Studien bei *Drosophila* ergeben, dass die Signalübermittlung aus einer linearen Kaskade mit drei Stufen besteht (Abb. 1.5.1). Als erstes wirkt das Primärsignal auf das Schaltergen *Sxl*, welches die geschlechtliche Identität einer Zelle früh festlegt. *Sxl* übernimmt zusätzlich die Aufgabe eines zellulären Gedächtnisses, das gewährleistet, dass die einmal festgelegte Identität auch nach den Zellteilungen in den Tochterzellen bestehen bleibt. In der nächsten Stufe der Kaskade wird die Entscheidung von *Sxl* über *tra* an *dsx* weitergeleitet. Das letzte Glied in der Kaskade, *dsx*, wird als Konsequenz in einen weiblichen oder männlichen Modus geschaltet. Dies führt zum gewählten weiblichen bzw. männlichen Entwicklungsprogramm, bei dem *dsx* alle Gene steuert, welche für die dimorphe Entwicklung relevant sind. Man vermutet, dass viele Zielgene existieren, bisher hat man aber nur eine Handvoll von ihnen identifizieren können.

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, dass die beteiligten Gene wie in einem Flussdiagramm linear miteinander verknüpft sind. Sie gibt aber keine Auf-

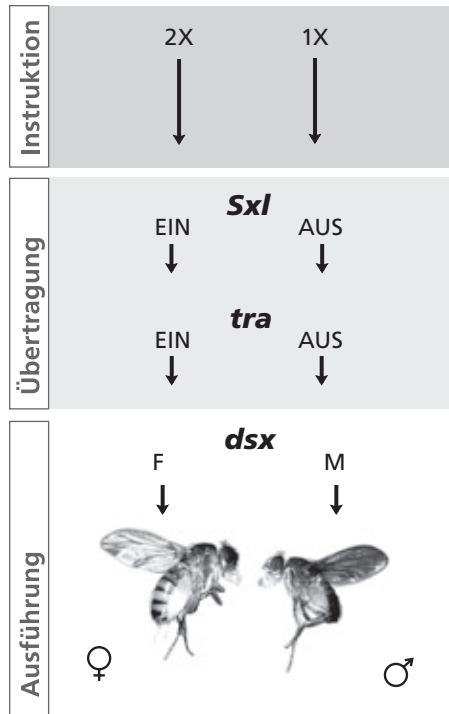


Abb. 1.5.1. Der genetische Kontrollweg der Geschlechtsbestimmung bei *Drosophila*. Der Kontrollweg besteht aus drei hierarchisch angelegten Stufen. Auf der obersten Ebene (Instruktion) wirkt ein Primärsignal, das durch die Gene *Sxl* und *tra* (Übertragung) auf die letzte Stufe der Kaskade (Ausführung) übertragen wird. Hier führt das Gen *dsx* dann das gewählte Entwicklungsprogramm, männlich oder weiblich, aus. Sind zwei X-Chromosomen (2X) vorhanden, wird dies als ein weibliches Signal interpretiert und führt zur Aktivierung des *Sxl*-Gens (EIN), das dann auch das *tra*-Gen (EIN) aktiviert. Aufgrund von aktivem TRA wird das *dsx*-Gen so «gespleisst», dass dies zur Bildung der weiblichen Variante führt. Diese *dsx*-Variante (F) aktiviert jene Differenzierungsgene, die für die weibliche Entwicklung gebraucht werden. Ist jedoch nur ein X in der Zelle vorhanden, verharren *Sxl* und *tra* in einem inaktiven Zustand (AUS). Dies führt dazu, dass aus dem *dsx*-Gen eine männliche Variante (M) hergestellt wird. Diese M-Variante hat die entgegengesetzte Wirkung der F-Variante und aktiviert nur diejenigen Gene, die für die männliche Entwicklung benötigt werden.

Fig. 1.5.1. The sex-determining pathway in *Drosophila*. The pathway consists of three hierarchically arranged levels. The primary signal (instruction), which acts on the top level, is relayed through the genes *Sxl* and *tra* (transduction) to the bottom-most level of the cascade (execution). At this level the gene *dsx* executes the selected developmental program, male or female. The presence of two X-chromosomes (2X) constitutes a female signal and leads to activation of *Sxl* (EIN), which then activates *tra* (EIN). As a result, the gene *dsx* is «spliced» in a mode that produces a female variant (F). This *dsx*-variant (F) will activate only those genes which are required for female development. One X-chromosome in the zygote acts as a male signal, and as a result both *Sxl* and *tra* remain inactive. This leads to expression of a male variant of *dsx* (M) which has the opposite function of the F-variant and activates only genes necessary for male development.

schlüsse über die molekularen Mechanismen der Instruktion, der Übermittlung und der Ausführung. Dazu führte die molekulare Analyse dieser Gene, mit der die Forscher vor allem in den letzten 20 Jahren beschäftigt waren. Nicht sonderlich überraschend war die Entdeckung, dass der Hauptschalter *Sxl* für ein Protein kodiert, das die Aktivität anderer Gene steuern kann. Das SXL-Protein gehört zu einer Familie von Spleissfaktoren, die den Spleissvorgang bei bestimmten Genen regulieren können. Beim **«Spleissen»** werden üblicherweise Abschnitte aus der noch unreifen RNA herausgeschnitten, welche keine codierende Funktion haben. Nur die «gespleisste» mRNA hat ein intaktes Leseraster und kann in ein funktionelles Protein übersetzt (**translatiert**) werden. In gewissen Fällen kann die Aktivität eines Gens auf dieser Ebene reguliert werden. Zum Beispiel braucht es den SXL-Spleissfaktor, um alle nicht-codierenden Abschnitte aus der Vorläufer RNA von *tra* herauszuschneiden (FORCH and VALCARCEL, 2003). Nur so entsteht ein reifes *tra*-mRNA-Produkt, das in ein funktionelles TRA-Protein translatiert werden kann. In Zellen mit einem männlichen Signal (mit nur einem X) wird kein SXL-Protein hergestellt. Dies hat zur Folge, dass die *tra*-RNA nicht vollständig gespleisst wird und keine reife mRNA für die Produktion von TRA-Protein vorhanden ist. Das Vorhandensein von SXL-Protein in der Zelle entscheidet also, ob das *tra*-Gen aktiv ist oder eben nicht. Die Frage stellt sich natürlich, wie denn die Produktion von SXL-Protein gesteuert wird. Das X-Chromosom enthält mehrere Gene, die für die transkriptionelle Aktivierung von *Sxl* benötigt werden. Nur wenn eine ausreichende Menge von diesen Aktivatoren in der Zelle vorhanden sind, kann das *Sxl*-Gen angeschaltet werden und somit die

Produktion von SXL-Protein anlaufen. Dies ist nur der Fall, wenn zwei Genkopien aller Aktivatoren vorliegen, also in XX-Zellen. In einer Zelle mit nur einem X-Chromosom ist nur je eine Genkopie der Aktivatoren vorhanden, und das hat zur Folge, dass die Gesamtmenge der Genprodukte unter einem Schwellenwert bleibt, der für die Aktivierung benötigt wird. Als Folge davon wird das Gen *Sxl* nicht angeschaltet, und die Produktion von SXL-Protein bleibt aus (PARKHURST et al., 1990). Dieses erste Regulationsereignis in der Kaskade findet schon kurz nach der Befruchtung im Blastodermstadium statt und fällt mit dem Zeitfenster der ursprünglich nachgewiesenen Wirkung des Primärsignals zusammen. Das SXL-Protein kann schon zu diesem frühen Zeitpunkt mit einem spezifischen Antikörper nachgewiesen werden (BOPP et al., 1991). Wenn ein Gemisch von frühen Embryonen mit einem rot leuchtenden anti-SXL-Antikörper behandelt wird, so färben sich nur die Hälfte, nämlich die XX-Embryonen (rosa). Die andere Hälfte, die XY-Embryonen, färben sich nicht rötlich, da kein SXL-Protein vorhanden ist (Abb. 1.5.2).

**Seitenblicke: Das Liebesleben von *Drosophila* ist genetisch gesteuert.** Sobald männliche Fliegen auf weibliche treffen, zeigen sie ein Balzritual, wie in Abb. 2.1.1 dargestellt. Das Männchen nähert sich dem Weibchen, schnuppert und tänzelt um es herum und produziert mit seinem vibrierenden Flügel einen «Liebesgesang». Dieser soll das Weibchen gefügig machen. Dieses Balzverhalten ist angeboren, denn auch naive Männchen werden das gleiche Ritual aufführen, ohne dies vorher bei anderen Männchen gesehen und gelernt zu haben. Da nur Männchen, nicht aber Weibchen sich so aufführen, muss dieses Verhalten einer geschlechts-spezifischen Steuerung unterliegen. Genetische

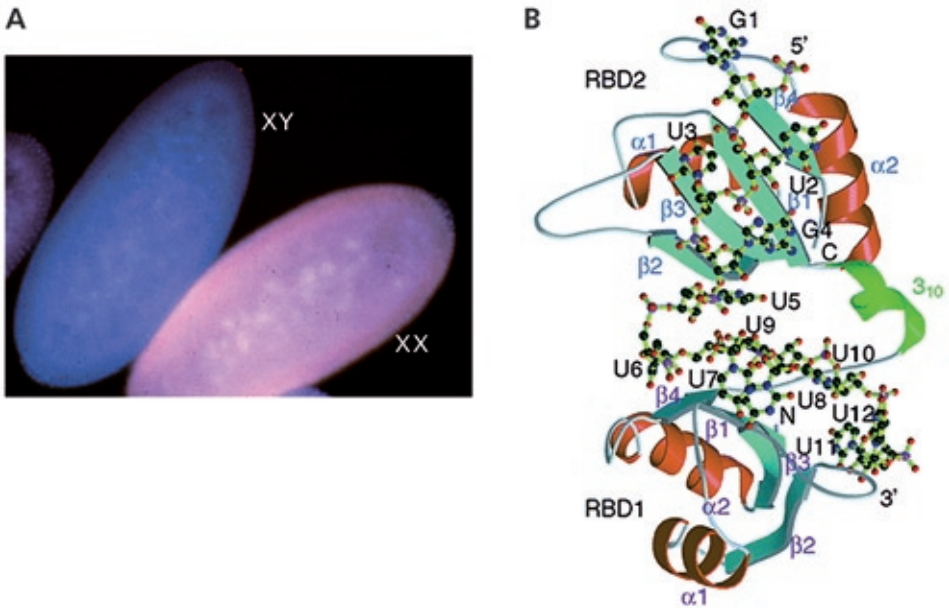


Abb. 1.5.2. Der Hauptschalter *Sxl* ist nur in XX-Embryonen aktiv. (A) Zwei frühe Embryonen von *Drosophila* sind mit einem rot-leuchtenden Antikörper gegen das SXL-Protein behandelt worden. Nur der XX-Embryo erscheint rötlich, da SXL-Protein vorhanden ist. Der XY-Embryo ist nicht rot markiert und erscheint bläulich wegen der Gegenfärbung mit einem blau-leuchtenden DNA Farbstoff. (B) Die dreidimensionale Struktur des SXL-Proteins. Das Protein hat zwei RNA bindende Domänen (RBD1 und RBD2), die sich aus Faltblattstrukturen ( $\beta$ ) und Helices ( $\alpha$ ) bilden und mit einer Erkennungssequenz auf der RNA interagieren, die aus lauter Uridin-Bausteinen besteht.

Fig. 1.5.2. The key switch *Sxl* is only active in XX-embryos. (A) Two early embryos of *Drosophila* have been treated with a red fluorescent antibody against SXL-protein. Only the XX-embryo appears reddish due to the presence of SXL-protein. The XY-embryo is not labelled except for a blue colour due to counterstaining with a blue fluorescent DNA-dye. (B) The three-dimensional structure of SXL-protein. The protein contains two RNA binding domains (RBD1 and RBD2) which are composed of  $\beta$ -sheets and  $\alpha$ -helices that make direct contact with Uridin rich sequences on the RNA.

Studien haben gezeigt, dass der Aktivitätszustand des *tra*-Gens bestimmt, ob die Fliege balzt oder nicht. Nur wenn *tra* ausgeschaltet ist, wird dieses Verhalten während der Entwicklung des Nervensystems festgelegt (Abb. 1.5.3). Man kann das Balzverhalten in Männchen unterdrücken, indem der Experimentator mit speziellen Tricks das *tra*-Gen erst spät in der Entwicklung einschaltet. Es genügt dabei, das *tra*-Gen im Nervengewebe zu aktivieren. Solche Männchen zeigen kein

Interesse an Weibchen und sind deshalb steril. Wenn der Experimentator jedoch das *tra*-Gen im Nervengewebe des Weibchens ausschaltet, balzen diese wie Männchen, wenn sie auf andere Weibchen treffen. Nicht das *dsx*-Gen ist hier das wichtige Zielgen von *tra*, sondern *fruitless* (*fru*). Das *fru*-Gen legt das entsprechende Verhaltensprogramm im Nervensystem fest. Wenn das *tra*-Gen aktiv ist, wird diese Funktion des *fru*-Gens ausgeschaltet. Deshalb können Weibchen nicht balzen.

Ist das *tra*-Gen wie in Männchen ausgeschaltet, ist das *fru*-Gen aktiv, und daher kann das Balzverhalten implementiert werden. Offenbar ist der oben beschriebene lineare Verlauf der Kaskade eine Vereinfachung; für die geschlechts-spezifische Entwicklung des Nervensystems gibt es noch zusätzlich eine Verzweigung unterhalb von *tra* zu *fru* (VILLELLA and HALL, 2008).

## 1.6 Wie machen es die anderen Insekten?

Schon seit mehreren Jahrzehnten ist *Drosophila* ein wichtiges Referenzsystem für genetische und molekulare Studien bei Insekten. Inwieweit lassen sich die Erkenntnisse über die Geschlechtsbestimmung auf andere Insektenarten übertragen? Finden wir, wie ursprünglich von Nöthiger und Steinmann-Zwicky postuliert, die gleiche Art der Signalübertragung auch bei anderen Insektenarten? Sind die gleichen Gene an der Übertragung beteiligt? In den letzten

Jahren sind diese phylogenetisch interessanten Fragen von mehrheitlich Europäischen Forschungsgruppen angegangen worden. Aus evolutiven Überlegungen wurde dabei darauf geachtet, dass bei diesen Untersuchungen möglichst alle Insektenordnungen vertreten sind. Die Ergebnisse dieser Arbeiten zeigen, dass es zum Teil Übereinstimmungen, aber auch klare Unterschiede gibt. Im Folgenden wird ein Überblick über diese Arbeiten gegeben (siehe Abb. 1.6.1).

### 1.6.1 Die Stubenfliege, *Musca domestica*

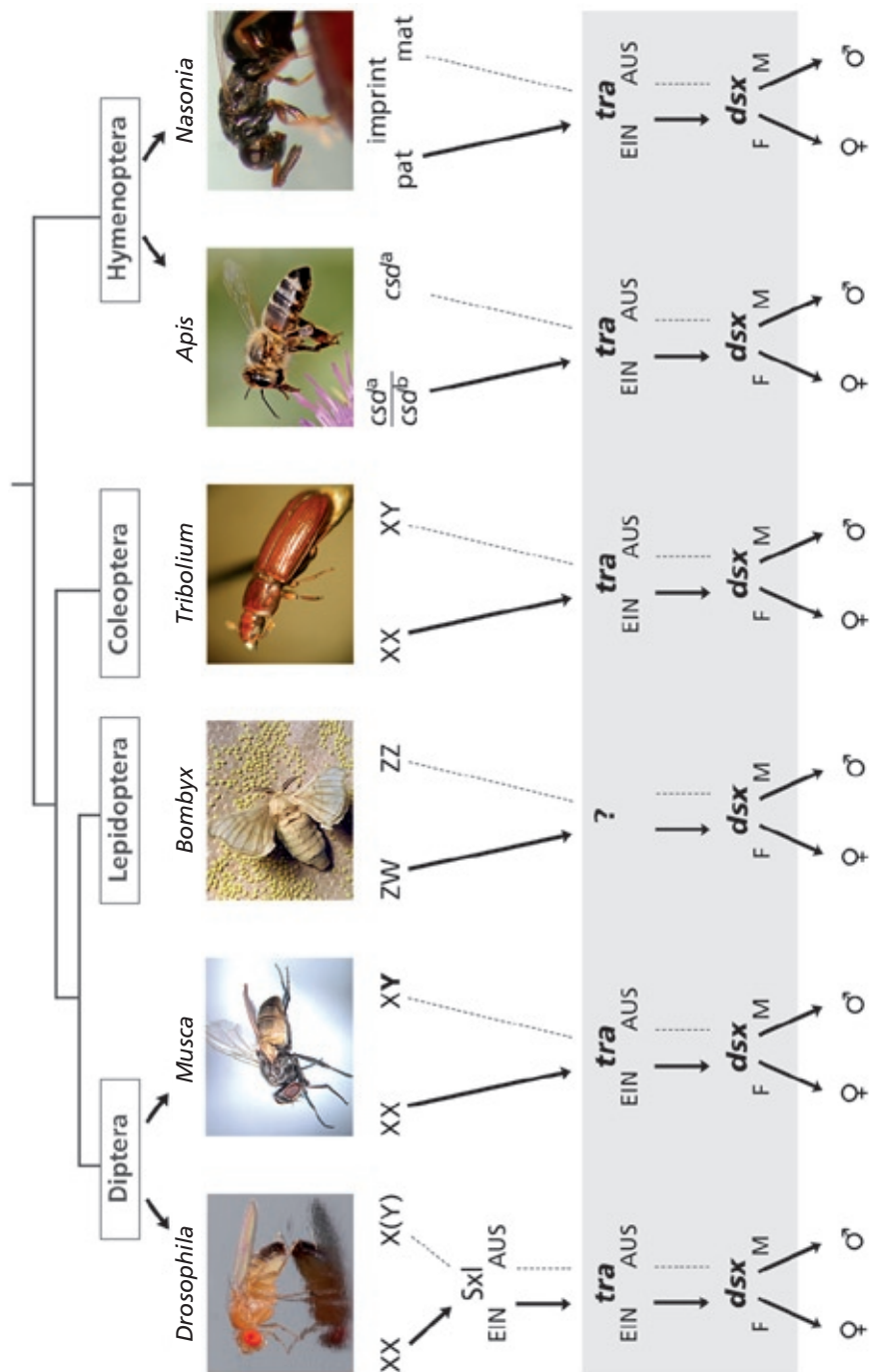
Zwar gehört *Musca* zur gleichen Ordnung der Diptera (Zweiflügler) wie die Taufliege, aber bezüglich der Art des Primärsignals weicht die Stubenfliege entschieden von *Drosophila* ab. In einer Stan-

dardpopulation aus XX-Weibchen und XY-Männchen wird die männliche Identität durch einen männlichen, dominanten Faktor auf dem Y-Chromosom festgelegt und nicht durch die Zahl der X-Chromo-

Abb. 1.6.1. Geschlechtsbestimmende Kontrollwege bei Insekten. In dieser Übersicht sind die Kontrollwege aller bisher untersuchten Insektensysteme und ihre phylogenetische Verwandtschaft aufgeführt. Aus diesem Vergleich geht hervor, dass trotz erheblichen Unterschieden auf der Stufe des Primärsignals (Instruktion), das gleiche Modul für die Über- und Ausführung des Signals benutzt wird. Das *tra*-Gen spielt in allen Fällen eine herausragende Rolle als Hauptschalter, der das Signal interpretiert und die entsprechende Instruktion an das *dsx*-Gen weiterleitet. Es ist deshalb anzunehmen, dass dieser *tra-dsx*-Abschnitt des Kontrollweges schon vor der Divergenz der verschiedenen Hauptordnungen der Insekten als Übermittlungsmodul in der Geschlechtsbestimmung existiert hat.

Fig. 1.6.1. Sex determining pathways in insects. This overview lists the pathways of all hitherto studied insect systems and their phylogenetic relationship. From this comparison it is apparent that, despite considerable differences at the level of the primary signal (instruction), the same module is used for transmission and execution of the signal. The *tra*-gene acts in all cases as the key switch which interprets and relays the selected fate to the *dsx*-gene. Hence, it can be assumed that this *tra-dsx*-part of the cascade already existed as a transduction-module in sex-determination before the main insect orders diverged.





somen. Dieser Faktor *M* kann auch auf Autosomen vorkommen. Genetische Studien haben zudem ein Gen *F* identifiziert, welches, wie *Sxl* in *Drosophila*, als Schaltergen in der Geschlechtsbestimmung wirkt. Eine weibliche Entwicklung folgt, wenn *F* auf «EIN» geschaltet ist, eine männliche, wenn *F* auf «AUS» steht. Aufgrund dieser Befunde wurde postuliert, dass ein vom Spermium übertragenes *M*-Gen die Aktivierung von *F* in der frühen Zygote unterdrückt. Ist in der Zygote kein *M* vorhanden, dann wird *F* durch mütterlich vererbte Faktoren im Ei aktiviert. In diesem System ist also *M* Teil des Primärsignals und *F* das dem Signal untergeordnete Schaltergen (DUBENDORFER et al., 2002). Die molekulare Analyse von *F* hat den überraschenden Befund ergeben, dass *F* nicht dem *Sxl*-Gen von *Drosophila* entspricht, sondern dem *tra*-Gen. Es gibt zwar ein dem *Sxl* ähnliches Gen in der Stubenfliege, aber dieses Gen hat keine nachweisbare Funktion in der Geschlechtsbestimmung! Eine ähnliche Situation liegt in allen anderen bisher untersuchten Insektenarten vor. Ein *Sxl*-Gen ist zwar bei Vertretern aller grossen Insektenordnungen gefunden worden, es hat aber keine Funktion in der Geschlechtsbestimmung. *D. melanogaster* und einige nahe verwandte *Drosophila*-Arten sind die Ausnahme. Man vermutet deshalb, dass die geschlechtsbestimmende Funktion von *Sxl* neuartig ist und phylogenetisch gesehen erst vor kurzem in der *Drosophila*-Linie entstanden sein muss. Hingegen haben das *tra*-Gen und das *dsx*-Gen in *Musca* die gleichen Funktionen in der Übertragung und Ausführung des geschlechtsbestimmenden Signals. *Drosophila* und *Musca* unterscheiden sich offenbar nur in der Art und Weise, wie *tra* reguliert wird. Unsere eigenen Forschungen haben ergeben, dass das *tra*-Gen in *Musca* nicht nur der Schalter

ist, der direkt vom Primärsignal reguliert wird. Dieses Gen wirkt auch als zelluläres Gedächtnis. Das heisst, es übernimmt die gleichen Aufgaben wie *Sxl* bei *Drosophila*. Die frisch abgelesene und unreife RNA des *Musca tra*-Gens wird in Weibchen in eine funktionelle Variante (EIN), in Männchen in einer nicht-funktionellen Variante (AUS) «gespleisst». Für den weiblichen Spleissvorgang braucht es nicht das SXL-Protein, sondern sein eigenes Protein TRA. So kann eine **positive Rückkopplung** entstehen, die fortwährend funktionelles TRA-Protein bereitstellt, damit die weibliche Identität der Zellen erhalten bleibt. Wie wird diese positive Rückkopplungsschleife in Weibchen aktiviert bzw. im Männchen verhindert? Unsere Arbeiten zeigen, dass funktionelles TRA in den Eiern vom mütterlichen Gewebe bereitgestellt wird, um nach der Befruchtung diese Rückkopplungsschleife zu aktivieren (HEDIGER et al., 2010). Wir haben in unserer Sammlung einen *Musca* Stamm, dessen Weibchen wegen einer dominanten *Arrhenogenic* Mutation kein mütterliches TRA-Protein bereitstellen können. Da das *tra*-Gen in den Zygoten durch das Fehlen des mütterlichen TRA-Beistands nicht aktiviert werden kann, sind die Nachkommen dieser mutanten Weibchen alle Männchen. Dieser Stamm funktioniert ähnlich wie jene Insektenarten, bei denen das Geschlecht aufgrund des mütterlichen Genotyps bestimmt wird. Wie entstehen aber Männchen bei normalen Weibchen, die Eier mit eingelagertem TRA-Protein herstellen? Wir vermuten, dass der vom Vater vererbte *M*-Faktor die Aktivierung der *tra* Schleife durch mütterliches TRA-Protein in irgendeiner Art und Weise verhindert. Wird mit einem experimentellen Trick gezielt das *tra*-Gen in der Zygote inaktiviert, entwickeln sich normale fertile Männchen, auch wenn kein *M* vorhanden

ist. *M* hat also nur diese eine Funktion, nämlich die eines «Schlaufen-Brechers», eines «loop breaker». Bis jetzt wurde das *M*-Gen noch nicht molekular identifiziert. Wir wissen also nicht, wie es in diesen Prozess eingreift. Es ist auch nicht sicher, ob es nur einen *M*-Faktor gibt. Es ist denkbar, dass verschiedene Gene mit dieser «loop breaker» Funktion existieren, denn *Musca* *M*-Faktoren wurden auf verschiedenen Chromosomen gefunden. Ein weiterer interessanter Befund bei *Musca* ist das weltweite Auftreten einer dominanten Genvariante von *tra*: *tra<sup>D</sup>*. Dieses Allel ist immer aktiv, auch wenn mehrere *M*-Faktoren vorhanden sind. Fliegen mit dem *tra<sup>D</sup>*-Allel sind deshalb

immer Weibchen. Die molekulare Analyse des *tra<sup>D</sup>*-Allels hat nur kleine Änderungen an bestimmten Stellen in der *tra*-Gensequenz ergeben. Offenbar genügen diese, um das neue *tra<sup>D</sup>*-Allel gegen die repressive Wirkung von *M* resistent zu machen. Dieses Beispiel führt auf sehr anschauliche Weise vor Augen, wie aus einem ursprünglichen System mit einem dominanten männlichen Faktor ein neues mit einem dominanten weiblichen Faktor entstehen kann. Es genügen dazu nur geringfügige Mutationen im Schaltergen. Die Stubenfliege ist deswegen ein geeignetes Modell, an dem sich die Plastizität geschlechtsbestimmender Mechanismen untersuchen lässt.

## 1.6.2 Der Seidenspinner, *Bombyx mori*

*Bombyx* gehört zu den Faltern und damit zur Insektenordnung der Lepidoptera. Phylogenetisch sind die Falter den Dipteren näher verwandt als z. B. den Käfern (Coleoptera) oder den Hautflüglern (Hymenoptera). Die Geschlechtsbestimmung bei *Bombyx* beruht auf dem ZZ-ZW-System, d. h. heterogametische Individuen (ZW) sind weiblich und homogametische Individuen (ZZ) entwickeln sich zu Männchen. Über die Übermittlung des Signals oder über die Identität der Schaltergene ist wenig bekannt. Man hat bisher nur ein *dsx*-ähnliches Gen gefunden, das genau wie bei *Drosophila* und *Musca* die ausführende Instanz am Ende der geschlechtsbestimmenden Kaskade ist. Weiter hat die molekulare Analyse ergeben, dass dieses *Bombyx dsx*-Gen verschiedene Produkte in

Männchen und Weibchen herstellt. Auch in diesem System sind die beiden Protein-Varianten *DSX<sup>M</sup>* und *DSX<sup>F</sup>* Produkte eines geschlechts-spezifischen Spleissvorgangs. Während der nicht-regulierte Zustand in *Drosophila* und *Musca* zur Herstellung von männlichem *dsx*-Produkt, *DSX<sup>M</sup>*, führt, verhält sich das bei *Bombyx* genau umgekehrt (SUZUKI et al., 2003). Man vermutet deshalb, dass der Spleissregulator von *Bombyx dsx* durch ein männliches Signal (ZZ) aktiviert wird und den Spleissvorgang von weiblich (unreguliert) zu männlich ändert. Die molekulare Identität dieses Regulators ist jedoch unbekannt. Das TRA-Protein wurde als möglicher Kandidat ausgeschlossen, da bisher keine Sequenzen im *Bombyx*-Genom gefunden wurden, die dem *tra*-Gen ähnlich sind.

### 1.6.3 Der Reismehlkäfer, *Tribolium castaneum*

Vor drei Jahren hat unsere Forschungsgruppe mit einem neuen Insektenmodell zu arbeiten begonnen, dem Reismehlkäfer *Tribolium castaneum*. Dieser Entscheid hatte verschiedene Gründe. Über die Geschlechtsbestimmung bei Käfern war wenig bekannt, obwohl die Coleoptera die artenreichste Ordnung unter den Insekten ist. Zudem ist *Tribolium* in den letzten Jahren zu einem neuen wichtigen Modell für das Studium entwicklungsrelevanter Prozesse bei Insekten avanciert. Sein Genom wurde vollständig sequenziert und mehrere Techniken für die Analyse von Genfunktionen in *Tribolium* sind entwickelt worden. Wie bei *Drosophila* und *Musca* beruht die Geschlechtsbestimmung bei *Tribolium* auch auf einem XX-XY-System. Hingegen ist bisher nicht eindeutig geklärt worden, ob sich das Primärsignal aus der Zahl der X-Chromosomen oder dem Vorhandensein eines Y-Chromosoms ergibt. Das Vorkommen seltener XO-Weibchen deutet darauf hin, dass das Y-Chromosom wie bei *Musca* eine männliche Determinante enthält. Unsere Arbeiten der letzten zwei Jahre legen nahe, dass die Interpretation des Primärsignals wie auch dessen Übertra-

gung und Ausführung auf der gleichen molekularen Grundlage aufbaut wie bei *Musca*. Als Hauptschalter wird ein *tra*-Gen verwendet. Seine Aktivierung, welche die weibliche Entwicklung einleitet, benötigt die Bereitstellung von mütterlichen TRA-Produkten im Ei. Sobald das *tra*-Gen in der XX-Zygote aktiviert ist, wird dieser Zustand durch eine positive Rückkopplungsschleife während der ganzen Entwicklung aufrechterhalten. In der XY-Zygote wird diese Aktivierung schon sehr früh, innerhalb von Stunden nach der Befruchtung, unterbunden, vermutlich durch einen vom Y übertragenen Faktor. Die Regulation des *tra*-Gens in *Tribolium* scheint bis ins Detail dem in *Musca* vorgefundenen Regulationsmechanismus zu gleichen. Auch bei der Übermittlung des Primärsignals auf die letzte ausführende Ebene ist ein Gen involviert, das strukturell verwandt ist mit dem *dsx*-Gen von *Drosophila*, *Musca* und *Bombyx*. Wir vermuten deshalb, dass dieser Teil der Signalübermittlungskaskade seit mehr als 300 Millionen Jahren, seit Beginn der divergenten Entwicklung der beiden Insektenordnungen Coleoptera und Diptera, gleich geblieben ist.

### 1.6.4 Die Honigbiene, *Apis mellifera*

Die Honigbiene gehört zur Ordnung der Hymenoptera. Sie ist als Universalbe-

stäuber von grosser landwirtschaftlicher Bedeutung. Wie andere soziale Insekten

leben Honigbienen in grossen Gruppen, die hauptsächlich aus sterilen Arbeiterinnen und einem fertilen Weibchen, der Königin, bestehen. Weibchen entwickeln sich aus befruchteten Eiern. Dazu wird die Königin von männlichen Bienen, den Drohnen, besamt. Diese Männchen entstehen aus unbefruchteten haploiden Eiern; sie haben nur das mütterliche Genom. Bei Inzucht können aber aus befruchteten Eiern auch diploide Männchen entstehen. Solche Männchen werden von Arbeiterinnen im Larvenstadium erkannt und eliminiert. Sie werden gefressen! Für die weibliche Bestimmung genügt also der diploide Zustand nicht; das väterliche Genom muss mindestens in einem bestimmten Gen verschieden sein. Dieses Gen wird als *complementary sex determiner (csd)* bezeichnet. Es existieren in der Natur etwa 19 verschiedene Genvarianten (Allele) von *csd*. Ein Tier kann sich nur dann zu einem Weibchen entwickeln, wenn zwei unterschiedliche Allele von *csd* durch Befruchtung zusammenkommen. Das weibliche Primärsignal setzt also eine Kombination von verschiedenen *csd*-Allelen voraus. Ist nur ein *csd*-Allel vorhanden, wie in unbefruchteten haploiden Eiern, oder wenn

durch Inzucht zwei identische *csd*-Allele vorhanden sind, wird dies als männliches Signal interpretiert. Wie wird dieses auf *csd* basierende Primärsignal gelesen und umgesetzt? Martin Beye und seine Mitarbeiter an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf in Deutschland haben entdeckt, dass auch hier ein *tra*- und das *dsx*-Gen für die Übertragung und Ausführung eingesetzt werden. Wie bei *Musca* und *Tribolium* übernimmt das *tra*-Gen bei *Apis* die Rolle eines Hauptschalters, das bei einem weiblichen Signal aktiviert wird (GEMPE et al., 2009). Diese Aktivität wird durch eine positive Rückkopplungsschleife aufrecht erhalten. Nur werden in den Eiern der Honigbiene keine mütterlichen TRA-Produkte eingelagert, um diese Schleife zu starten. Stattdessen braucht es eine Kombination verschiedener CSD-Proteinvarianten, die sich vermutlich zu einem Komplex formieren, der als «jumpstarter» die Schleife in Bewegung setzt. Wenn nur ein Allel oder identische *csd*-Allele in der Zygote vorliegen, kann kein funktioneller CSD-Komplex gebildet werden. Die Schleife wird nicht in Gang gesetzt, *tra* verharrt in einem inaktivem Zustand und es resultieren Männchen.

### 1.6.5 Die Erzwespe, *Nasonia vitripennis*

Die Erzwespe ist ebenfalls ein Vertreter der Hymenopteren, lebt aber nicht wie die Honigbiene in einem sozialen Staat. Diese Wespen sind solitär und brauchen einen Wirtsorganismus für die Entwicklung ihrer Nachkommen. Die Weibchen legen ihre Eier in Puppen verschiedener

Dipterenarten wie z.Bsp. der Vogelblutfliege (*Protocalliphora azurea*). Sind diese Eier befruchtet, entwickeln sich Weibchen im Wirtskörper, wenn nicht, entwickeln sie sich zu Männchen. In der Übertragung und Ausführung der geschlechtsbestimmenden Instruktionen

finden wir das gleiche Prinzip wie oben beschrieben. Ein *tra*-ähnliches Gen spielt auch hier die Rolle des Hauptschalters und übermittelt die gewählte Identität zu einem *dsx*-ähnlichen Gen am Ende der Kaskade. Dieses *dsx*-Gen führt dann das gewählte Programm aus, männlich oder weiblich. Jedoch unterscheidet sich auch dieses System in der Art, wie das *tra*-Gen reguliert wird. Obwohl die geschlechtsbestimmende Strategie derjenigen der Honigbiene gleicht, nämlich aus befruchteten (diploiden) Individuen werden Weibchen, aus unbefruchteten (haploiden) Männchen, gibt es einen grundsätzlichen Unterschied. Inzucht führt nicht, wie bei der Honigbiene, zur Bildung von diploiden Männchen. Die relevante Instruktion beruht nicht auf dem Vorhandensein von *csd*. Ein solches Gen wurde im *Nasonia*-Genom nicht gefunden. Leo Beukeboom und seine Forschungsgruppe an der Universität Groningen in Holland haben neulich herausgefunden, dass hier wieder ein anderes Prinzip der Regulation von *tra* vorliegt. Es beruht auf «**imprinting**». Das väterliche und das mütterliche Genom, die bei der Befruchtung zusammengeführt werden, unterscheiden sich bezüglich der Aktivität bestimmter Gene. Diese Gene sind «imprinted», d. h. ausgeschaltet, je nach dem, ob sie vom väterlichen oder mütterlichen Genom her kommen. Im Falle der Erzwespe wird vermutet, dass jene Gene, welche den *tra*-Schalter in der Zygote aktivieren und damit die Rückkopplungsschleife in Gang setzen, nur aktiv sind, wenn sie vom Vater kommen. Nur wenn durch Befruchtung ein väterliches Genom in die Zygote übertragen wird, wird *tra* aktiviert, und es folgt die weibliche Entwicklung. Ist das Ei nicht befruchtet, sind nur die mütterlichen Kopien dieser Gene vorhanden. Da diese «imprinted» sind, können

sie das *tra*-Gen nicht aktivieren, und es folgt die männliche Entwicklung. Es ist jedoch noch nicht klar, welche Gene vom «imprinting» betroffen sind. Man vermutet, dass es sich um das *tra*-Gen selbst handeln könnte, da *tra* auch in der Erzwespe eine selbstregulierende Funktion innehat (VERHULST et al., 2010).

## 1.7 Überlegungen zur Evolution geschlechtsbestimmender Mechanismen. Das Sanduhrmodell

Wie aus der Zusammenstellung in der Abb. 1.6.1 hervorgeht, gibt es trotz der Vielfalt von unterschiedlichen Signaltypen bei allen bisher untersuchten Insekten systemen eine gemeinsame Basis für die Signalübertragung. Diese besteht aus einem konservierten Signalempfänger, dem *tra*-Gen, und einem konservierten Exekutor, dem nächsten Gen im Kontrollweg, *dsx*, wobei letzteres das entsprechende Entwicklungsprogramm, männlich oder weiblich, implementiert und ausführt. Es ist die globale Wirkung des *dsx*-Gens, durch die letztlich die in Kapitel 1.1 besprochenen Dimorphismen entstehen. Man weiss wenig über die von *dsx* regulierten Differenzierungsgene, geht aber davon aus, dass es viele sind, vermutlich an die Hunderte, die für die korrekte Umsetzung benötigt werden. Die vielen unterschiedlichen Typen von sexuellen Ausprägungen im Insektenreich deuten darauf hin, dass nicht immer die gleichen Gene von *dsx* reguliert werden. Im Verlauf der stammesgeschichtlichen Entwicklung verschiedener Insektenarten sind vermutlich neue Gene dazugekommen und andere verlorengegangen. Unterhalb von *dsx* könnte eine Vielfalt existieren, die derjenigen auf der Instruktionsebene oberhalb von *tra* gleicht. Nur das Herzstück dieses Kontrollweges, die Verbindung zwischen Instruktion und Ausführung, ist unverändert geblieben. Dieses *tra*-*dsx*-Modul könnte ein ursprüngliches Prinzip der Signalübertragung verkörpern, das schon existierte, bevor sich die Hauptordnungen der Insekten im Verlauf der Evolution getrennt haben. Hingegen

können, wie aus Abb. 1.7.1 ersichtlich, die beiden Enden variabel sein.

Vielleicht erlaubt diese Plastizität eine bessere Anpassung an die sich immerwährend verändernden Umwelt- und Lebensbedingungen. Viele über Signale regulierte Prozesse in der Biologie zeigen einen ähnlichen Aufbau, wie z. B. Wachstum und Organbildungen. Ein und dasselbe Übertragungsmodul kann benutzt werden, um diverse Signale weiterzuleiten. Je nach Kontext lösen die Signale in verschiedenen Zelltypen verschiedene Programme der Zelldifferenzierung aus, obwohl sie vom gleichen Übertragungsmodul weitergeleitet wurden. Generell haben solche Kontrollwege den Aufbau einer Sanduhr: nach oben und unten offen, während der konservierte Mittelteil dem Hals der Sanduhr entspricht (Abb. 1.7.1).

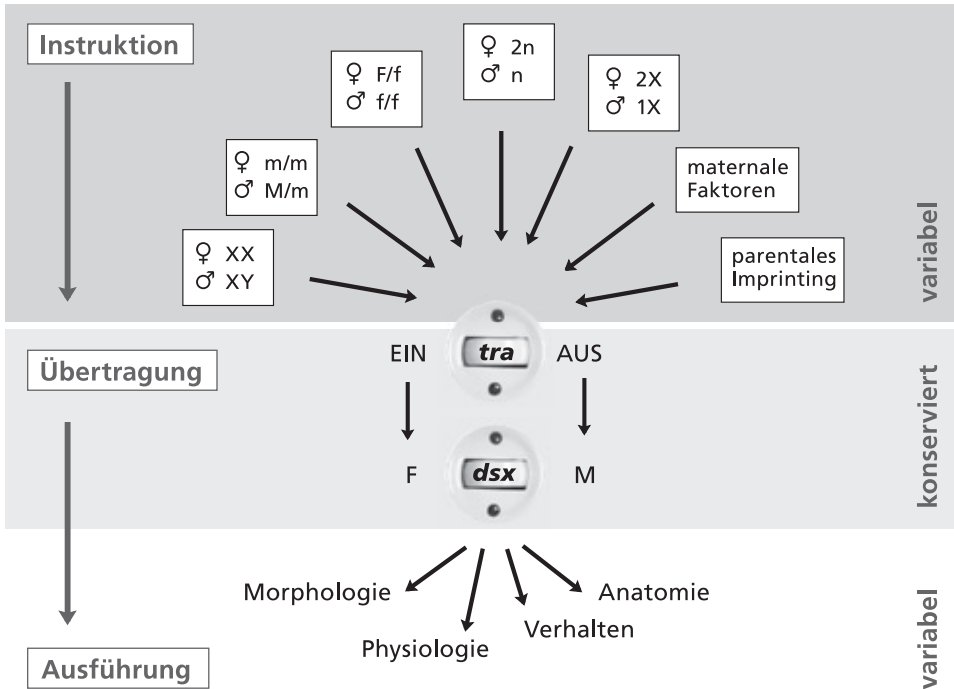


Abb. 1.7.1. Generelles Prinzip der Geschlechtsbestimmung. Das Sanduhrmodell. Wir postulieren, dass die Geschlechtsbestimmung bei Insekten auf einem konservierten Mechanismus beruht, der aus einem gemeinsamen Signalübersetzer, dem *tra*-Gen, und einem gemeinsamen Vollstrecker, dem *dsx*-Gen, besteht. Dieses Übertragungsmodul bildet das ursprüngliche Kernstück des Kontrollweges. Im Verlaufe der Evolution haben sich die Primärsignale, welche *tra* regulieren, durch Modifikation und Selektion verändert. Aber nicht nur auf dieser Stufe sind Veränderungen aufgetreten. Da die dimorphe Entwicklung bei verschiedenen Insektenarten unterschiedliche Auswirkungen auf Aussehen, Anatomie, Physiologie oder Verhalten haben kann, ist anzunehmen, dass nicht immer die genau gleichen Sets von Differenzierungsgenen vom *dsx*-Gen reguliert werden. Wir gehen deshalb davon aus, dass eine divergente Evolution nicht nur oberhalb des *tra*-Gens auf der Stufe seiner Regulation, sondern auch unterhalb des *dsx*-Gens stattgefunden hat. Der Kontrollweg setzt sich somit aus einem konservierten Übertragungsteil (Mitte) und einem je variablen Instruktionsteil (oben) und Ausführungsteil (unten) zusammen.

Fig. 1.7.1. General principle of sex determination. The hour-glass model. We postulate that sex determination in insects is based on a conserved mechanism, which consists of a common signal interpreter, the *tra*-gene, and a common executor, the *dsx*-gene. This transduction module constitutes the ancestral core of the pathway. In the course of evolution the upstream primary signal, which controls *tra*, diversified by modification and selection. However, modifications occurred not only at this level of the pathway. Since dimorphic development affects morphology, anatomy, physiology and behavior differently in different insect species, it can be assumed that not the same sets of differentiation genes are controlled by *dsx*. We expect that not only *tra*-regulation was subjected to divergent evolution but also regulatory events downstream of *dsx*. We conclude that the pathway is composed of a conserved transduction part (middle) and variable instruction (top) and execution parts (bottom), respectively.



## 2 DAS SEX-PEPTID VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

### 2.1 Das Begattungsritual und die Begattungsreaktionen

Fortpflanzungsfähige Nachkommen entstehen in der Regel nur durch Begattungen zwischen Weibchen und Männchen der gleichen Art. Werden Eier mit Spermien einer anderen Spezies besamt, so steht die Entwicklung nach einigen Zellteilungen still. Damit dies nicht geschieht, gibt es auf verschiedenen Ebenen Barrieren. Solche Barrieren können Art-spezifische **Pheromone** sein (häufig ein «Parfüm», das das andere, Art-gleiche Geschlecht über weite Distanzen anlocken kann), das spezifische Werbeverhalten der beiden Geschlechter, anatomische Besonderheiten der Geschlechtsorgane, physiologisch-biochemische Sperren und anderes. Passen die Signale auf den unterschiedlichen Stufen nicht zusammen, wird der Vorgang unterbrochen.

Bei *Drosophila melanogaster* ist das Begattungsverhalten und dessen Genetik intensiv untersucht worden (siehe auch Kapitel 1.5, «Seitenblicke»; KUBLI, 2003). In Abb. 2.1.1 ist das Werberitual schematisch dargestellt. Wird die Reihenfolge der einzelnen Schritte nicht eingehalten, so muss wieder am Start begonnen werden. Der «Gesang» des Männchens, das heisst die Frequenz des Flügelschlags, ist artspezifisch und durch das Gen *period* festgelegt. Bei *Drosophila* schwirrt das Männchen nur mit einem Flügel, bei anderen Arten mit beiden. «Transplantiert» man das Gen *period* in eine andere Art (deren eigenes *period*-Gen

ausgeschaltet ist), so wird der Gesang der Herkunftsart des Gens gesungen! Bei *Drosophila melanogaster* hört sich ein Liebesgesang etwa so an: Trrrt – tät tät – Trrrt – tät tät usw. (Abb. 2.1.1). Für uns weder melodisch noch romantisch, aber Fliegen-Weibchen sprechen darauf an, und zwar sehr selektiv. Eine Begattung innerhalb weniger als einer Minute ist die Folge.

Von Markus Noll und Mitarbeitern wurde an der Universität Zürich die komplexe Logik der Interaktionen zwischen den beiden Geschlechtern ausführlich beschrieben (KRSTIC et al., 2009). Für das Auslösen des Werbeverhaltens des Männchens braucht es die Integration von vielen verschiedenen Reizen. Nicht nur die Wahrnehmung visueller, olfaktorischer und gustatorischer Signale des Weibchens, sondern auch Umwelteinflüsse wie Licht spielen dabei eine wichtige Rolle.

Unbefruchtete (virginelle), sexuell reife Weibchen zeigen ein typisches Verhalten: Sie legen wenig Eier und sie willigen rasch in eine Begattung ein, ihre **Rezeptivität** (Bereitschaft zur Begattung) ist gross. Beides ist biologisch sinnvoll. Denn: Legen virginelle Weibchen Eier, sind diese dem Untergang geweiht, da sie nicht befruchtet sind. Das heisst, um Nachkommen zu produzieren, muss ein geschlechtsreifes Weibchen möglichst rasch begattet werden. Nach der Begattung ändert sich das reproduktive Ver-

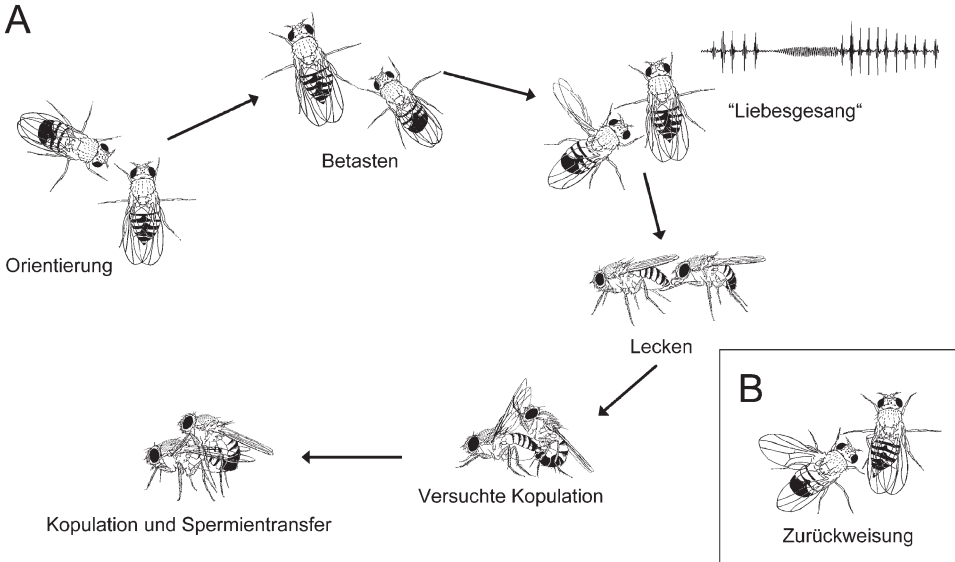


Abb. 2.1.1. Das Begattungsritual von *D. melanogaster*. (A) Das Werberitual des Männchens. Im Liebesgesang des Männchens wechselt ein «Sinusgesang» ab mit einem «Pulsengesang». Siehe auch: <http://cshprotocols.cshlp.org/cgi/content/full/2007/20/pdb.prot4847> mit Protokoll und Video. (B) Abwehrverhalten eines begatteten Weibchens. Beachte den ausgestülpten Eilegeapparat. Nach S. Goodwin.

Fig. 2.1.1. Mating ritual of *D. melanogaster*. (A) Courtship of the male. In the love song of the male the «sine song» alternates with the «pulse song». See also: <http://cshprotocols.cshlp.org/cgi/content/full/2007/20/pdb.prot4847> with protocol and video. (B) Rejection behavior of a mated female. Notice the extrusion of the ovipositor. Adapted from S. Goodwin with permission.

halten eines Weibchens drastisch. Die Eilegerate steigt dramatisch an (bis 80 Eier pro Tag), und ihre Bereitschaft zur Begattung wird stark reduziert. Diese beiden **Begattungsreaktionen** dauern bei *Drosophila melanogaster* etwa eine Woche. Dann tritt der «virginelle Zustand» wieder ein: Das Weibchen ist bereit für eine erneute Begattung, und die Eilegerate sinkt wieder auf das virginelle Niveau. Bei der Auslösung der Begattungsreaktionen spielt das **Sex-Peptid (SP)** eine wichtige Rolle. Dazu aber mehr in Kapitel 2.3 und den darauf folgenden Kapiteln.

Wiederum sind diese von der Begattung ausgelösten reproduktiven Verhaltens-

änderungen der Weibchen biologisch sinnvoll. Sind Spermien vorhanden, gilt es möglichst viele Eier zu befruchten und sie auch abzulegen. Zusätzliche Begattungen wären unnütz. Sie würden nur von der jetzt auch gesteigerten Nahrungsaufnahme ablenken, die für den Nachschub an Eiern im Ovar wichtig ist. Während der Kopulation übertragen die Männchen so genannte «repellents», für *Drosophila* übelriechende Kontakt-Pheromone, die die anderen Männchen von Annäherungsversuchen an das Weibchen abhalten. Die Eier werden von den Weibchen nur an ausgesuchten Orten, meist überreifen Früchten, abgelegt, was die Überlebenschancen der Nach-

kommen verbessert. Wenn weibliche Novizen auf einer reifen Frucht landen, auf der bereits Eier von anderen Weibchen gelegt worden sind, bevorzugen sie diese Frucht für die eigene Eiablage gegenüber anderen ebenfalls geeigneten Früchten. Es wird also kein Risiko eingegangen.

**Seitenblicke:** Gibt es Liebe auf den ersten Blick? Wir Menschen sind davon überzeugt. Bei *Drosophila* wurde dies wissenschaftlich untersucht. Zumindest sind bei Taufliegen einige Weibchen und Männchen kompatibler als andere Paare. Die Weibchen scheinen vor der Begattung eine Art «priming» zu erfahren. Dies führt dann zur Paarung mit bevorzugten Männchen. Dies spielt eine wichtige Rolle bei der Auswahl der Partner, dem Ergebnis einer Begattung und dem zukünftigen reproduktiven Verhalten. Unerfahrene Weibchen können auch von erfahrenen lernen.

Welche grosse Rolle die Pheromone bei der Erkennung der Geschlechter spielen, zeigen Mutationen in einem einzigen Gen, *Gr32a*, das von Hubert Amrein und seiner Gruppe an der Duke University untersucht wurde. Diese Mutationen führen zu einer vollständigen Desorientierung des männlichen Werbeverhaltens. Ein für dieses Geschmacks-Gen defektes Männchen kann die unterschiedlichen Pheromone von Weibchen und Männchen nicht mehr wahrnehmen. Als Folge davon werben sie um Weibchen, die bereits kopuliert haben, aber ebenso um Männchen. Diese chemischen Aussensignale werden direkt mit höheren Schaltstellen im Gehirn der Fliege verbunden. Schaltet man andererseits bestimmte Pheromone produzierende Gene aus, so löst dies richtige Begattungsorgien aus. Als Folge davon werden mutante Tiere beiderlei Geschlechts derart unwiderstehlich, dass sie auch von **Wildtyp**-Männchen umworben werden (Wildtyp: unveränderte, ursprünglich aus der «freien Natur»

isolierte Stämme; sie dienen als Standard). Dabei gehen die üblicherweise vorhandenen Artgrenzen verloren. Wildtyp-Männchen begatten artfremde Weibchen, die sie normalerweise keines Blickes würdigen. Diese Befunde zeigen, wie wichtig diese chemischen Mechanismen für das Sozialverhalten und für die Arterhaltung sind.

Allerdings: wer zu sexy ist, hat weniger Nachwuchs! Grosse Taufliegen-Weibchen, die dadurch besonders attraktiv für das andere Geschlecht sind, werden durch die aggressiven Werbeversuche der Männchen an der Fortpflanzung gehindert. Sie werden unsanft zur Begattung gezwungen und erleiden dadurch häufig physische Schäden. Über-grosse sexuelle Attraktivität kann sich also negativ auf die **Fitness** auswirken (Fitness: genetische Eignung. Misst sich am Beitrag, den ein Individuum am Genbestand zukünftiger Generationen leistet).

## 2.2 Der Lebenslauf einer Taufliege

Bevor wir uns dem Sex-Peptid zuwenden, wollen wir kurz auf den Lebenszyklus von *Drosophila melanogaster* eingehen. Er dauert bei 25°C ungefähr 10 Tage (Abb. 2.2.1). Im frisch gelegten Ei entwickelt sich während 24 Stunden ein Embryo, der noch in der Eihülle zur Larve heranwächst. Nach dem Schlüpfen der kleinen Larve wird während 4–5 Tagen vor allem Nahrung aufgenommen. Das Larvenstadium dient dem Grössenwachstum. Nach drei Häutungen wird das Puppenstadium erreicht. Anschliessend folgt eine Phase des drastischen morphologischen Umbaus in der Puppe. Gut geschützt durch eine feste Kutikula formt sich aus der Larve ein adultes Tier. Dabei werden einige Gewebe erhalten, der grössere Teil der larvalen Organe

wird aber ab- oder umgebaut. Einige Organe werden aus Vorläuferzellen neu geformt. Nach etwa 5 Tagen schlüpft das Adulttier, das nach weiteren 1–2 Tagen geschlechtsreif wird. Damit hat sich der Zyklus geschlossen. Da die Puppe ein abgeschlossenes System darstellt, erfolgt in diesem Stadium kein Grössenwachstum mehr. Kleine und grosse Fliegen sind daher das Resultat unterschiedlicher Nahrungsaufnahme im Larvenstadium. Fliegen können nicht mehr wachsen! Durch Erhöhung bzw. Erniedrigung der Zuchttemperatur kann man die Entwicklung beschleunigen oder verlangsamen (über 28° werden die Fliegen allerdings steril, bzw. sie sterben bei noch höheren Temperaturen).

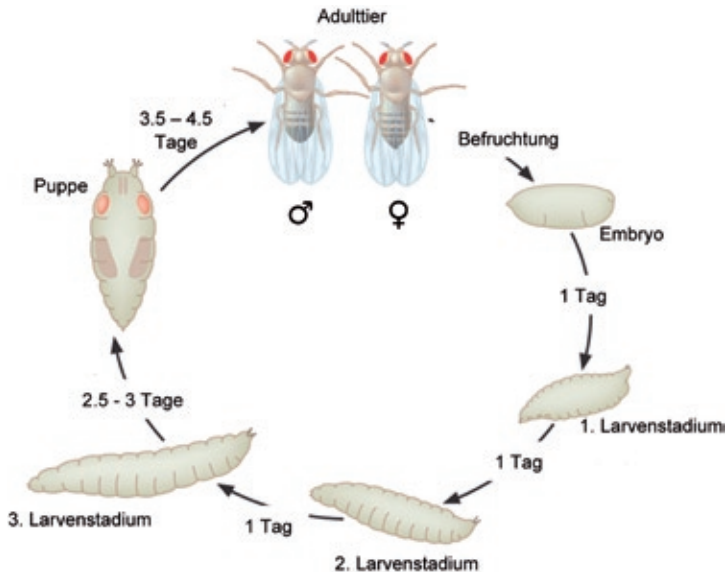


Abb. 2.2.1. Der Lebenszyklus von *D. melanogaster*. Der Zyklus dauert bei 25°C etwa 10 Tage.  
Fig. 2.2.1. The life cycle of *D. melanogaster*. At 25°C the cycle lasts about 10 days.

## 2.3 Das Sex-Peptid

Die Reproduktionsorgane beider Geschlechter enthalten eine ganze Reihe von Drüsen und Geweben, deren Produkte eine wichtige Rolle bei der Fortpflanzung spielen (WOLFNER et al., 2005). Diese Substanzen wirken unterschiedlich, und sie sind für eine erfolgreiche Fortpflanzung häufig essentiell. Die männlichen Organe (Abb. 2.3.1B) produzieren verschiedenartige Moleküle, die bei der Begattung übertragen werden. Im Weibchen lösen sie Reaktionen aus, die häufig Fitness-steigernd für beide Geschlechter sind, manchmal aber auch nur für eines. Die weiblichen Drüsen produzieren Substanzen für die Speicherung der Spermien, die auch eine Fusion mit dem Ei erleichtern und die Eier beschützen und die möglicherweise mit Komponenten der Samenflüssigkeit interagieren.

Dass Männchen bei der Auslösung der beiden Begattungsreaktionen eine Rolle spielen, wurde schon vor langer Zeit vermutet. Systematisch untersucht wurde das Phänomen aber erst vor 50 Jahren, unter anderem auch in Zürich. Hans Kummer hat als erster postuliert, dass bei der Kopulation übertragene Substanzen der männlichen akzessorischen Drüsen in den Weibchen die Begattungsreaktionen auslösen (Abb. 2.3.1B; KUMMER, 1960). Durch Transplantationsversuche von männlichen Organen in das Abdomen virgineller Weibchen wurde gezeigt, dass nur eine Transplantation von akzessorischen Drüsen, nicht aber diejenige isolierter Hoden, zu einer Erhöhung der Eilegerate führt. Dies war der Ausgangspunkt für eine molekulare Identifizierung der diesem Phänomen zu Grunde liegenden Moleküle.

Die Erforschung der molekularen Grundlagen der Vererbung in den letzten 60 Jahren hat für die biologische Forschung Möglichkeiten eröffnet, die noch vor wenigen Jahrzehnten nur Wunschträume waren. Ein elementares Verständnis dieser Techniken ist daher unumgänglich, will man die Ergebnisse der modernen Biologie verstehen. Wir verweisen nochmals auf das in der Einleitung empfohlene Buch von Henderson (2010), das in kurzen Kapiteln wichtige Begriffe und Prozesse der Molekularbiologie vorstellt. Da die biochemische Analyse wesentliche Einblicke in die Funktion der bei der Begattung übertragenen männlichen Substanzen erlaubt hat, wird in diesem Kapitel auch die Biochemie eine Rolle spielen. Das Verständnis der folgenden Kapitel ist aber davon nicht abhängig.

Wir werden einige Fliegenstämme kennen lernen, die gentechnisch verändert worden sind. Dabei handelt es sich um so genannte **transgene Stämme**, Fliegen, in denen die Erbinformation experimentell verändert wurde. Sie können ein für das Sex-Peptid (SP, mehr über das SP gleich unten), für ein anderes Protein oder ein für ein Fusionsprodukt codierendes Gen enthalten, dessen Aktivierungsregion ausgetauscht wurde. Die codierende Region kann der Wildtyp-Sequenz entsprechen oder in der Sequenz verändert sein. Damit können Gene auch «willkürlich» ein- und ausgeschaltet werden. So kann man zum Beispiel durch Fusion eines SP-Gens mit einem für ein grün fluoreszierendes Protein codierenden Gen (GFP: Green Fluorescent Protein) den Synthesort des SP in den akzessorischen Drüsen lokalisieren.

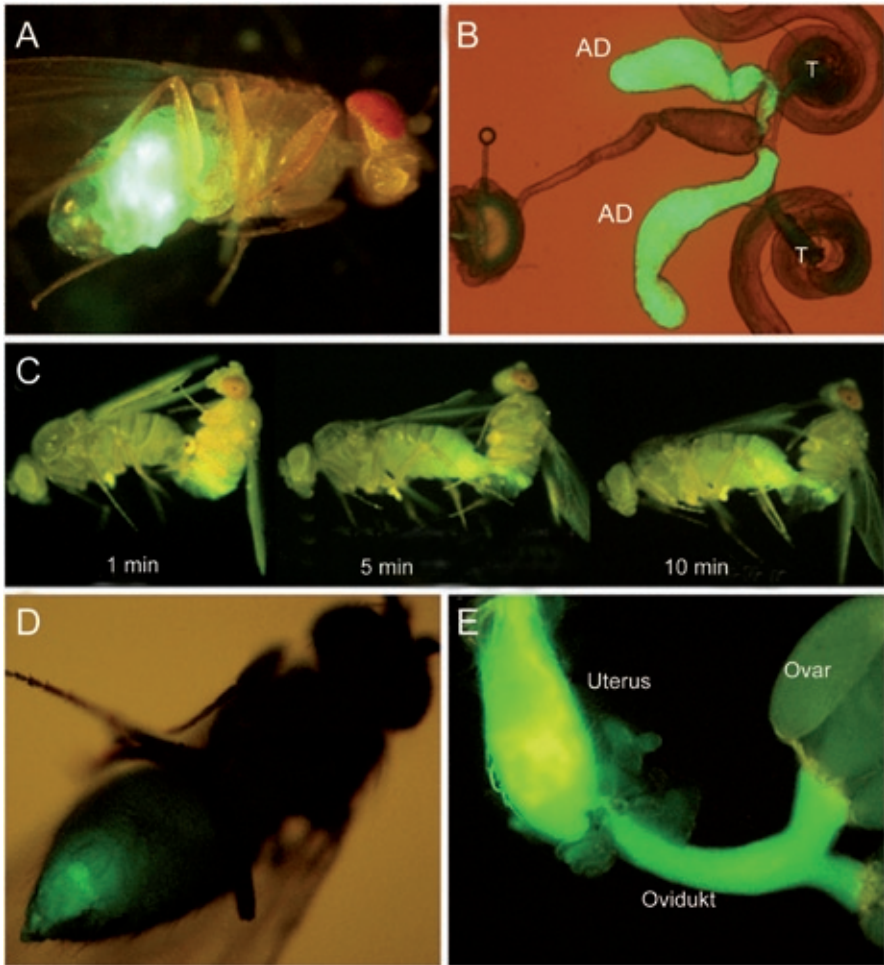


Abb. 2.3.1. Transgene Männchen, die ein SP-GFP-Fusionsprotein in den akzessorischen Drüsen synthetisieren. Das GFP (green fluorescent protein) leuchtet unter einer Fluoreszenzlampe grün (bei hohen Konzentrationen weiss). (A) Das SP-GFP wird im Abdomen des Männchens produziert. (B) Sezierter Genitalapparat eines transgenen Männchens. Das SP-GFP wird in den akzessorischen Drüsen (AD) synthetisiert. T=Testes. (C) Das SP-GFP wird während der Begattung in das Weibchen übertragen. (D) Begattetes Weibchen. Das grün leuchtende Protein befindet sich nun im Abdomen des Weibchens. (E) Sezierter weiblicher Genitalapparat. Das SP-GFP akkumuliert im Uterus. Nach T. Aigaki.

Fig. 2.3.1. Transgenic males synthesising SP-GFP-fusion protein in the accessory glands. GFP (green fluorescent protein) appears green (at high concentrations white) under a fluorescent lamp. (A) The SP-GFP is synthesised in the male abdomen. (B) Dissected male genital tract. SP-GFP is synthesised in the accessory glands (AD). T=testes. (C) During copulation the SP-GFP is transferred into the female. (D) Mated female. The green fluorescent protein is now found in the abdomen of the female. (E) Dissected female genital tract. SP-GFP accumulates in the uterus. Adapted from T. Aigaki with permission.

ren (Abb. 2.3.1). Auch die Übertragung des Fusionprodukts bei der Kopulation kann damit direkt verfolgt werden. Nach

der Begattung ist das grün leuchtende Produkt im Uterus des Weibchens lokalisiert.

## 2.3.1 Die Entdeckung des Sex-Peptids

Erleichtert wurde dieser Schritt durch eine vergleichende Analyse von Aminosäuren und Peptiden (kurze Proteine) beider Geschlechter im Labor von Pei Shen Chen an der Universität Zürich. Dabei wurde von Allen S. Fox ein Peptid entdeckt, das nur in männlichen Extrakten zu finden war (Fox et al., 1959). Um dieses Geschlechtsspezifische Vorkommen zu unterstreichen, erhielt es den Namen **Sex-Peptid (SP)**. Basierend auf diesen Befunden und den Resultaten der Transplantationsversuche wurde aus hunderten von akzessorischen Drüsen dieses Peptid isoliert, charakterisiert und sequenziert (CHEN et al., 1988; Abb. 2.3.2A). Das Sex-Peptid ist ein aus 36 Aminosäurebausteinen aufgebautes Peptid, das auch einige modifizierte Aminosäuren enthält (u.a. Hydroxyprolin, ein Prolin mit einer Hydroxylgruppe. Wir werden dieser Aminosäure in Kapitel 1.9 wieder begegnen). Die Analyse der für das SP codierenden messenger-RNA (mRNA) ergab, dass das SP über einen Vorläufer von 55 Aminosäuren synthetisiert wird. Bei der Reifung werden 19 Aminosäuren des vorderen, N-terminalen Endes des Vorläuferpeptids abgespalten, sie sind im reifen Peptid nicht mehr enthalten (für Details siehe Abb. 2.3.2C). Kurze Zeit später wurde das SP-Gen isoliert (STYGER, 1992).

Injektion des isolierten Peptids in physiologischen Mengen in die Bauchhöhle virgineller Weibchen löst beide Begattungsreaktionen aus. Dies entspricht etwa derjenigen Menge SP, die bei einer Begattung übertragen wird. Dies zeigt auch, dass das SP allein genügt, um diese Reaktionen auszulösen. Auch dies konnte durch Gentechnik bestätigt werden. Eine DNA-Kopie der SP-m-RNA wurde in das *Drosophila* Genom eingeschleust. Diese DNA wurde *in vitro* dermassen massgeschneidert, dass sie nur im Fettkörper des Weibchens aktiviert wird (entspricht der Leber der Wirbeltiere). Derartige transgene Weibchen des **G10**-Stammes synthetisieren das SP in ihrem Fettkörper und sezernieren das Peptid in die Hämolymphe (Notiere: im «Normalfall» wird SP nur im Männchen in den akzessorischen Drüsen synthetisiert. Weibchen kommen mit dem Peptid erst nach der Begattung in Kontakt). Die Folgen sind dramatisch: Virginelle G10-Weibchen beginnen in Massen Eier zu legen und wollen nicht mehr kopulieren! Die gelegten Eier sterben aber alle ab, da keine Spermien zur Befruchtung vorhanden sind. Auch kann dieser transgene Stamm sich nur unter Massenhaltung fortpflanzen: Denn nur dann sind die werbenden Männchen erfolgreich, da sich die Weibchen dauernd vehement gegen eine Begattung wehren. Diese







Gene gezielt aus dem Genom zu eliminieren (**Knock-out Fliegen**). Wendet man dieses Verfahren auf das SP-Gen an, so

zeigt sich, dass die Begattungsreaktionen fast ganz eliminiert werden (Abb. 2.3.3; LIU und KUBLI, 2003). Nur ein kleiner Rest bleibt übrig, der auf die Übertragung anderer Peptide der akzessorischen Drüsen zurückgeführt wird (siehe «Seitenblicke»). Damit ist eindeutig gezeigt, dass das SP für den wesentlichsten Teil der Reaktionen notwendig ist.

Das Sex-Peptid spielt also bei der Reproduktion von *Drosophila* eine zentrale Rolle. Zu welcher biologischen Klasse von Substanzen gehört das SP? Da es im Männchen synthetisiert wird, aber im Weibchen seine Wirkung hat, ist es nach der Klassifikation von Karlson und Lüscher ein Pheromon, genauer ein Sexualpheromon. Als Peptid ist es aber nicht flüchtig wie die meisten Pheromone, ist also kein Geruchsstoff. Das heisst, dass das SP auf die physische Übertragung durch das Männchen bei der Begattung angewiesen ist. Es ist ein «Kontakt»-Sexualpheromon.

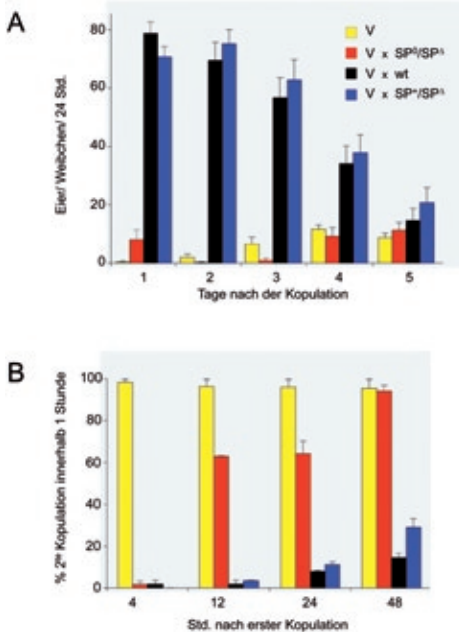


Abb. 2.3.3. Begattungsreaktionen von Wildtyp-Weibchen nach Kopulation mit SP<sup>0</sup>-Männchen. Wird kein SP übertragen, so ist die Stimulation der Oviposition gering (A), und eine Reduktion der Rezeptivität findet nur in den ersten Stunden nach der ersten Begattung statt (B). Im Rezeptivitätstest werden Weibchen nach einer 1. Kopulation erneut Wildtyp-Männchen ausgesetzt (2. Kopulation). Der Prozentsatz erneuter Kopulationen innerhalb einer Stunde wird als % Rezeptivität angegeben. 100%: Alle Weibchen haben nochmals kopuliert. Gelb: virginelle Weibchen (V); Rot: Weibchen nach Begattung mit Männchen-SP<sup>0</sup>/SP<sup>A</sup> (SP<sup>A</sup> ist eine Deletion für das SP-Gen. Sie ist homozygot letal); Schwarz: Weibchen nach Begattung mit Männchen Wildtyp; Blau: Weibchen nach Begattung mit heterozygoten Männchen. Diese Männchen induzieren die Begattungsreaktionen wie Wildtyp-Männchen. Das heisst, dass eine Wildtyp-Kopie des SP-Gens genügt, um eine volle Reaktion zu induzieren. Die restliche Aktivität bei Begattungen durch SP<sup>0</sup>/SP<sup>A</sup>-Männchen ist auf das Peptid DUP99B zurückzuführen (Kapitel 2.3.2, Seitenblicke).

Fig. 2.3.3. Postmating responses of wildtype-females after mating with SP<sup>0</sup>-males. Without transfer of SP stimulation of oviposition is low (A) and reduction of receptivity only occurs in the first few hours (B). For the receptivity test mated females are confronted with new males (2<sup>nd</sup> copulation). Receptivity is expressed as % remating. 100%: all females remated. Yellow: virgin females (V); red: females after mating with SP<sup>0</sup>/SP<sup>A</sup>-males (SP<sup>A</sup> is a deletion for the SP-gene. SP<sup>A</sup> is homozygous lethal); black: females after mating males wildtype; blue: females after mating with heterozygote males. These males induce the postmating responses to the same extent as wildtype males. I.e. one copy of the SP-gene is sufficient to elicit a full response. The remaining activity after matings with SP<sup>0</sup>/SP<sup>A</sup>-males is due to the peptide DUP99B (chapter 2.3.2, Seitenblicke).

## 2.3.2 Struktur-Funktionsbeziehungen Teil I

Untersuchungen über den Zusammenhang von Struktur und Funktion eines Moleküls können sehr hilfreich sein, um die detaillierte Funktionsweise und die involvierten Signalkaskaden aufzuklären. Dies gilt vor allem am Anfang eines Forschungsprojekts, wenn einige Wirkungen eines Moleküls bekannt sind, diese aber untereinander nicht unmittelbar einsichtig zusammenhängen. Wir haben daher schon in den 70er Jahren in Hinblick auf die beiden damals bekannten Begattungsreaktionen eine «molekulare Zerlegung» des SP vorgenommen. Das Sex-Peptid und ausgewählte kürzere Fragmente wurden synthetisch hergestellt, in virginelle Weibchen injiziert und diese auf die beiden Reaktionen getestet. Abbildung 2.3.2B zeigt die Ergebnisse. Es lässt sich festhalten: (1) das vollständige synthetische Peptid löst beide Reaktionen aus; (2) alle Peptide lösen entweder beide Reaktionen aus oder sie sind inaktiv; (3) die 7 N-terminalen Aminosäuren können fehlen, trotzdem werden die beiden Reaktionen ausgelöst; (4) sehr kleine C-terminale Fragmente sind nicht funktionell. Man kann daraus schliessen, dass die synthetische Herstellung des SP funktioniert hat und dass synthetische Peptide *in vivo* wirken. Das N-terminale Ende ist offenbar für diese beiden Funktionen nicht nötig, eine gewisse Länge des C-terminalen Endes aber essentiell.

**Seitenblicke:** Ausser bei evolutiv tief stehenden Insekten (z. B. Silberfischchen) findet man die oben beschriebenen Begattungsreaktionen bei allen höheren Insekten (GILLOTT, 2003). Allerdings sind die dahinter stehenden

Mechanismen verschieden. Dem SP von *Drosophila melanogaster* ähnliche Peptide findet man bei einigen nahe verwandten *Drosophila*-Arten und bei *Helicoverpa armigera* (Baumwolleule). Bei weiter entfernten Insektenarten konnte SP aber nicht nachgewiesen werden. Bei einigen anderen Arten wurden die für die Auslösung der Begattungsreaktionen relevanten Moleküle identifiziert, bei einigen die Produktionsorte. Meist werden von solchen Substanzen beide Reaktionen ausgelöst, manchmal aber auch nur eine. Die weite Verbreitung der Begattungsreaktionen weist auf die grosse biologische Bedeutung hin. Es ist allerdings nicht klar, ob sie das Resultat einer frühen evolutiven Entstehung oder einer konvergenten Entwicklung sind. Vermutlich eher das Letztere.

In bestimmten *Drosophila mercatorum* Linien legen virginelle Weibchen Eier, die sich parthenogenetisch entwickeln. Sie sind also unabhängig von sexueller Interaktion. Sinnvollerweise verhalten sich solche Weibchen wie begattete *D. melanogaster* Weibchen: Sie legen als Virginelle viele Eier!

Wie oben angedeutet, ist das SP nicht das einzige Peptid des Männchens, das die Begattungsreaktionen auslösen kann. Das im *Ductus ejaculatorius* synthetisierte Peptid DUP99B kann ebenfalls beide Reaktionen auslösen. *In vivo* spielt es aber nur eine nebensächliche Rolle. Es ist für die «Restaktivität», nach Entfernen des SP-Gens, verantwortlich (Abb. 2.3.3). Ferner stimuliert das Protein Ovulin die Ovulation und auch etwas die Oviposition.

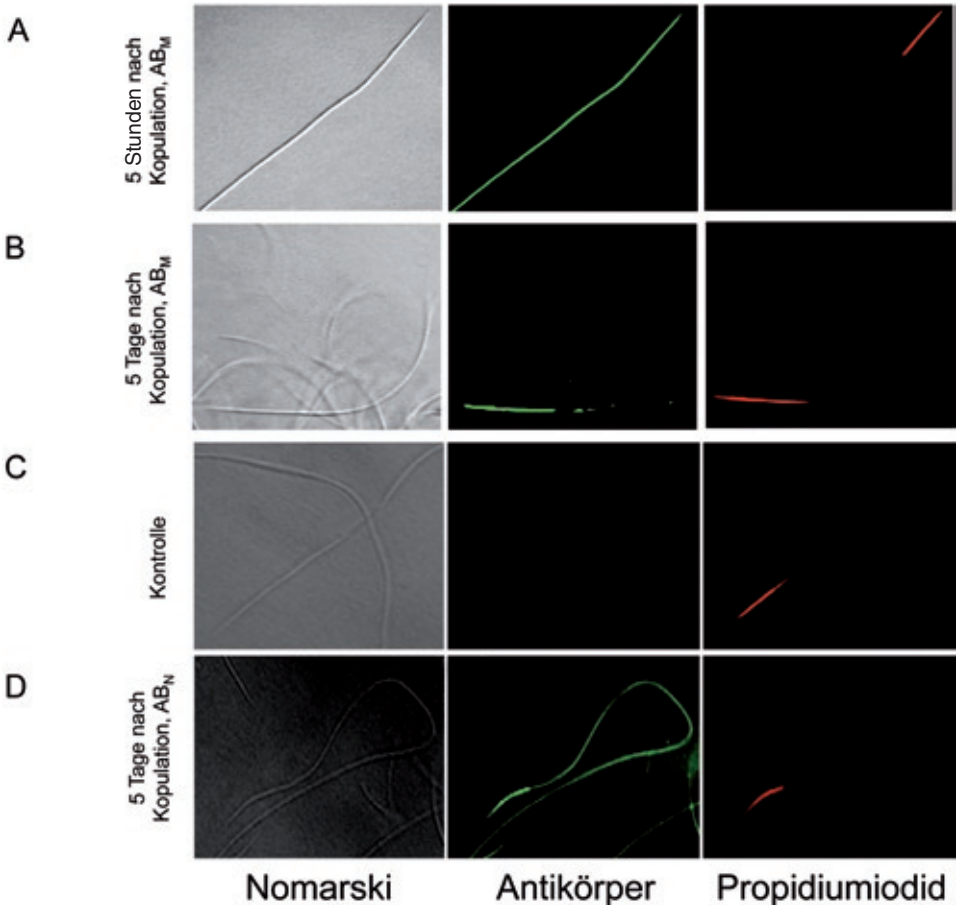
Begattungsreaktionen sind nicht nur bei Insekten weit verbreitet, es gibt sie auch bei Wirbeltieren. Hier zwei Beispiele. Willige Rattenweibchen signalisieren Kopulationsbereitschaft, indem sie mit den Ohren wackeln.

Schwangere Weibchen hingegen wehren unwillkommene Werber ab. Bei Ringeltauben erhöht sich nach einer Begattung die Eilegerate drastisch. Die beiden letzteren Reaktionen haben auf physiologisch-molekularer Ebene mit dem Mechanismus bei *Drosophila* vermutlich nichts gemeinsam. Es sind jedoch Beispiele für evolutive Konvergenz. Sie zeigen, wie Fitness-steigernd solche reproduktiv angepassten Verhaltensweisen sind. Während vor der Begattung die Aufmerksamkeit der Weibchen dem Partner gilt, konzentrieren sie sich danach auf die Produktion von Nachwuchs.

## 2.4 Der «Spermien-Effekt»

Nach einer Begattung eines Wildtyp-Weibchens mit einem Wildtyp-Männchen dauern die Begattungsreaktionen etwa eine Woche an. Werden Weibchen aber mit einem Männchen gepaart, das keine Spermien überträgt (d. h. steril ist, aber doch noch SP überträgt), dauern die Reaktionen nur 1–2 Tage. Spermien scheinen also für die Fortdauer der Begattungsreaktionen nötig zu sein.

Daher wurde dieser Effekt von Manning «Spermien-Effekt» genannt. Injiziert man physiologische Mengen von SP in die Bauchhöhle von virginellen Weibchen, so wirkt es ebenfalls nur 1–2 Tage. Welche Reaktionen erhält man, wenn nur Spermien übertragen werden, aber kein SP? Die Antwort erhalten wir, wenn wir Weibchen mit den oben beschriebenen SP<sup>0</sup>-Männchen kreuzen (LIU und



KUBLI, 2003). Wir erinnern uns, dass diese Männchen kein SP, wohl aber Spermien übertragen. Die Begattungsreaktionen sind dann praktisch abwesend (Abb. 2.3.3). Zusammenfassend: Wird nur das SP übertragen, ergibt sich eine Kurzzeitreaktion, ohne SP nur eine schwache Reaktion, nur SP und Spermien zusammen ergeben eine Langzeitreaktion. Offenbar kooperieren Spermien und das SP irgendwie um eine «vollstän-

dige Antwort» im Weibchen auszulösen. Wie funktioniert diese Zusammenarbeit?

Dieses Kapitel steht exemplarisch für viele Erfahrungen, die Biologen in den letzten Jahrzehnten gemacht haben: Unsere Ideen, wie biologische Mechanismen funktionieren, sind häufig zu einfach! Die Natur löst ihre Probleme komplexer und interessanter. Für die Aufklärung des Spermieneffekts spielte

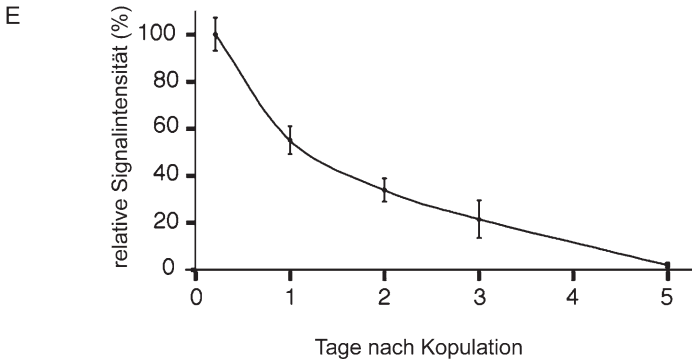


Abb. 2.4.1. Sex-Peptid bindet mit dem N-terminalen Ende an den Spermischwanz und wird während der Speicherung im weiblichen Genitaltrakt graduell losgelöst. (A–D): Horizontale Reihen zeigen das gleiche Präparat unter verschiedenen Bedingungen. Linke Kolonne: Nomarski-Aufnahmen (Lichtmikroskopie); mittlere Kolonne: Antikörper-Inkubationen; rechte Kolonne: Kern-Färbungen mit Propidiumiodid. (A) Spermien 5 Stunden nach Begattung aus Weibchen isoliert. Antikörper:  $AB_M$  (siehe Abb. 2.3.2). (B) Spermien 5 Tage nach Begattung isoliert. Antikörper:  $AB_M$ . Spermischwanz ist scheinbar frei von SP. (C) Spermien 5 Tage nach Begattung isoliert, ohne Antikörper  $AB_N$  (Kontrolle). (D) Spermien 5 Tage nach Begattung isoliert und mit Antikörper  $AB_N$  inkubiert. Mit diesem Antikörper ist SP auch nach 5 Tagen noch sichtbar. Schluss: SP bindet mit dem N-terminalen Ende an die Spermien, der C-terminale Teil wird vom Schwanz abgespalten. (E) Relative Signalintensität (Antikörper:  $AB_M$ ) der SP-Bindung an den Spermischwanz zu verschiedenen Zeiten nach der Kopulation. Färbung des Spermienkopfes = 100%. SP löst sich nicht vom Spermienkopf. Standardabweichung eingetragen.

Fig. 2.4.1. Sex-peptide binds with its N-terminal end to the sperm tail and is gradually released from the tail upon storage in the female genital tract. (A–D): Horizontal panels show parts of the same sperm preparation. Left column: Nomarski light microscopy; middle column: labeling with antibodies; right column: propidium iodide staining of nuclei. (A) Sperm isolated immediately after mating incubated with antibody  $AB_M$  (see Fig. 2.3.2); (B) Sperm isolated 5 days after mating incubated with antibody  $AB_M$ . The sperm tail seems to be free of SP. (C) Sperm isolated 5 d after mating. Incubation without antibody  $AB_N$  (Control). (D) Sperm isolated 5 d after mating. Incubation with antibody  $AB_N$ . Head and tail of sperm are labeled. Conclusion: SP binds with the N-terminal end to the sperm. The C-terminal part is cleaved from the sperm tail. (E) Gradual loss of SP from sperm tail. Relative intensity (Antibody:  $AB_M$ ) of tail labeling at different time points after mating. Sperm head was taken 100%. Standard deviation is indicated.

die auf *Drosophila* angewandte Gentechnik eine wesentliche Rolle.

Bindet das SP an Spermien? Wir haben folgende Hypothese formuliert: (1) Das SP bindet im weiblichen Genitaltrakt an Spermien, (2) das SP löst sich von den Spermien im Verlaufe der Lagerung der Spermien im Weibchen ab, diffundiert in die Hämolymphe und induziert dort die Begattungsreaktionen. Wie kann man diese Hypothese testen?

Spermien der Gattung *Drosophila* sind aussergewöhnlich lang: *Drosophila melanogaster* Spermien messen bis zu 1,8 mm (das heisst sie sind etwa gleich lang wie ein adultes Tier). Der Spermienkopf ist dünn ausgezogen und vom Schwanz nicht deutlich abgesetzt (Abb. 2.4.1A; PENG et al., 2005a). Er kann aber leicht in einem mikroskopischen Präparat durch Färbung des Kerns nachgewiesen werden (in unserem Fall durch Propidiumio-

did-Färbung, die die DNA rot färbt). Ein grün fluoreszierender Antikörper, spezifisch gegen die Sequenz in der Mitte des SP (AB<sub>M</sub>, Abb. 2.3.2B), zeigt, dass in der Tat das SP an Spermien bindet, die aus frisch kopulierten Weibchen herausseziert wurden (Abb. 2.4.1A). Das SP bindet an den Kopf und an den Schwanz. Verfolgt man die Bindungskinetik über mehrere Tage hinweg, so zeigt sich, dass das grüne SP-Signal immer mehr abnimmt, bis es nach etwa einer Woche völlig verschwunden ist (Abb. 2.4.1B und E). Dies gilt aber nur für den Spermien Schwanz, am Kopf bleibt das Signal erhalten. Damit sind unsere beiden Annahmen bestätigt, nämlich (1) dass das SP an Spermien bindet und (2), dass das SP sich im Verlaufe der Speicherung im weiblichen Genitaltrakt vom Spermium löst.

## 2.4.1 Das N-terminale Ende des Sex-Peptids bindet irreversibel an Spermien

Wenn dies stimmt, dann sollte man nach erneuter SP-Inkubation von Spermien, die nach 5 Tagen aus einem Weibchen isoliert worden sind, wieder eine volle Markierung des Spermiums erhalten. Dies ist aber nicht der Fall. Die Lage scheint also komplizierter zu sein, als die Hypothese annimmt. Einfache Wegdiffusion des an den Schwanz gebundenen SP kann diesen Befund nicht erklären.

Im vorangehenden Kapitel haben wir erfahren, dass das C-terminale Ende für die Auslösung der beiden Begattungsreaktionen essentiell ist, das N-terminale hingegen in dieser Beziehung keine

Funktion hat. Auf Grund der Ergebnisse der Struktur-Funktions-Experimente haben wir daher unsere Hypothese verfeinert und zusätzlich angenommen, dass (3) SP mit dem «funktionslosen» N-terminalen Ende an die Spermien bindet und (4) die Trypsin-Stelle in der Nähe des N-terminalen Endes eine Spaltstelle ist (erster Pfeil in Abb. 2.3.2A). Das heisst, dass das N-terminale Ende irreversibel an das Spermium gebunden bleibt und das abgespaltene funktionelle C-terminale Fragment die Begattungsreaktionen auslöst. Dass SP in der Tat mit dem N-terminalen Ende an Spermien bindet, kann

mit einem Konkurrenzexperiment gezeigt werden. Wenn man aus Hoden isolierte Spermien (die kein SP gebunden haben) mit SP und dem fluoreszierenden Antikörper inkubiert, erhält man eine Markierung entlang des ganzen Spermiums. Inkubiert man aber mit SP und einem Überschuss von N-terminalem SP-Fragment, verschwindet die Markierung. Wie kann man dies erklären? Offenbar verdrängt das im Überschuss vorhandene Fragment das vollständige SP von den Bindungsstellen am Spermium. Das heisst, dass das N-terminale Ende von SP an die Spermien bindet.

Warum erscheint dann der Spermien-schwanz nach 5 Tagen frei von SP

(Abb. 2.4.1B)? Da der Nachweis auf einem Antikörper beruht, der nur die Sequenz in der Mitte des SP erkennt ( $AB_M$ , Abb. 2.3.2B), wird das irreversibel an das Spermium gebundene N-terminale Fragment vom Antikörper nicht «gesehen», der grösste Teil des SP ist ja auch nicht mehr da. Die Markierung fehlt, obwohl die Bindungsstellen besetzt sind. Stimmt diese Annahme, dann sollte es möglich sein, mit einem Antikörper, der spezifisch ist für das N-terminale Fragment ( $AB_N$ , Abb. 2.3.2B), eine Markierung des Schwanzes zu erhalten. Dies ist in der Tat der Fall (Abb. 2.4.1D). Damit ist der erste Teil der verfeinerten Hypothese bestätigt.

## 2.4.2 An Spermien gebundenes Sex-Peptid wird an der N-terminalen Trypsin-Stelle gespalten

Für die Bestätigung des zweiten Teils der verfeinerten Hypothese wurde die oben erwähnte  $SP^0$ -Mutante eingesetzt. Da in den akzessorischen Drüsen dieser Männchen kein SP synthetisiert wird, können nach Belieben gentechnisch veränderte SP-Gene eingesetzt werden ohne «störenden Hintergrund» von Wildtyp-SP Synthese, denn das Wildtyp-Gen wurde ja eliminiert. Deren Produkte können somit direkt (nach Begattung) im Weibchen *in vivo* getestet werden. Drei Typen von Genkonstrukten wurden für diese Experimente hergestellt (Abb. 2.4.2A). (1) das Wildtyp SP-Gen als Kontrolle (Rescue-Konstrukt). Dieses Gen produziert normales SP, das eine intakte Trypsin-Schnittstelle besitzt; (2) ein Gen mit veränderter Trypsin-Schnittstelle (RK  $\rightarrow$  QQ; Trypsin kann die Aminosäurefolge

QQ nicht schneiden; R: Arginin, K: Lysin, Q: Glutamin); (3) ein Gen, dem sechs N-terminale Aminosäuren fehlen (Deletion). Diese 3 Typen transgener Männchen wurden mit Wildtyp-Weibchen gekreuzt. Spermien wurden aus den Weibchen isoliert und mikroskopisch mit SP-Antikörpern untersucht ( $AB_M$ ). Ferner wurden auch die Begattungsreaktionen solcher Weibchen untersucht. Die Ergebnisse entsprechen den Voraussagen:

- Das Rescue-Konstrukt (1) ergibt einen Befund, wie er bei einer Kreuzung von Wildtyp-Weibchen mit Wildtyp-Männchen resultiert (dies ist ja die Kontrolle; Abb. 2.4.2B).
- Das SP des Konstrukts (2) sollte Spermien markieren. Da die Trypsin-Schnittstelle zerstört wurde, bleibt das SP an die Spermien gebunden,

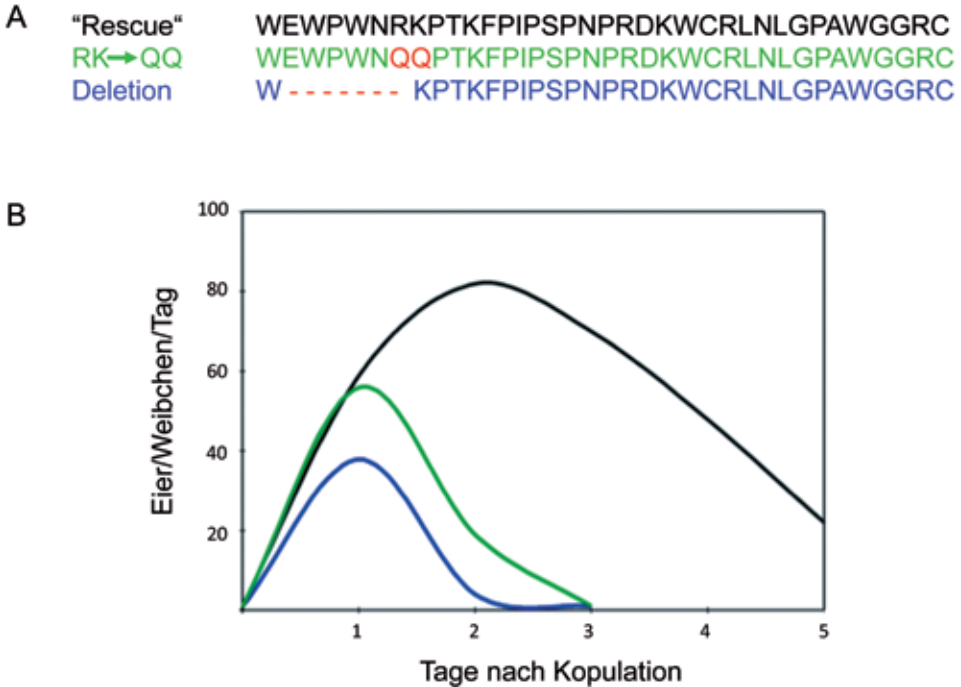


Abb. 2.4.2. Modifiziertes SP löst nur kurzzeitige Begattungsreaktionen aus. (A) Aminosäuresequenzen der SP-Konstrukte in den transgenen Männchen der Stämme 1–3. Schwarz = Stamm 1: Wildtyp-Kontrolle; Grün = Stamm 2: Trypsin-Spaltstelle (rot) ist modifiziert; Blau = Stamm 3: die N-terminalen Aminosäuren 2–7 sind deletiert. (B) Oviposition der Weibchen nach Begattung durch die transgenen Männchen 1–3. Nur das Wildtyp-Konstrukt führt zu einer Langzeit-Reaktion. R: Arginin; K: Lysin; Q: Glutamin.

Fig. 2.4.2. Modified SP elicits short-time postmating responses. (A) Amino acid sequences of SP-constructs in transgenic males 1–3. Black = stock 1: Wildtype-control; Green = stock 2: modified trypsin cleavage site (red); Blue = stock 3: N-terminal amino acids 2–7 deleted. (B) Oviposition of females mated with transgenic males 1–3. Only the wildtype construct elicits a long-term response. R: arginine; K: lysine; Q: glutamine.

d. h. die Markierung des Schwanzes bleibt erhalten (Abb. 2.4.3; RK → QQ 5 Tage nach Kopulation). Ferner resultiert nur eine Kurzzeitreaktion (Abb. 2.4.2B). Sex-Peptid wird auch in freier Form übertragen, nach einem Tag ist dieses SP aber durch Abbau (Proteolyse) in der Hämolymphe zerstört. Da das an Spermien gebundene SP aber nicht weggespalten werden kann, fehlt die Langzeitreaktion.

- Da SP des Deletions-Konstrukts (3) wegen des fehlenden N-terminalen Endes nicht an Spermien binden kann, wird auch keine Markierung der Spermien beobachtet (Abb. 2.4.3; Deletion). Da aber andererseits das fehlende N-terminale Ende für die Auslösung der Begattungsreaktionen keine Rolle spielt, erwartet man diese für ein bis zwei Tage. Dann ist auch das SP-Fragment in der Hämolymphe abgebaut. Da kein Peptid an das Sper-



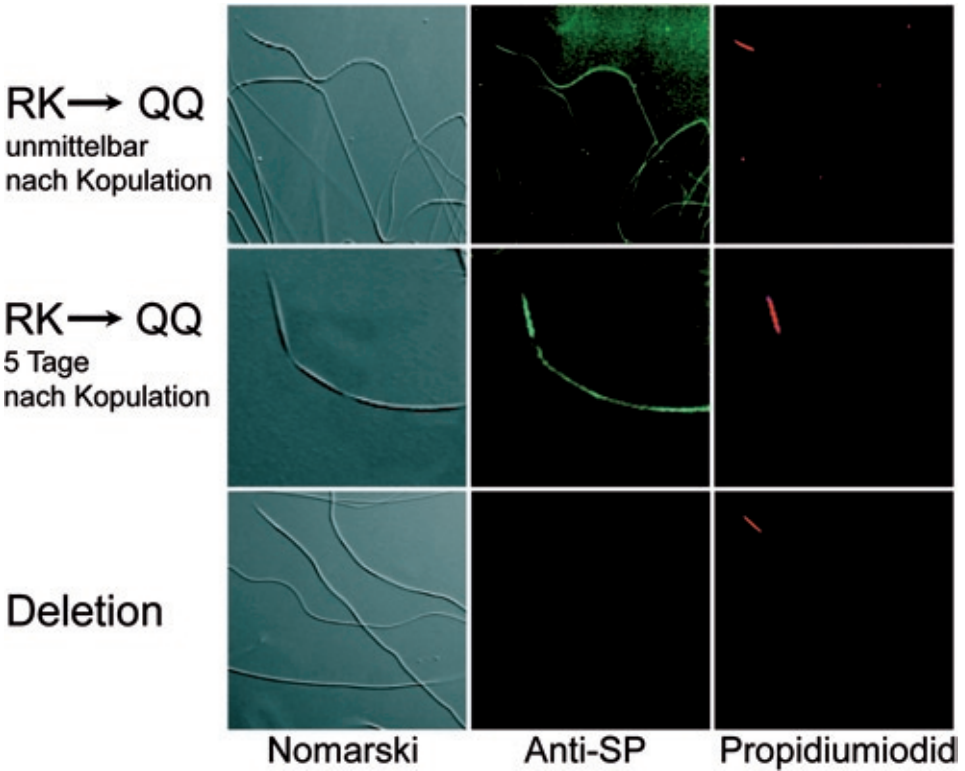


Abb. 2.4.3. Sex-Peptid mit modifizierter Trypsin-Spaltstelle kann nicht vom Spermium gespalten werden. Ohne N-terminales Ende bindet es nicht an Spermien. Horizontale Reihen zeigen das gleiche Präparat unter verschiedenen Bedingungen. Linke Kolonne: Nomarski-Aufnahmen (Lichtmikroskopie); mittlere Kolonne: Antikörper-Inkubationen ( $AB_M$ ); rechte Kolonne: Kern-Färbungen mit Propidiumiodid. RK → QQ: Da Trypsin QQ nicht spalten kann, bleibt das SP auch nach 5 Tagen an das Spermium gebunden. Deletion: Ohne die N-terminalen Aminosäuren 2–7 kann SP nicht an Spermien binden. R: Arginin; K: Lysin; Q: Glutamin.

Fig. 2.4.3. Sex-peptide with modified trypsin cleavage site cannot be released from sperm tail. Without N-terminal amino acids SP cannot bind to sperm. Horizontal panels show parts of the same sperm preparation. Left column: Nomarski light microscopy; middle column: labeling with antibodies ( $AB_M$ ); right column: propidium iodide staining of nuclei. RK → QQ: since trypsin cannot cleave QQ, SP is still bound to sperm after 5 days; deletion: without amino acids 2–7 SP cannot bind to sperm. R: arginine; K: lysine; Q: glutamine.

mium binden kann, fällt die Langzeitreaktion aus (Abb. 2.4.2B).

Es ergibt sich damit bei Wildtyp-Fliegen zusammenfassend folgende Situation: Das von Wildtyp-Männchen übertragene SP wird zum Teil direkt in die Hämolymphe überführt (und löst dort die Kurzzeitreaktion aus), zum Teil bin-

det es mit dem N-terminalen Ende an die Spermien. Am Spermiumschwanz wird es an der N-terminalen Trypsin-Schnittstelle abgespalten. Das N-terminale Ende des SP bleibt irreversibel am Spermium, das funktionelle C-terminale Fragment diffundiert in die Hämolymphe und löst dort die Langzeitreaktionen aus. Damit

ist der von Manning entdeckte Spermien-Effekt auf molekularer Ebene aufgeklärt.

**Seitenblicke:** Warum haben *Drosophila* Spermien derart lange Schwänze? Spermien der Art *Drosophila bifurca* messen sogar 58 mm. Das heisst, sie sind etwa 20-mal länger als die Körper adulter Tiere (ca. 3 mm)! Bei *Drosophila melanogaster* sind sie immerhin etwa gleich lang wie die Männchen (bis 1,8 mm). Weibchen und Männchen kooperieren zwar häufig, um ihren Fortpflanzungserfolg zu steigern, aber nicht immer. Das Männchen hat ein «Interesse» daran, dass seine Partnerin immer nur seine Spermien benutzt. Deshalb ist aus dieser männlichen Sicht eine erneute Kopulation «seines» Weibchens mit anderen Männchen unerwünscht. SP verhindert genau dies. Wird mehr SP übertragen, dauert die Reduktion der Reziptivität entsprechend länger. Das SP bindet an Spermienchwänze und gelangt nach der Spaltung in die Hämolymphe. Das heisst «mehr Schwanz» = mehr SP = mehr reproduktive Fitness für das Männchen. Eine Verlängerung des Spermienchwanzes könnte also für die Männchen von evolutivem Vorteil sein. Dies ist allerdings Spekulation. Es ist aus technischen Gründen (Länge der Schwänze) nicht einfach, dies nachzuweisen. Die 58 mm langen Spermienchwänze von *Drosophila bifurca* sind aber dafür ein mindestens intuitiv überzeugender Hinweis. Sex-Peptid ist vermutlich nicht das einzige Peptid, das an Spermien bindet und «Gutes» für das Männchen bewirkt. Bis heute ist die Bindung von SP an Spermien aber nur für *Drosophila melanogaster* nachgewiesen.

## 2.5 Sex-Peptid und das Immunsystem

Bei einer Begattung werden nicht nur Spermien und Samenflüssigkeit übertragen, sondern häufig auch Pathogene. Zudem sind die Männchen bei ihren Liebesbemühungen häufig unsanft. Wunden als Folge einer Begattung sind beim Weibchen Eintrittspforten für mannigfache mikroskopische Schädlinge, wie Viren, Bakterien, Hefen usw. Dass eine Begattung das angeborene Immunsystem vorsorglich aktiviert, wäre daher sinnvoll.

Die angeborene Immunabwehr der Insekten besteht aus zwei Komponenten: einem zellulären Teil und einem humoralen Teil. Durch den zellulären Teil werden vor allem störende Pathogene von so genannten Hämazyten durch Phagozytose («Zellfressen») und durch Einschliessen in eine Kapsel entfernt. Im humoralen Teil spielen antimikrobielle Peptide die Hauptrolle. Sie töten die Pathogene direkt. Bei *D. melanogaster* sind etwa 20 antimikrobielle Peptide bekannt, deren Synthese durch Pathogeninfektion stimuliert wird. Wir haben daher bei *Drosophila*-Weibchen die Synthese einiger antimikrobieller Peptide während des Lebenslaufs wie auch vor und nach einer Begattung untersucht. Als Massstab für die Synthese wurde die Menge einer bestimmten mRNA, codierend für das antimikrobielle Peptid Metchnikovin, quantitativ gemessen (PENG et al., 2005b).

Unmittelbar nach dem Schlüpfen ist die Menge von Metchnikovin mRNA sehr hoch, fällt dann aber in den ersten Tagen rapide ab. Die Hintergrundaktivität bleibt tief bis etwa zum 30sten Tag, dann nimmt sie wieder etwas zu. Eine

Begattung erhöht die mRNA-Konzentration für Metchnikovin aber drastisch. Nach etwa acht Stunden fällt sie wieder auf das Hintergrundsniveau ab. Offensichtlich wird die Synthese von antimikrobiellen Peptiden durch die Begattung stimuliert. Aber welche Faktoren des Männchens sind daran beteiligt? Der mechanische Akt der Begattung? Die Spermien? Die Samenflüssigkeit? Allenfalls übertragene Pathogene? Das SP? Oder eine Kombination von allen?

Wiederum erwies sich die SP<sup>0</sup>-Mutante als hilfreich. Wir erinnern uns: Diese Männchen übertragen kein SP. Benutzt man solche Männchen und misst man nach der Begattung die induzierte Metchnikovin-Menge im Vergleich zur Situation nach einer Begattung mit Wildtyp-Männchen, so sieht man, dass sie sehr niedrig und von der virginellen nicht verschieden ist (Abb. 2.5.1A). Sex-Peptid scheint also auch als Auslöser der antimikrobiellen Peptidsynthese zu wirken. Dies wird bestätigt durch den Einsatz eines zweiten transgenen Stammes, den wir ebenfalls schon kennen gelernt haben: G10. In diesem Stamm produzieren virginelle Weibchen kontinuierlich das SP im Fettkörper. Falls das SP tatsächlich für die Erhöhung der antimikrobiellen Peptidsynthese verantwortlich ist, sollte diese in solchen Weibchen schon ohne Begattung hoch sein. Dies ist auch der Fall (Abb. 2.5.1B). Eine Begattung erhöht den Metchnikovin-Gehalt im G10-Weibchen nicht mehr. Damit ist eine weitere Funktion von SP charakterisiert worden: die Induktion der antimikrobiellen Peptidsynthese.

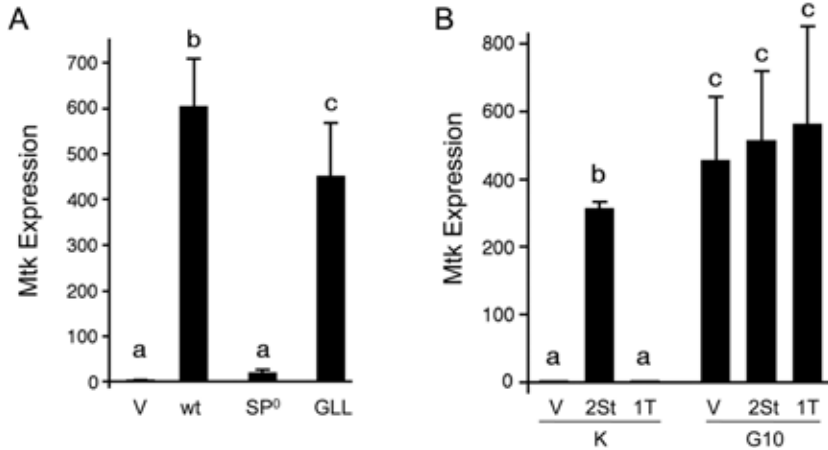


Abb. 2.5.1. Die Synthese des antimikrobiellen Peptids Metchnikovin wird durch SP induziert. (A) Metchnikovin-Synthese in virginellen Wildtyp-Weibchen und in Wildtyp-Weibchen, die mit Wildtyp-, SP<sup>0</sup>- und GLL-Männchen kopuliert haben. V: virginelle Weibchen. wt: Wildtyp-Männchen; SP<sup>0</sup>: SP-null-Männchen, diese Männchen übertragen kein SP; GLL: germ-line-less-Männchen. Diese Männchen übertragen SP, aber keine Spermien. (B) Konstitutive Synthese von SP in virginellen G10-Weibchen resultiert in konstitutiver Metchnikovin-Synthese. Die transgenen G10-Weibchen produzieren SP konstitutiv im Fettkörper. K: Kontrollen = Wildtyp-Weibchen; V = virginell bzw. 2St und 1T nach Begattung durch Wildtyp-Männchen. G10 = G10-Weibchen; V = virginell bzw. 2St und 1T nach Begattung mit Wildtyp-Männchen. Kolonnen mit verschiedenen kleinen Buchstaben sind statistisch verschieden.

Fig. 2.5.1. Sex-peptide induces the synthesis of the antimicrobial peptide Metchnikovin. (A) Metchnikovin-synthesis in virgin wildtype-females, and wildtype-females mated with wt-, SP<sup>0</sup>- and GLL-males, respectively. wt: wildtype-males; SP<sup>0</sup>: SP-null-males, these males do not transfer SP; GLL: germ-line-less males, these males transfer SP, but not sperm. (B) Constitutive Metchnikovin-synthesis in G10-females. G10-females produce SP constitutively in their fat body. K: controls = wildtype-female; virgin or mated with wildtype-males 2h (2St) and 1d (1T) after mating, respectively. G10 = G10-females; V = virgin, or mated with wildtype-males 2h (2St) and 1d (1T) after mating, respectively. Columns with different small letters are statistically different.

**Seitenblicke:** Die vom SP ausgelöste Immunantwort erscheint vorsorglich sinnvoll. Sie entspricht etwa den beim Menschen vor einer Operation prophylaktisch gegebenen Antibiotika. Allerdings verbraucht die vom SP ausgelöste Synthese von antimikrobiellen Peptiden viel Energie und ist deshalb kostspielig. Eine Stimulation der Immunantwort ist daher nicht nur von Vorteil. Sie könnte so zu den «Kosten» beitragen, die ein Weibchen für eine Begattung bezahlen muss und damit zur Verkürzung der Lebensdauer des Weibchens beitragen.

Eine genaue Inspektion von Abbildung 2.5.1A zeigt, dass der Spermienanteil ebenfalls zur Stimulation beiträgt. Keimbahnlose Männchen (GLL, germ|line|less; sie produzieren keine Spermien) lösen eine schwächere Reaktion aus als der Wildtyp. Die Spermien der eigenen Art werden offenbar zu einem gewissen Grade als «fremd» erkannt. Diese Befunde finden eine interessante Parallele beim Menschen. Es wurde festgestellt, dass «Sexarbeiterinnen» häufig steril sind. Eine genaue Analyse hat ergeben, dass die vielfältigen «Kundenspermien» eine Immunantwort auslösen, die zur Sterilität dieser Frauen führen kann.

## 2.6 Sex-Peptid und Nahrungsaufnahme

Im Kapitel über den Lebenszyklus (2.2) haben wir gesehen, dass das Larvenstadium dazu dient, an Grösse zu gewinnen. Dabei wächst der Organismus während einiger Tage um ein Vielfaches seines Gewichts. Dementsprechend wird auch viel gefressen. Während der Metamorphose wird nichts aufgenommen. Der ganze Umbau geschieht mittels Reserven, die die Larve bereitgestellt hat. Nach dem Schlüpfen aus der Puppe ist es vor allem das Weibchen, das in grossen Mengen bis zur Geschlechtsreife Nahrung aufnimmt. Ein geschlechtsreifes Tier hat sein Ovar mit reifen **Oocyten** (Vorstufen der Eier) gefüllt, so dass unmittelbar nach der Begattung befruchtete Eier gelegt werden können. Die gespeicherten reifen Oocyten werden innert Stunden abgelegt und neue müssen als Ersatz produziert werden. Ein *Drosophila*-Weibchen legt in den ersten Tagen nach einer Begattung etwa 30–80 Eier pro Tag (je nach Art). Dies entspricht etwa dem eigenen Körpergewicht eines Weibchens. Das Ovar erbringt also eine gewaltige Produktionsleistung, die auch entsprechend Nachschub verlangt. In der Tat fressen begattete Weibchen etwa 2–3-mal mehr als vor der Begattung. Offenbar löst eine Begattung einen Schub an Nahrungsaufnahme aus. Auf welchem Mechanismus beruht dieser Heisshunger?

Im Labor von Seymour Benzer am Cal-Tech in Pasadena, USA, wurde diese Frage untersucht (Carvalho et al., 2006). Die Stimulation der Nahrungsaufnahme durch die Begattung hängt vom Genotyp des Männchens ab, mit dem das Weibchen sich gepaart hat. Ein Wildtyp-

Männchen löst diese Reaktion aus. Ist der Paarungspartner aber ein SP<sup>0</sup>-Männchen, dann fressen die Weibchen im gemüthlichen virginellen Tempo weiter. Da SP<sup>0</sup>-Männchen kein SP übertragen, kann man daraus schliessen, dass das SP das stimulierende Agens ist. Dies wurde durch ein zweites Experiment bestätigt, bei dem transgene G10-Weibchen benutzt wurden. Sie produzieren auch im virginellen Zustand das SP in ihrem Fettkörper. Obwohl diese Tiere nicht begattet wurden, fressen sie wie begattete Weibchen. Das endogen synthetisierte SP lässt ihnen keine Wahl!

Erneut zeigt sich, dass dieser Mechanismus biologischen Sinn ergibt. Da das geschlechtsreife, nicht begattete Weibchen über ein volles Ovar mit zur Eiablage bereiten reifen Oocyten verfügt, ist ihre Nahrungsaufnahme sinnvollerweise beschränkt. Das bei der Begattung übertragene SP löst sofort Eilegetätigkeit aus und auch die Produktion von neuen Eiern im Ovar. Dies aber verlangt verstärkte Energiezufuhr durch erhöhte Nahrungsaufnahme. Letztere wird ebenfalls durch das SP stimuliert.

Sex-Peptid bestimmt aber nicht nur die Menge der Nahrungsaufnahme, sondern auch deren Qualität (Kubli, 2010). Virginelle Weibchen bevorzugen kohlenhydratreiche Nahrung, nach der Begattung hingegen proteinreiche Hefe. Wiederum ist SP involviert. Mutante Weibchen, denen der SP-Rezeptor fehlt (SPR, ein Protein, mit dem SP interagiert, um einige der vom SP induzierten Reaktionen auszulösen. Siehe Kapitel 2.9), ziehen auch nach einer Begattung Kohlenhydrate einer Proteinnahrung vor.

SP<sup>0</sup>-Männchen lösen diesen Wechsel aber doch noch partiell aus. Vermutlich ist auch das Peptid DUP99B involviert.

**Seitenblicke:** Die Reifung von Oocyten im Ovar wird durch Juvenilhormon (JH, ein Terpenoid) gesteuert. Dessen Synthese erfolgt in den *corpora allata*, einem speziellen Drüsengewebe. Wenn man aus Larven isolierte *corpora allata in vitro* mit SP inkubiert, so wird die JH-Synthese stimuliert. Inkubation mit SP-Fragmenten zeigt, dass das N-terminale Ende von SP dafür essentiell ist. Das vom Männchen übertragene SP stimuliert also die JH-Synthese in den *corpora allata*, worauf das JH die Oocytenreifung im Ovar stimuliert. Das N-terminale Ende des SP hat also mindestens zwei Funktionen: (1) für die Bindung an Spermien und (2) für die JH-Synthese.

## 2.7 Sex-Peptid und Siesta

Was hat SP mit einem Mittagsschläpfchen zu tun? Auch *D. melanogaster* braucht Ruhephasen. Hält man Fliegen dauernd aktiv, dann sterben sie. Taufliegen haben einen charakteristischen Tag-Nacht-Zyklus. Männchen und Weibchen sind aktiv im Morgengrauen und in der Abenddämmerung. Dann gehen sie ihren Fliegenaktivitäten nach, d.h. sie

suchen Nahrung, fressen, putzen sich, streiten sich um Paarungspartner (boxen!), kopulieren und legen Eier. Während der Nacht ruhen sie. Über Mittag legen Männchen und virginelle Weibchen eine Siestapause ein (Abb. 2.7.1A und B). Dies ist biologisch ebenfalls sinnvoll, da sie sich der Mittagshitze in tropischen

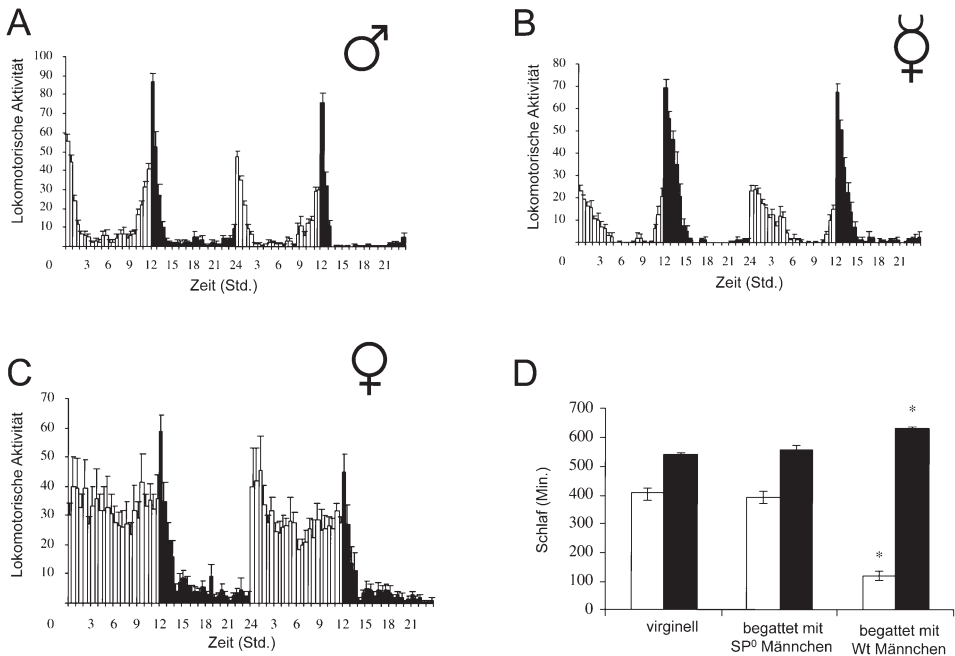


Abb. 2.7.1. Sex-Peptid verhindert Siesta in begatteten Weibchen. (A–C) Bewegungsaktivität von Männchen (A), virginellen Weibchen (B) bzw. begatteten Weibchen (C) während eines 12h/12h Licht-Dunkel-Zyklus. Die Zeitangaben entsprechen der «Laborzeit». (D) Schlaf bei virginellen Wildtyp-Weibchen und Wildtyp-Weibchen, die von SP<sup>0</sup>- bzw. Wildtyp-Männchen begattet worden sind. Weiße Kolonnen: Tag. Schwarze Kolonnen: Nacht. Nach R.E. Isaac.

Fig. 2.7.1. Sex-peptide inhibits siesta-sleep in mated females. (A–C) Locomotor-activity of males (A), virgin females (B) and mated females (C), respectively, during a 12h/12h light/dark-cycle. Hours are «lab-time». (D) Sleep in virgin wildtype-females, and wildtype-females mated with SP<sup>0</sup>- and wildtype-males, respectively. White bars and black bars indicate day-time and night-time, respectively. Adapted from R.E. Isaac with permission.

Breiten nur durch verminderte Aktivität und Ausweichen in den Schatten entziehen können. Insekten sind wechselwarm, d.h. sie können ihre Temperatur nicht regulieren, um einer eventuellen Überhitzung zu entgehen. Befruchtete Weibchen hingegen gönnen sich keine Siesta: Sie suchen auch zur Mittagszeit Nahrung und fressen fleissig, um den gewaltigen Nachschubsbedarf an Energie für die Eiproduktion sicherzustellen (Abb. 2.7.1C). Weiterhin suchen sie geeignete Eiablageplätze. Wie wir in Kapitel 2.6 gesehen haben, ist die erhöhte Nahrungsaufnahme und auch die Eiproduktion durch das SP induziert.

Da dieser Wechsel im Siesta-Verhalten der Weibchen mit der Kopulation zusammenhängt, liegt die Vermutung nahe, dass er mit SP zu tun hat. Isaac und Mitarbeiter (2009) haben virginelle Wildtyp-Weibchen mit SP<sup>0</sup>-Männchen gekreuzt und ihr Schlafverhalten untersucht. Es zeigt sich, dass diese begatteten Weibchen weiterhin ein virginelles Schlafmuster aufweisen, d.h. sie verhalten sich, als ob sie nie kopuliert hätten (Abb. 2.7.1D). Da SP<sup>0</sup>-Männchen kein SP übertragen, ist SP verantwortlich für den reduzierten Schlaf, d.h. es wirkt in den begatteten Weibchen als «Siesta-Blocker».



## 2.8 Sex-Peptid und Tod

Die Beziehungen zwischen den Geschlechtern sind nicht immer lebensdienlich. Weibchen und Männchen sind daher häufig wählerisch bei der Auswahl ihrer Geschlechtspartner. Eine Begattung bei *Drosophila* führt zu einer Verkürzung der Lebensdauer des Weibchens. Verschiedene Faktoren sind daran beteiligt. Männchen gehen mit den Weibchen sehr unsanft um. Häufig ergeben sich dadurch mechanische Schäden, die sich lebensverkürzend auswirken können. «Begattungs-Stress» spielt ebenfalls eine Rolle, wie etwa die erhöhte Eiproduktion, Schlafmanko und anderes. Auch das SP ist involviert. Weibchen, die mit SP<sup>0</sup>-Männchen kopuliert haben, leben länger als ihre Kolleginnen, die von Wildtyp-Männchen begattet wurden (WIGBY und CHAPMAN, 2005). Dies gilt auch, wenn die anderen Faktoren ausgeschlossen werden. Was ist der biologische Sinn dieses lebensvermindernden Einflusses des SP? Weibchen und Männchen haben zwar gemeinsame reproduktive Interessen, aber nicht in jedem Fall. Ein Männchen hat nur «Interesse» an Nachkommen eines Weibchens, die von ihm stammen. Alle anderen sind Konkurrenz für seinen Nachwuchs. Optimal für ihn ist ein Weibchen, das mit ihm kopuliert und nachher abstinert bleibt. Ein Weibchen hingegen tut gut daran, nicht nur auf ein Männchen zu setzen. Würde es dies tun und wäre dieses Männchen per Zufall steril, dann hätte es keine Nachkommen. (Dieses Phänomen ist bis hinauf zum Menschen bekannt. Man spricht von sog. «Extra-Kopulationen»). Berechnungen zeigen, dass ein *Drosophila*-Weibchen

optimal 5–6-mal mit unterschiedlichen Männchen kopulieren sollte. Dies ist offenbar in freier Wildbahn der Fall. Im Geschlechtsapparat von eingefangenen Weibchen finden sich im Durchschnitt Spermien von 4–6 verschiedenen Männchen. Das genetische Roulette wird so besser verteilt. Was kann das Männchen dagegen tun? Das Sex-Peptid kann zwar eine erneute Begattung für etwa eine Woche verzögern. Dann wird das Weibchen aber wieder kopulieren und Konkurrenz produzieren. Ein früher Tod des Weibchens könnte dem entgegenwirken, und genau dies bewirkt das SP. Allerdings nur unvollkommen, da die Verkürzung der Lebenszeit durch das SP nicht drastisch ist. Die Weibchen sind offenbar in dieser Beziehung am längeren Hebel. Es ist aber vorstellbar, dass der «evolutive Wind» sich auch einmal drehen kann. Diese Überlegungen haben vermutlich für Leserinnen einen zynischen Beigeschmack. Auch wenn sie etwas spekulativ sind, innerhalb der Logik des «Kampfs der Geschlechter» sind sie aber durchaus kohärent.

Im Labor von Seymour Benzer wurde die *Drosophila*-Mutante *methuselah* (*mth*) isoliert, die die Lebensspanne von Taufliegen im Durchschnitt um 35% verlängern kann. Vor kurzem wurde gezeigt, dass SP mit dem Methuselah-Protein interagieren kann. Die Interaktion ist aber nur schwach, und es ist (noch) nicht klar, ob sie eine biologische Bedeutung hat. Möglicherweise ist dies aber ein Hinweis auf den molekularen Mechanismus der lebensverkürzenden Wirkung von SP in den Taufliegen-Weibchen.

**Seitenblicke:** Nicht bei allen Insektenspezies ist die Lage so düster. Sexuelle Konflikte sind besonders ausgeprägt bei solitär lebenden Arten, wie es *D. melanogaster* eben ist. Da versucht jedes Geschlecht auf Kosten des anderen Vorteile herauszuschlagen. Bei sozial lebenden Insekten (Ameisen, Bienen, Wespen) ist die Ausgangslage hingegen anders. Häufig kopulieren die Weibchen nur einmal, und die Pärchen zeigen eine lebenslange Treue. Dieser spezielle Lebensstil der sozialen Insekten zwingt zur Evolution der reproduktiven Interessen der beiden Geschlechter in die gleiche Richtung. Eine Beeinträchtigung des Weibchens während der Begattung würde die männliche Fitness ebenfalls negativ beeinflussen, und sexuelle Antagonismen sind daher nicht zu erwarten. In der Tat scheint eine Begattung die Lebenserwartung der Weibchen in mindestens einer Ameisenart zu erhöhen! Molekulare Details sind zwar zurzeit nicht bekannt; die Komponenten der männlichen akzessorischen Drüsen werden aber in dieser Hinsicht von Forschungsgruppen untersucht.

## 2.9 Rezeptoren für das Sex-Peptid, Signalkaskaden und die Evolution des Sex-Peptid-Rezeptors SPR

Mit Ausnahme der Spermienbindung haben wir bis anhin Funktionen des SP kennen gelernt, ohne detailliert auf die molekularen Aspekte einzugehen. Wir haben gesehen, dass in einem relativ kleinen Peptid folgende Funktionen lokalisiert sind: (1) Stimulation der Eilegerate, (2) Reduktion der Rezeptivität, (3) Stimulation der Eiproduktion, (4) Stimulation der Juvenilhormonsynthese, (5) Stimulation des angeborenen Immunsystems, (6) Stimulierung der Nahrungsaufnahme, (7) qualitative Wahl der Nahrung, (8) Verhinderung der Siesta, (9) Verkürzung der Lebensspanne. Zudem bindet es (10) mit dem N-terminalen Ende an die Spermien, die im weiblichen Genitaltrakt gespeichert werden. (In der Vielfalt seiner Funktionen erinnert das SP an ein Schweizer Offiziersmesser!) Es stellen sich daher die folgenden Fragen:

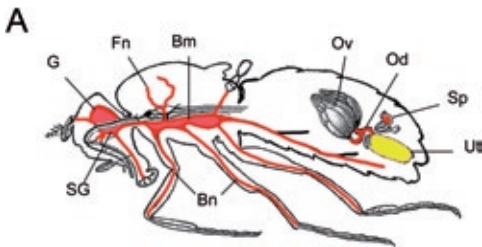
- Gibt es mehrere Zielorgane für das SP? Wenn ja, welche?
- Welche Teile des SP sind für die einzelnen Funktionen notwendig und genügend?
- Welche **Rezeptoren** interagieren mit dem SP? (Ein Rezeptor ist ein Protein, das mit einem in der Regel kleineren Molekül, einem **Liganden**, z. B. dem SP, interagiert)
- Welches sind die vom SP induzierten **Signalkaskaden**? (Ein aktivierter Rezeptor löst eine Signalkaskade aus. Eine Signalkaskade umfasst alle Moleküle zwischen dem Rezeptor und dem «Endresultat» eines Induktionsmoleküls). Das heisst: Was passiert vom Moment des «Andockens» des SP an einen Rezeptor bis zum «Endresultat» der SP-Wirkung?
- Sind die unterschiedlichen Funktionen untereinander verknüpft? Gibt es ein SP-Netzwerk? (siehe Kapitel 1.10)
- Wie verlief die Evolution des SP und seiner Rezeptoren? (siehe «Seitenblicke» unten)

### 2.9.1 Welche Zielorgane?

Die im Kapitel 2.3 erwähnten Resultate haben gezeigt, dass ein potentieller Rezeptor für die beiden Begattungsreaktionen mit dem C-terminalen Ende von Sex-Peptid interagieren muss. Diesen Befund haben wir ausgenutzt, um eine Idee über den Wirkungsort des SP zu erhalten. Da das Eilegeverhalten und die

Reduktion der Rezeptivität gleiche Verhaltenselemente enthalten, nämlich die Ausstülpung des Eilegeapparats (Ovipositor), war es naheliegend, das Nervensystem als ein mögliches Zielorgan anzunehmen (KUBLI, 2003). Weibchen wurden daher tiefgefroren und von «Kopf bis Fuss» in feine Scheibchen geschnitten.

Diese Scheibchen wurden dann mit markiertem SP inkubiert. Als Marker wurde radioaktives  $^{125}\text{I}$ -SP verwendet ( $^{125}\text{I}$  ist ein radioaktives Isotop des Iods mit einer Halbwertszeit von 60 Tagen). Anschließend wurden die Scheibchen mit einer Filmfolie überzogen. Der Zerfall des Isotops erzeugt eine Schwärzung im darübergerlegten Film, die ihrerseits auf das am  $^{125}\text{I}$  angekoppelte SP verweist.



B

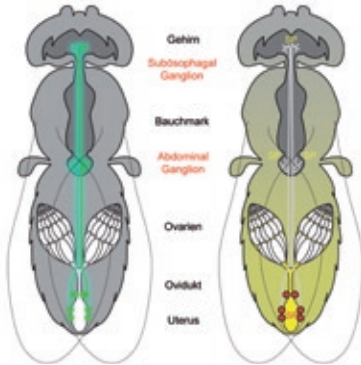
Vor Begattung:  
SP Sensoren EINNach Begattung:  
SP Sensoren AUS

Abb. 2.9.1. (A) Überblick über Bindungsstellen von  $^{125}\text{I}$ -markiertem Sex-Peptid und Lokalisation des SP-Rezeptors SPR im Nervensystem von adulten Weibchen. Die beiden Muster sind nahezu deckungsgleich. Rot: identisches Muster; gelb: nur durch  $^{125}\text{I}$ -SP markiert. Dies deutet auf ein anderes SP-bindendes Protein im Uterus hin, möglicherweise einen Peptid-Transporter. Bm: Bauchmark; Bn: Beinerven; G: Gehirn; Fn: Flügelnerve; Od: Ovidukt; Ov: Ovar; SG: Suboesophageal-Ganglion; Sp: Spermatheken; Ut: Uterus. (B) SP-Sensorneuronen und die Begattungsreaktionen. Sechs bis acht SPR-exprimierende Neuronen innervieren das Lumen des Uterus und die unteren Teile des Ovidukts (kleine blau-grün, beziehungsweise rot ausgefüllte Kreise). Ihre Axone enden im Abdominal- und im Unterschlund-Ganglion. Das Unterschlundganglion ist vermutlich in die Analyse des männlichen Werbegesangs involviert, die Abdominalganglien in die Eilegetätigkeit. Die sensorischen Neuronen und/oder ihre efferenten Synapsen sind aktiv vor der Begattung, nach der Begattung werden sie gehemmt. Sex-Peptid wirkt auf die Nervenendigungen im Lumen des Uterus und/oder auf die präsynaptischen Enden der Sensorneuronen im Zentralnervensystem (Letztere angedeutet durch gelbe Buchstaben «SP» in rechter Abbildung). Die Präsenz von SP im Abdomen nach einer Begattung wird durch gelbe Färbung angedeutet. (B) nach Miesenböck.

Fig. 2.9.1. (A)  $^{125}\text{I}$ -labeled Sex-Peptid binding pattern and distribution of SP-receptor SPR in adult females. Red: congruous localization of SP binding sites and localization of SPR. Yellow: uterus only labeled by  $^{125}\text{I}$ -SP suggesting the presence of a different SP-binding protein, such as a peptide transporter. Bm: ventral nervous system; Bn: leg nerves; G: brain; Fn: wing nerves; Od: oviduct; Ov: ovaries; SG: suboesophageal ganglion; Sp: spermathecae; Ut: uterus. (B) SP sensor neurons and the postmating behavioral switch. Six to eight SPR-expressing neurons innervate the lumen of the uterus and the lower oviduct (filled blue-green or red circles, respectively). Their axons project into the abdominal and the suboesophageal ganglia. The former harbors circuits for egg laying, the latter is believed to contain auditory circuits tuned to the male courtship song. The sensory neurons and/or their efferent synapses are active pre-mating, post-mating they are turned off. The sites of action of SP are either the sensory nerve endings in the lumen of the genital tract and/or the presynaptic terminals of the SP-sensing neurons in the CNS (yellow letters «SP» in the right figure). The presence of SP in the abdomen after mating is indicated by yellow colour. (B) after Miesenböck with permission.

serien ergab, dass potentielle SP-Rezeptoren in grossen Teilen des Nervensystems lokalisiert sind – ein Befund, der mit der zu Grunde liegenden Annahme übereinstimmt (Abb. 2.9.1A). Ferner wurde auch SP-Markierung im Bereich der Ovidukte und des Uterus gefunden. Gibt man in einem Konkurrenzexperiment dem  $^{125}\text{I}$ -markierten SP unmarkiertes, «kaltes» C-terminales Fragment im Überschuss dazu, so erhält man keine Signale auf dem autoradiographischen Film. Dies zeigt, dass das SP in diesem Experiment mit dem C-terminalen Ende an den potentiellen Rezeptor bindet: Das «kalte» Fragment verdrängt das «heisse» Peptid, und daher erhält man kein Signal. Auch dies war zu erwarten, hatten doch die Struktur-Funktions-Experimente gezeigt, dass eben dieses C-terminale Ende die beiden Begattungsreaktionen auslöst. Dieses Resultat wurde ergänzt durch ein weiteres Konkurrenzexpe-

riment mit DUP99B, dem *Ductus ejaculatorius*-Peptid. Auch dieses Peptid verdrängt im Überschuss dazu gegeben das SP von seiner Bindungsstelle. Da die homologen Sequenzregionen der beiden Peptide im C-terminalen Bereich liegen, wird dadurch bestätigt, dass das C-terminale Ende des SP für die beiden Begattungsreaktionen wichtig ist.

Diese Methode ergibt aber nur eine grobe Übersicht über mögliche Zielorgane. Kleine Zielorgane (etwa die *corpora allata*, siehe Kapitel 2.6) werden vielleicht nicht entdeckt. Zudem sagt sie weder darüber etwas aus, ob alle markierten Gewebe tatsächlich funktionell in der SP-Signalkaskade involviert sind (siehe unten), noch darüber, welcher Art die ausgelöste Reaktion ist. Sex-Peptid löst ja eine ganze Reihe von Reaktionen aus, und es erscheint unwahrscheinlich, dass alle durch ein und denselben Rezeptor kontrolliert werden.

## 2.9.2 Wieviele Rezeptoren? Struktur-Funktionsbeziehungen Teil II

In den Kapiteln 2.3 und 2.4 haben wir erfahren, dass unterschiedliche Teile des SP für die Auslösung der Begattungsreaktionen, für die Bindung an die Spermien und für die Induktion der Juvenilhormonsynthese essentiell sind (im ersten Fall der C-terminale, in den beiden anderen der N-terminale Teil). Dies ist bereits ein starker Hinweis darauf, dass vermutlich unterschiedliche Proteine mit dem SP interagieren. In diesem Abschnitt wollen wir uns vertieft den molekularen Grundlagen der Begattungsreaktionen und der Induktion des

angeborenen Immunsystems zuwenden.

Zunächst wollen wir aber ein Experiment betrachten, dessen Resultate das Verständnis der Struktur-Funktionsbeziehungen vertieft haben (DOMANITSKAYA et al., 2007). Das primäre Ziel dieses Versuchs war es, diejenige Region des SP zu identifizieren, die für die Auslösung der Immunreaktion zuständig ist. Abbildung 2.9.2 stellt das Prinzip des Experiments und die Resultate dar. Männchen der folgenden drei transgenen Stämme wurden hergestellt, bzw. verwendet: (1)

Männchen, die ein N-terminal verkürztes SP synthetisieren (siehe Kapitel 1.4), (2) Männchen, die ein SP synthetisieren, das im N-terminalen Bereich eine Glykosylgruppe trägt (neu), (3) Männchen, die am C-terminalen Ende des SP ein grosses Protein fusioniert haben (GFP, Green Fluorescent Protein; neu). Männchen (1)–(3) wurden mit Wildtyp-Weibchen gekreuzt und die Weibchen nach der Begattung auf die Begattungsreaktionen bzw. die Induktion des Immunsystems getestet. Die Logik des Experiments war die folgende: Fehlende oder sterisch blockierte

Teile des SP sollten die damit verbundenen Reaktionen nicht auslösen. Durch die eingeführte «blaue» Glykosylgruppe in der Mitte, bzw. das «grüne» fusionierte GFP am C-terminalen Ende werden die benachbarten Teile des SP räumlich blockiert (Abb. 2.9.2). Positive Resultate deuten darauf hin, dass diese Region des SP mit der getesteten Reaktion nichts zu tun hat. Die Resultate sind eindeutig. Wie erwartet, werden die Begattungsreaktionen nur durch das GFP am C-terminalen Ende blockiert. Die Immunantwort hingegen nur durch die Einführung der Gly-

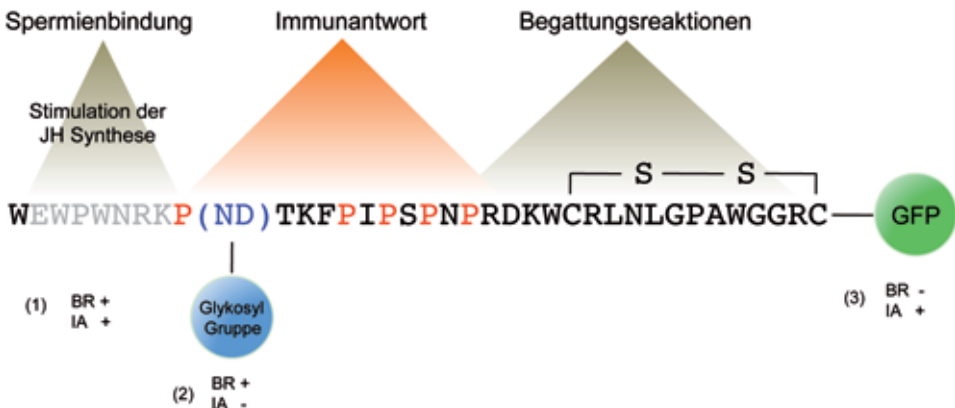


Abb. 2.9.2. Struktur-Funktionsbeziehungen von SP. Identifikation von SP-Regionen mit bestimmten Funktionen im oberen Teil der Figur. Unterer Teil der Figur: die drei SP-Konstrukte der transgenen Männchen (1)–(3). Die von den jeweiligen Männchen ausgelösten Reaktionen sind mit BR (Begattungsreaktionen) und IA (Immunantwort) angegeben. Konstrukt (1): N-terminale Aminosäuren 2–7 sind deletiert (grau); Konstrukt (2): Durch Einfügen zweier zusätzlicher Aminosäuren (blau: N, Asparagin und D, Asparaginsäure) wird ein Glykosylierungssignal kreiert. Das in diesen Männchen synthetisierte SP enthält an dieser Stelle eine Glykosylgruppe (blau). Konstrukt (3): Fusionskonstrukt aus SP und Green Fluorescent Protein (GFP, grün). Nur Konstrukt (2) blockiert die Immunantwort. Schluss: Die Region des Hydroxyprolin-Motivs (rote P) ist verantwortlich für die Auslösung der Immunantwort.

Fig. 2.9.2. Structure-function-relationships in SP. Identification of regions within SP with known functions in upper part of the figure. Lower part: three constructs of the transgenic males (1)–(3). The responses elicited by the males are indicated by BR (postmating responses) and IA (immune response), respectively. Construct (1): grey N-terminal amino acids 2–7 deleted. Construct (2): creation of a glycosylation-signal NDT by inserting two additional aa ND (blue) into the SP-sequence. As a consequence SP synthesized in these males is glycosylated (blue N, asparagine; D, aspartic acid). Construct (3): fusion-construct SP–GFP (Green Fluorescent Protein, green). Only construct (2) blocks immune response. Conclusion: the region of the hydroxyproline motif (red Ps) is responsible for eliciting the immune-response.

kosylgruppe. Daraus kann geschlossen werden (1), dass das C-terminale Ende für die Begattungsreaktionen zuständig ist (eine Bestätigung früherer Befunde, siehe Kapitel 2.3) und (2), dass für die Immunantwort die mittlere Region des SP zuständig ist, da weder die N-terminale Deletion, noch die C-terminale Blockierung die Immunantwort beeinträchtigen. Damit erhalten wir einen starken

Hinweis darauf, dass mindestens drei Proteine mit unterschiedlichen Regionen des SP interagieren: (1) das N-terminale Ende mit einem auf den Spermien lokalisierten Bindungsprotein, (2) die mittlere Region mit einem Rezeptorprotein, das die Immunantwort auslöst, und (3) die C-terminale Region mit einem Rezeptor, der die Begattungsreaktionen freisetzt.

### 2.9.3 Signalkaskaden

Zwischen einem Liganden (z. B. dem SP), dem damit interagierenden Rezeptor und der schliesslichen «Endreaktion» (z. B. Begattungsreaktionen oder der Immunantwort) sind eine ganze Reihe von anderen «Signaltransduktoren» angesiedelt. Das können weitere Proteine sein oder kleinere Signalmoleküle. Man nennt diese Folge von molekularen Interaktionen **Signalkaskaden**. Im Folgenden werden, so weit bekannt, die Signalkaskaden für die Begattungsreaktionen und die Immunantwort geschildert.

Mutanten existieren auch für Signalkaskaden. Cyclisches AMP ist ein zentraler «second messenger», der in vielen Reaktionen eines Organismus eine Rolle spielt. Bei *D. melanogaster* gibt es je eine Mutante, die den cAMP-Spiegel einer Zelle erhöht (*dunce*, Dummkopf) bzw. erniedrigt (*rutabaga*, Kohlkopf). Die wenig schmeichelhaften Namen weisen darauf hin, dass beide Mutanten Lernprobleme haben. Beide Mutanten beeinflussen auch die SP-induzierten Begattungsreaktionen. Homozygote

*dunce* bzw. *rutabaga*-Weibchen zeigen nach einer Kopulation keine Reduktion der Rezeptivität. Dies war ein Hinweis darauf, dass Enzyme in dieser SP-Signalkaskade involviert sind, die mit cAMP arbeiten. Diese Hypothese wurde bestätigt durch die Identifizierung von SPR durch Yapici et al. (2008). **SPR** (für SP-Rezeptor) ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor, der sehr spezifisch ist für das SP (und für DUP99B). Homozygote SPR<sup>0</sup>-Mutanten sind vital und zeigen keine auffälligen physiologischen oder morphologischen Defekte. Die Begattungsreaktionen werden aber in homozygoten SPR<sup>0</sup>-Weibchen durch SP nicht ausgelöst. Die Expression von SPR deckt sich mit dem Muster der SP-Bindung an Gefrierschnitten (siehe oben «Wieviele Zielorgane?»). Das heisst, man findet SPR im Genitaltrakt und weit verbreitet im Nervensystem (Abb. 2.9.1A). SPR ist der erste im Detail charakterisierte, mit dem SP interagierende Rezeptor.

Struktur-Funktionsbeziehungen und die chemische Natur der involvierten Regionen können Hinweise auf mögliche



Rezeptoren geben. Die mittlere Region von SP ist verantwortlich für die Auslösung der angeborenen Immunantwort (Abb. 2.9.2). Mit welchem Rezeptorprotein interagiert dieser Teil des SP? Die Auslösung einer Immunantwort erfolgt in der Regel über riesige mit Zuckergruppen modifizierte Proteinkomplexe (Glykoproteine), die an der Oberfläche der pathogen wirkenden Organismen lokalisiert sind. PENG et al. (2005b) haben gezeigt, dass das SP die gleiche Signalkaskade zur Auslösung der Immunantwort verwendet, wie die bei *Drosophila* üblichen Pathogene, die häufig über so genannte «pattern-recognition-receptors» wirken. Wie könnte das SP mit einem solchen Rezeptor interagieren? Sex-Peptid ist aus Aminosäuren aufgebaut wie die Glykoproteine. Aber wo ist die Zuckermodifikation? Eine genaue Inspektion der SP-Aminosäuresequenz zeigt, dass nur in diesem mittleren Teil die Prolinreste eine Hydroxylgruppe tragen (Abb. 2.9.2). Die beiden anderen Proline des SP, am N- bzw. C-terminalen Ende, sind nicht modifiziert. Warum? Unsere Hypothese lautet: Die Hydroxylgruppen der SP-Proline täuschen durch ein «molekulares Mimikry» die Zuckergruppen der Glykoproteine vor. Hydroxylgruppen sind ja wichtige Bestandteile von Zuckern. Diese Hypothese gestattet zwei Voraussagen: (1) Falls das SP die Immunantwort über pattern-recognition-receptors induziert, sollte bei Weibchen ohne SP-Rezeptor die Immunantwort immer noch induzierbar sein; (2) ein SP, das unmodifizierte Proline enthält, sollte keine Immunantwort auslösen können. Versuche von Toshiro Aigaki an der Tokyo Metropolitan University in Japan haben gezeigt, dass die Immunantwort in der Tat auch in SPR<sup>0</sup>-Weibchen ausgelöst wird. Dies sollte nicht der Fall sein, wenn SPR in diese Signalkas-

kade eingebaut ist. Das heisst, die erste Voraussage trifft zu, eine Bestätigung der zweiten steht noch aus.

**Seitenblicke:** Die Verteilung von SPR ist deckungsgleich mit der Markierung des Nervensystems durch das <sup>125</sup>I-SP (Abb. 2.9.1A; siehe oben). Daraus zu schliessen, dass alle SPR-Moleküle durch das SP aktiviert werden können, ist voreilig. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass nur bestimmte Neuronen für die Weiterleitung des vom SP induzierten Signals nötig sind (Abb. 2.9.1B). Mittels eleganter genetischer Methoden wurde nachgewiesen, dass das SP nur eine kleine Gruppe von sensorischen Neuronen im weiblichen Genitaltrakt inhibiert. Diese Neuronen projizieren in das Zentralnervensystem und kontrollieren so das reproduktive Verhalten. Sind dann alle im restlichen Teil des Nervensystems vorhandenen SPR nicht funktionell? Das letzte Wort ist noch nicht gesprochen. Sex-Peptid-Injektionsversuche von Peng und Szabad (in Vorbereitung) im Labor des Autors deuten darauf hin, dass (1) unmittelbar nach der Begattung das freie, nicht-spermiengebundene, intakte SP via Hämolymphe die Kurzzeitreaktion auslöst, (2) die Langzeitreaktion hingegen über die oben beschriebenen wenigen Neuronen induziert wird. Im letzteren Fall wäre der induzierende Ligand das vom Spermien Schwanz abgespaltene C-terminale Fragment. Die im Nervensystem weit verbreiteten SPR wären also doch funktionell. SPR hat aber möglicherweise noch eine weitere Funktion.

**Die Evolution des SP-Rezeptors.** Sex-Peptid wurde bisher nur bei engen Verwandten von *Drosophila melanogaster* gefunden. Gene, die für den oben beschriebenen SPR codieren, hingegen auch bei der Fruchtfliege *Ceratitis*, beim Seidenspinner *Bombyx* und beim Käfer *Tribolium*. Der Sex-Peptid-Rezeptor ist also bei Insekten weit verbreitet, SP hingegen nicht. Neue Befunde klären diese scheinbar paradoxe Situation. Beim



Seidenspinner *Bombyx* wurde gezeigt, dass bestimmte Neuropeptide, so genannte MIP (= myoinhibiting peptides, auch prothoracostatische Peptide), den *Bombyx* SPR aktivieren können (YAMANAKA et al., 2010). Diese Neuropeptide regulieren ihrerseits Steroid-Hormone (Ecdysteroide), die bei der Häutung und Metamorphose eine wichtige Rolle spielen. Da das SP in *Bombyx* nicht vorkommt, sind vermutlich diese evolutiv konservierten MIP die Liganden des *Bombyx* SPR.

Auch bei *Drosophila melanogaster* wurden MIP nachgewiesen. Sie interagieren ebenfalls mit dem *Drosophila*-SPR (KIM et al., 2010; POELS et al., 2010). SPR interagiert also bei *Drosophila* mit zwei Liganden: SP und MIP. SPR ist im Embryo, in Larvalstadien und im adulten Nervensystem exprimiert. MIP-Transkripte gibt es im weiblichen und im männlichen Nervensystem. Sex-Peptid wird aber nur in den männlichen akzessorischen Drüsen synthetisiert. Auch dies deutet darauf hin, dass das SP eine evolutiv neue «Erfindung» von *Drosophila* ist. Allerdings gibt es bei diesen Befunden noch offene Fragen. SPR<sup>0</sup>-Mutanten sind nämlich nicht letal. Ein Fehlen des SPR scheint weder die Morphologie noch die Physiologie beider Geschlechter zu beeinträchtigen. Wie kann dies sein, wenn MIP eine lebenswichtige Rolle spielen? Entweder ist das System redundant oder SPR ist bei *Drosophila* durch einen anderen MIP-spezifischen Rezeptor ersetzt worden, und SPR ist in Bezug auf die MIP funktionslos geworden. Zusammenfassend deutet dies darauf hin, dass die MIP die evolutiv ursprünglichen Liganden des SPR waren und dass das SP sich im Laufe der Evolution als zusätzlicher neuer Ligand entwickelt hat.

## 2.10 Das Sex-Peptid-Netzwerk

Im vorangehenden Kapitel haben wir gesehen, dass die unterschiedlichen Funktionen von SP zum Teil auch von unterschiedlichen Proteinen/Rezeptoren vermittelt werden (KUBLI, 2008). Nur für die beiden ursprünglichen Begattungsreaktionen ist der Rezeptor SPR eindeutig identifiziert. Für die Immunreaktion ist es vermutlich ein pattern-recognition-receptor, für die Bindung an die Spermien ein unbekanntes Bindungsprotein. Keine Informationen sind vorhanden für die Induktion der Juvenil-

hormon-Synthese im *corpus allatum*. Die Erhöhung der Nahrungsaufnahme, die Nahrungsauswahl, die Verhinderung der Siesta und die Verkürzung der Lebensspanne des Weibchens laufen vermutlich über SPR (Abb. 2.10). Einen Hinweis über die Vernetzung könnte man erhalten, indem man die allfällige Abhängigkeit der einzelnen Reaktionen von modifizierten SP nachweist (transgene Männchen 1–3, Kapitel 2.9). Daten dazu sind aber bis jetzt nicht erhältlich.

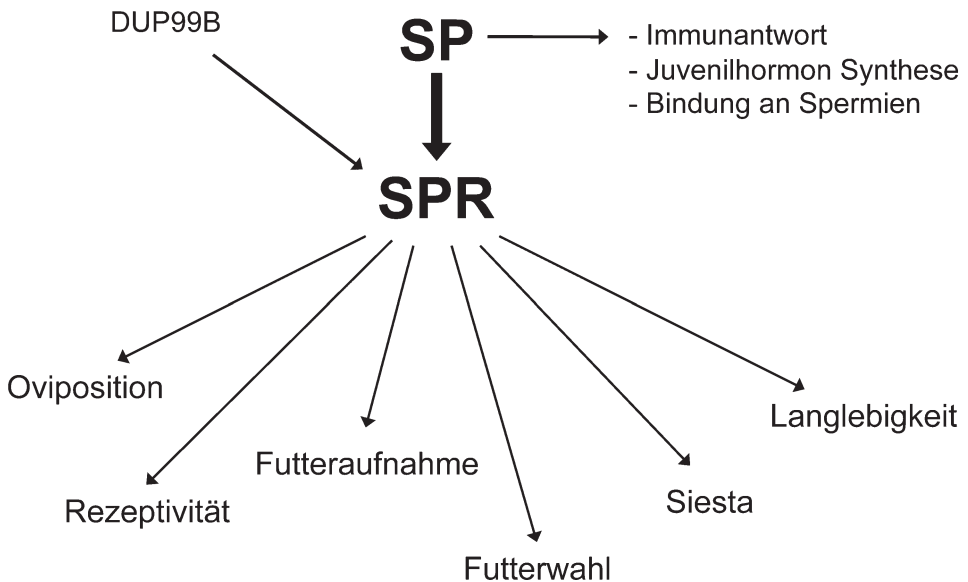


Abb. 2.10.1. Begattungsreaktionen, die von SP und DUP99B via den SP-SPR-Komplex ausgelöst werden, sind durch Pfeile verbunden. Die restlichen Funktionen sind nicht von SPR abhängig. Für DUP99B ist formell nur eine Auslösung von Oviposition und erniedrigter Rezeptivität nachgewiesen worden. Da aber DUP99B mit SPR direkt interagiert, löst es vermutlich auch die restlichen durch SPR vermittelten Reaktionen aus.

Fig. 2.10.1. Post-mating responses elicited by SP and DUP99B via the SP-SPR-complex are indicated by arrows. The other responses are not dependent upon SPR. Formally, DUP99B has only been shown to induce enhanced oviposition and to reduce receptivity. But, as DUP99B also interacts with SPR, it very likely also affects the other response mediated via SPR.

Sex-Peptid ist nur eine der vielen Substanzen, die in der Samenflüssigkeit übertragen werden. Allein die männlichen akzessorischen Drüsen produzieren etwa 100 unterschiedliche Proteine. Dazu gehören nebst SP, DUP99B und Ovulin verschiedenste antimikrobielle Peptide, Proteasen, Lipide, Glycolipide usw. Die gleichen Molekülklassen finden sich auch in der Samenflüssigkeit bis hinauf zu den Wirbeltieren. Nur von den wenigsten ist die Funktion bekannt. Im weiblichen Genitaltrakt treffen sie auf eine ebenso grosse Vielfalt von Molekülen, die vom Weibchen synthetisiert werden. Dort kommt es zu «molekularen sozialen Interaktionen» (SIROT et al., 2010), die «freundlich», aber auch durchaus «feindlich» sein können. Einige der Samenproteine werden nicht gebrauchsfertig geliefert, sie müssen noch im weiblichen Genitaltrakt «verarbeitet» werden. Erst dadurch werden sie funktionell.

In Mariana Wolfner's Labor an der Cornell University wurde das Schicksal und die Interaktion von SP mit anderen Proteinen im weiblichen Genitaltrakt genauer untersucht (SIROT et al., 2010). Für die Kurzzeitreaktion (1–2 Tage) genügt das SP. Für die Langzeitreaktion (ca. eine Woche) hingegen braucht es zusätzlich zum SP zwei Lektine, eine Protease und ein Cystein-reiches, sekretorisches Protein. Diese Proteine funktionieren unabhängig voneinander, sie sind aber in eine Drei-Schritt-Kaskade eingebunden. Der erste Schritt erfolgt auf der Stufe des Transfers der Samenproteine in das Weibchen, der zweite beeinflusst die Stabilität und der dritte die korrekte Lokalisation des SPs im *Rezeptaculum seminis*, dem Speicherorgan für Spermien des weiblichen Genitaltrakts. Ohne diese spezifische Lokalisation läuft die Langzeitreaktion nicht ab. Vierundzwan-

zig Stunden nach der Kopulation sind diese Proteine aber im Weibchen nicht mehr nachweisbar. Sie werden für die korrekte Speicherung des SP gebraucht, und anschliessend werden sie abgebaut. Die Weibchen sind aber keine «stillen Partner» in Bezug auf die vom Männchen übertragenen Substanzen. Eine Vielzahl von weiblichen Proteinen, im Genitaltrakt und anderswo, gewähren einerseits Stabilität, andererseits aber auch einen zeitgerechten Abbau der übertragenen männlichen Peptide und Proteine.

Zum Beispiel sorgen Proteasen in der weiblichen Hämolymphe dafür, dass das SP abgebaut wird. Eine Begattung steigert sogar die Proteasenaktivität in der Hämolymphe und damit das Verschwinden des SP. Dies ist biologisch sinnvoll, da ein Weibchen mit mehreren Männchen kopulieren «will» und nicht durch ein allzu langlebiges SP daran gehindert werden soll. Mehrere Samenproteine agieren also auf verschiedenen Stufen in einem Multikomponenten-Netzwerk, das poetisch als «Battle and Ballet» (M. Wolfner) bezeichnet wurde. Auch hier zeigt sich exemplarisch die enge Verknüpfung der molekularen Akteure in einem biologischen System.

## 2.11 Wem nützt's? Das evolutionäre Seilziehen der Geschlechter

Dass die Beziehungen zwischen den Geschlechtern nicht immer freundschaftlich sind, wurde im Kapitel 2.8 bereits erwähnt. In der englischsprachigen Literatur wird dramatisch vom «war of the sexes» gesprochen. In der Tat verfolgen die beiden Geschlechter ein durchaus egoistisches Ziel, nämlich möglichst viele eigene Nachkommen zu produzieren. Bei der Verfolgung dieses prioritären Ziels ergeben sich mit dem jeweils anderen Geschlecht durchaus Möglichkeiten zur Kooperation, aber auch Konkurrenzsituationen. Das Sex-Peptid ist auch in dieser Hinsicht ein interessantes Molekül, da es in einem Geschlecht produziert wird, seine Wirkung aber im anderen Geschlecht hat. Sex-Peptid ist somit ein Paradebeispiel für einen «extended phenotype»: Das Gen wird im Männchen exprimiert, der «Phänotyp» entwickelt sich aber im Weibchen (DAWKINS, 1982)! In Abb. 2.10.1 sind noch einmal alle bekannten Funktionen von SP zusammengefasst, und Tabelle 1 zeigt eine Zusammenstellung der Wirkungen von SP mit postulierten Vor- und Nachteilen für die beiden Geschlechter. Sex-Peptid hat also durchaus zwei Gesichter. Versuche im Labor von Tracey Chapman (Norwich) zeigten, dass das SP für die Männchen einen absoluten reproduktiven Gewinn garantiert (FRICKE et al., 2008). In einer «Gewichtung über Alles» scheint zurzeit das Männchen im Vorteil zu sein. Aber das kann sich im Verlaufe der Evolution wieder ändern!

Männchen tun dies nach dem Prinzip «fire and forget». Nach der Übertragung des Peptids können sie sich anderen Tätigkeiten zuwenden (sprich: Fressen und weitere Kopulationen), das SP erledigt den Job alleine. Dem Weibchen wurde ein «chemischer Keuschheitsgürtel» verpasst. Nicht alle Insekten haben eine derart raffinierte Methode zur Sicherung der Nachkommenschaft der Männchen entwickelt. Männliche Mistfliegen und Männchen des Reismehlkäfers, zum Beispiel, bewachen ihre Weibchen (mate guarding), ein zeitaufwändiges Verfahren. Die Konkurrenz zwischen Männchen kann aber auch noch auf der Stufe von Spermien im Weibchen geschehen. Das Weibchen ist nämlich durchaus in der Lage, auch noch in ihrem Genitaltrakt die ihr genehmen Spermien auszuwählen. Der «Kampf der Geschlechter» findet also auf unterschiedlichsten Stufen statt. Wer sich für diese Thematik interessiert, dem seien die Bücher von TIM BIRKHEAD «Promiscuity» und von WILLIAM G. EBERHARD «Female control: Sexual selection by cryptic female choice» empfohlen. Besonders bizarre Fälle werden im «The Economist» vom 20. Dezember 1997 vorgestellt: «Dear Dr. Tatiana: Why is sex so much like war?»

**Seitenblicke:** Sex-Peptid verändert das Verhalten des Weibchens so, dass der männliche reproduktive Erfolg erhöht wird. *Drosophila-*

Tab. 2.11 Nutzen (N) und Kosten (K) der durch SP ausgelösten Begattungsreaktionen für Weibchen bzw. Männchen.

Table 2.11 Benefits (N) and costs (K) of postmating responses elicited by SP for females and males, respectively.

Durch SP ausgelöste Reaktionen	Nutzen/Kosten für das Weibchen	Nutzen/Kosten für das Männchen
Steigerung der Eilegerate	N: Koordination der Eilegerate mit Präsenz von Spermien K: reduzierte Lebensspanne	N: effizienter «Einsatz» des Weibchens K: Synthese des SP
Reduktion der Rezeptivität	N: effizienter Einsatz der übertragenen Spermien K: kleinere genetische Variabilität des Nachwuchses	N: mehr eigene Nachkommen effizienter «Einsatz» des Weibchens K: Synthese des SP
Futtermaufnahme und Selektion	N: Energiebedarf gedeckt, optimale Nahrungsquelle benutzt K: Zeitbedarf, Exposition	N: effizienter «Einsatz» des Weibchens K: Synthese des SP
Verhinderung Siesta-Schlaf	N: effizienter Einsatz der Zeit K: eventuell Hitzeschäden	N: effizienter «Einsatz» des Weibchens K: Synthese des SP
Kürzere Lebensspanne	N: – K: weniger Nachkommen	N: mehr eigene Nachkommen K: Synthese des SP
Stimulation des Immunsystems	N: bessere Pathogenabwehr K: Energieaufwand	N: lebensstüchtige Weibchen K: Synthese des SP
Stimulation der Juvenilhormonsynthese	N: Koordination der Eiproduktion mit der Präsenz von Spermien K: –	N: effizienter «Einsatz» des Weibchens K: Synthese des SP
Bindung von SP an die Spermien	N: effiziente Nutzung der Spermien K: weniger genetische Variabilität bei den Nachkommen	N: mehr eigene Nachkommen K: Synthese des SP

### 3 PRAKTISCHE ANWENDUNGEN UND SCHLUSSBETRACHTUNGEN

Warum soll man das Sex-Peptid und die Geschlechtsbestimmung bei Insekten untersuchen? Welchen Nutzen bringt dieses Wissen? Ist es «bloss» von akademischem Interesse? Es ist in diesem Zusammenhang daran zu erinnern, dass Insekten weltweit jährlich Schäden in vielfacher Milliardenhöhe verursachen, vom menschlichen Elend gar nicht zu reden. Da lohnt es sich, alle Optionen auszuleuchten.

Im Kampf gegen Schadinsekten werden heute vermehrt neue Strategien gesucht, die es erlauben, Schädlingspopulationen ohne den Einsatz von umweltschädlichen Substanzen einzudämmen oder gar zu eliminieren. Die Pflanzengentechnologie hat da ihren Platz, wird aber kaum ausreichen, um die Probleme vollständig und nachhaltig zu lösen. Bisher haben sich zwar noch keine direkten Anwendungsmöglichkeiten aus der geschilderten Forschung ergeben, aber die Ergebnisse könnten in der biomedizinischen Forschung und für die Landwirtschaft von grosser Bedeutung sein.

In israelischen Labors wird über Anwendungen der SP-Forschung nachgedacht und experimentiert. Diese Forschung ist ja noch jung und für die Anwendung relevante Resultate sind zum Teil erst in den letzten Jahren gewonnen worden. Weiter gediehen sind mögliche Anwendungen der Erkenntnisse aus der Geschlechtsbestimmung. Sie sollen daher etwas genauer geschildert werden.

Eine neue und sehr effiziente Methode ist die Sterile-Insekten-Technik (SIT). Dazu werden die Schadinsekten im Labor gezüchtet und die Männchen durch ionisierende Strahlung sterilisiert,

so dass sie keine Nachkommen mehr zeugen können. Diese sterilen Männchen werden in grosser Anzahl in Gebieten freigelassen, in denen Schädlingspopulationen ihr Unwesen treiben. Die freigesetzten sterilen Männchen konkurrieren mit den in der Natur lebenden, nicht sterilen Männchen um die Weibchen. Bei genügend grosser Anzahl steriler Tiere werden genügend Weibchen von einem sterilen Männchen begattet. Da dadurch keine Nachkommen entstehen, verringert sich die Population stark. Werden sterile Männchen immer wieder zyklisch in übergrosser Zahl freigelassen, führt dies schliesslich zur kompletten Elimination der natürlichen Population. Mit dieser Technologie wurde die Mittelmeerfliege (*Ceratitis capitata*, schädigt Zitrusfrüchte) in Kalifornien weitgehend ausgerottet. Auch die Tsetse-Fliege (überträgt die Schlafkrankheit) wurde mit flächendeckenden Einsätzen von sterilen Männchen auf der Insel Sansibar bekämpft und 1997 komplett ausgerottet. Dieses Verfahren hat allerdings einen Haken: Die Anwendung ionisierender Strahlung bei Lebewesen führt in der Regel zu Gendefekten (Mutationen). Es besteht daher ein Restrisiko, dass einzelne Tiere durch die Anwendung der ionisierenden Strahlung nicht steril werden und ihre Mutationen in die Natur weitergeben. Es wäre sinnvoller, sterile Männchen auf rein genetischer Basis herzustellen, damit gewährleistet ist, dass sie sich nicht fortpflanzen können. Auch tauchen bei der Massenproduktion steriler Männchen verschiedene Probleme auf. Die Auslese von Millionen von Männchen aus einer gemischten

Population von Männchen und Weibchen ist sehr aufwändig. Und wohin mit den vielen Weibchen, die nicht verwendet werden? Das Wissen um die molekulare Grundlage der Geschlechtsbestimmung könnte hier helfen. Ein Schädling könnte derart genetisch verändert werden, dass unter bestimmten Zuchtbedingungen eine Geschlechtsumkehr induziert werden kann. Man könnte z. B. ein Gen einpflanzen, das bei Erhöhung der Bruttemperatur oder durch bestimmte Futterzusätze aktiviert wird und das dadurch das *tra*-Gen ausschaltet. Dadurch würden sich auch genetisch weibliche XX-Individuen zu Männchen entwickeln. Da eine solche Geschlechtsumkehr oft zur Sterilität führt, gewinnt man (1) mehr Männchen, da sich alle XX-Individuen männlich entwickeln, und (2) kann man auf die Anwendung von ionisierenden Strahlen verzichten. Es gibt verschiedene Forschungsgruppen, die an diesem Verfahren arbeiten. Erste Versuche mit *Drosophila* haben gezeigt, dass dieses Prinzip grundsätzlich anwendbar ist. Man kann bei *Drosophila* tatsächlich durch gezielte Aktivierung von transgenen Konstrukten eine Geschlechtsumkehr mit einhergehender Sterilität auslösen. Damit solche Versuche auch bei anderen Insektenarten gelingen, braucht es detaillierte Kenntnisse über die genetische Steuerung der Geschlechtsbestimmung. Unsere Arbeit mit der Tsetse-Fliege, die mit der Stubenfliege verwandt ist, und die Ergebnisse unserer Kollegen mit der *Anopheles*-Mücke und anderen bekannten Krankheitsüberträgern, soll dazu beitragen, geeignete genetische Strategien zu entwickeln, die das SIT-Verfahren in Bezug auf Rentabilität und Effizienz wesentlich verbessern.

In diesem Zusammenhang stellt sich eine weitere Frage: Wie weit sind Forschungen

mit einem Modellorganismus nicht nur von praktischer, sondern auch von theoretischer Relevanz? Mit anderen Worten: Können die geschilderten Erkenntnisse verallgemeinert werden? Eine ehrliche Antwort lautet «jein». In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass *Drosophila*, zumindest was die Entwicklungsbiologie und die Geschlechtsbestimmung betrifft, einen Spezialfall darstellt. Im Teil 1 «Geschlechtsbestimmung bei Insekten» wurde dies deutlich. Vermutlich gilt dies auch für das Sex-Peptid. Soll man, als Konsequenz davon, die Forschung an Modellorganismen aufgeben? Da lautet die Antwort definitiv: NEIN. Modellorganismen wurden auf Grund verschiedenster pragmatischer, technischer und theoretischer Kriterien ausgewählt, um einen besonders effektiven Zugang zu biologischen Systemen zu gewährleisten. Sie bilden in vielen Gebieten der Biologie die «Speerspitze» der Forschung und können uns Ideen liefern, wie solche Prozesse bei anderen Organismen ablaufen. Sie ersetzen aber keinesfalls das Studium anderer Arten. Für die Praxis gilt ganz besonders: Nur eine intelligente Kombination verschiedenster Techniken mit gründlichem biologischem Wissen wird Aussicht auf akzeptablen Erfolg gewähren. Und auch hier gilt: «there is no free lunch»! Man wird die bestmögliche Lösung auswählen müssen, ohne auf einen garantierten und dauernden Erfolg hoffen zu dürfen. In einzelnen glücklichen Fällen mag dies allerdings gelingen, wie z. B. in der oben geschilderten Ausrottung der Tsetse-Fliege auf Sansibar.

Wir haben unsere Ausführungen mit einem Zitat von Richard Dawkins begonnen. Aus dem überwältigenden Reichtum der Reproduktionsbiologie konnten wir nur einzelne bunte Mosaiksteinchen präsentieren. Auch heute noch kratzen

wir an vielen Orten erst an der Oberfläche dieser ungeheuren Fülle. Wir möchten auch daran erinnern, dass *Homo sapiens* nicht ausserhalb steht. Etwa die Hälfte unserer Gene teilen wir mit *Drosophila*, und auch die Zahl der Gene ist bei uns nur geringfügig höher (beide Arten besitzen ca. 20 000 Gene). Wir sind also mit dabei in mehrfachem Sinne: als Mitglieder, als Zuschauer und als Akteure bei der «greatest show on earth»!



## WEITERFÜHRENDE LITERATUR

- BACHTROG, D., 2006. A dynamic view of sex chromosome evolution. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16, 578–585.
- BOPP, D., BELL, L. R., CLINE, T. W. & SCHEDL, P., 1991. Developmental distribution of female-specific sex-lethal proteins in *Drosophila melanogaster*. *Genes & Development* 5, 403–415.
- BOWNES, M., 1994. The regulation of the yolk protein genes, a family of sex differentiation genes in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays* 16, 745–752.
- BRIDGES, C. B., 1921. Triploid Intersexes in *Drosophila melanogaster*. *Science* 54, 252–254.
- CARVALHO, G.B., KAPAHI, P., ANDERSON, D.H. & BENZER, S., 2006. Allocrine modulation of feeding behavior by the sex peptide of *Drosophila*. *Curr. Biol.* 16, 692–696.
- CHEN, P.S., STUMM-ZOLLINGER, E., AIGAKI, T., BALMER, J., BIENZ, M. & BÖHLEN, P., 1988. A male accessory gland peptide that regulates reproductive behavior of female *D. melanogaster*. *Cell* 54, 291–298.
- CLINE, T. W., 1978. Two closely linked mutations in *Drosophila melanogaster* that are lethal to opposite sexes and interact with *daughterless*. *Genetics* 90, 683–698.
- CLINE, T. W. & B. J. MEYER, 1996. Vive la différence: males vs females in flies vs worms. *Annu. Rev. Genet.* 30, 637–702.
- CLYNE, J.D. & MIESENBOCK, G., 2009. Postcoital finesse. *Neuron* 61, 491–493.
- DAWKINS, R., 1982. The Extended Phenotype. The Gene as the Unit of Selection. Freeman, Oxford and San Francisco. 307 pp.
- DAWKINS, R., 2009. The Greatest Show on Earth: The Evidence for Evolution. Free Press, New York, London, Toronto, Sydney. 470 pp.
- DOMANITSKAYA, E., LIU, H., CHEN, S. & KUBLI, E., 2007. The hydroxyproline motif of male sex peptide elicits the innate immune response in *Drosophila* females. *FEBS J.* 274, 5659–5668.
- DUBENDORFER, A., HEDIGER, M., BURGHARDT, G. & BOPP, D., 2002. *Musca domestica*, a window on the evolution of sex-determining mechanisms in insects. *Int. J. Dev. Biol.* 46, 75–79.
- FORCH, P. & VALCARCEL, J., 2003. Splicing regulation in *Drosophila* sex determination. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 31, 127–151.
- FOX, A.S., MEAD, C.G. & MUNYON, I.L., 1959. Sex-Peptide of *Drosophila melanogaster*. *Science* 129, 1489–1490.

- FRICKE, C., BRENEMAN, A. & CHAPMAN, T., 2008. Adult male nutrition and reproductive success in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 62, 3170–3177.
- GEMPE, T., HASSELMANN, M., SCHIOTT, M., HAUSE, G., OTTE, M. et al., 2009. Sex determination in honeybees: two separate mechanisms induce and maintain the female pathway. *PLoS Biol* 7, e1000222.
- GEORGES, A., EZAZ, T., QUINN, A. E. & SARRE, S. D., 2010. Are reptiles predisposed to temperature-dependent sex determination? *Sex Dev* 4, 7–15.
- GILLOTT, C., 2003. Male accessory gland secretions: modulators of female reproductive physiology and behavior. *Annu. Rev. Entomol.* 48, 163–184.
- HEDIGER, M., HENGGELE, C., MEIER, N., PEREZ, R., SACCONI, G. & BOPP, D., 2010. Molecular characterization of the key switch *F* provides a basis for understanding the rapid divergence of the sex-determining pathway in the housefly. *Genetics* 184, 155–170.
- HENDERSON, M., 2010. Genetik. 50 Schlüsselfragen. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 207 pp.
- HORNETT, E. A., CHARLAT, S., WEDELL, N., JIGGINS, C. D. & HURST, G. D., 2009. Rapidly shifting sex ratio across a species range. *Curr. Biol.* 19, 1628–1631.
- ISAAC, R.E., LI, C., LEEDALE, A.E. & SHIRRAS, A. D., 2009. *Drosophila* male sex peptide inhibits siesta sleep and promotes locomotor activity in the post-mated female. *Proc. R. Soc.* 277, 65–70.
- KIM, Y.J., BARTALSKA, K., ADSLEY, N., YAMANAKA, N., LEE, J.Y., KIM, Y.C., MARKOVIC, M., ISAAC, E., TANAKA, Y. & DICKSON, B.J., 2010. MIPs are ancestral ligands for the sex peptide receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 6520–6525.
- KRSTIC, D., BOLL, W. & NOLL, M., 2009. Sensory integration regulating male courtship behavior in *Drosophila*. *PLoS One* 4, e4457.
- KUBLI, E., 2003. Sex-peptides: seminal peptides of the *Drosophila* male. *Cell. Mol. Life Sci.* 60, 1689–1704.
- KUBLI, E., 2008. Sexual behaviour: a receptor for sex control in *Drosophila* females. *Curr. Biol.* 18, R210–R212.
- KUBLI, E., 2010. Sexual behaviour: dietary food switch induced by sex. *Curr. Biol.* 20, R474–R476.
- KUMMER, H., 1960. Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Fortpflanzungsfaktoren auf die Lebensdauer von *Drosophila melanogaster*. *Z. vergl. Physiol.* 43, 642–679.
- LIU, H. & KUBLI, E., 2003. Sex-peptide is the molecular basis of the sperm effect in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 9929–9933.
- NÖTHIGER, R. & STEINMANN-ZWICKY, M., 1985. A single principle for sex determination in insects. *Cold Spring Harbour Symp.* 50, 615–621.

- PARKHURST, S. M., BOPP, D. & ISH-HOROWITZ, D., 1990. X:A ratio, the primary sex-determining signal in *Drosophila*, is transduced by helix-loop-helix proteins. *Cell* 63, 1179–1191.
- PENG, J., CHEN, S., BÜSSER, S., LIU, H., HONEGGER, T. & KUBLI, E., 2005a. Gradual release of sperm-bound sex-peptide controls female postmating behavior in *Drosophila*. *Curr. Biol.* 15, 207–213.
- PENG, J., ZIPPERLEN, P. & KUBLI, E., 2005b. *Drosophila* sex-peptide stimulates female innate immune system after mating via the Toll and Imd pathways. *Curr. Biol.* 15, 1690–1694.
- POELS, J. VAN LOY, T., VANDERSMISSEN, H.P., VAN HIEL, B., VAN SOEST, S., NACHMAN, R.J. & VANDEN BROECK, J., 2010. Myoinhibiting peptides are the ancestral ligands of the promiscuous *Drosophila* sex peptide receptor. *Cell. Mol. Life Sci.*, 67, 3511–3522.
- SIROT, L.K., LAFLAMME, B.A., SITNIK, J.L., RUBINSTEIN, C.D., AVILA, F.W., CHOW, Y. & WOLFNER, M.F., 2009. Molecular social interactions: *Drosophila melanogaster* seminal fluid proteins as a case study. *Adv. Genet.* 68, 23–56.
- STYGER-SCHMUCKI, D., 1992. Molekulare Analyse des Sexpeptidgens aus *Drosophila melanogaster*. Dissertation, Universität Zürich.
- SUZUKI, M. G., FUNAGUMA, S., KANDA, T., TAMURA, T. & SHIMADA, T., 2003. Analysis of the biological functions of a *doublesex* homologue in *Bombyx mori*. *Dev. Genes Evol.* 213, 345–354.
- TRAUT, W., SAHARA, K. and MAREC, F., 2007. Sex chromosomes and sex determination in Lepidoptera. *Sex. Dev.* 1, 332–346.
- ULLERICH, F.-H., 1984. Analysis of sex determination in the monogenic blowfly *Chrysomya rufifacies* by pole cell transplantation. *Mol. Gen. Genet.* 193, 479–487.
- VAN WILGENBURG, E., DRIESSEN, G. & BEUKEBOOM, L. W., 2006. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an «unintelligent» design? *Front Zool* 3, 1.
- VERHULST, E. C., BEUKEBOOM, L. W. & VAN DE ZANDE, L., 2010. Maternal control of haplo-diploid sex determination in the wasp *Nasonia*. *Science* 328, 620–623.
- VILLELLA, A. & HALL, J. C., 2008. Neurogenetics of courtship and mating in *Drosophila*. *Adv. Genet.* 62, 67–184.
- WHITFIELD, J., 2004. Everything you always wanted to know about sexes. *PLoS Biol.* 2: e183.
- WIGBY, S. & CHAPMAN, T., 2005. Sex peptide causes mating costs in female *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.* 15, 316–321.
- WILSON, E. B., 1905. The chromosomes in relation to the determination of sex in insects. *Science* 22, 500–502.

WOLFNER, M.F., APPLEBAUM, S. & HEIFETZ, Y., 2005. Insect gonadal glands and their products. In: «Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology». L. Gilbert, K. Iatrou & S. Gill, pp. 179–212. Elsevier, Amsterdam.

YAMANAKA, N., HUA, Y.-J., ROLLER, L., SPALOVSKA-VALACHOVA, I., MIZOGUCHI, A., KATAOKA, H. & TANAKA, Y., 2010. Bombyx prothoracicostatic peptides activate the sex peptide receptor to regulate ecysteroid biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 2060–2065.

YAPICI, N., KIM, Y.-J., RIBEIRO, C. & DICKSON, B.J., 2008. A receptor that mediates the post-mating switch in *Drosophila* reproductive behaviour. *Nature* 451, 33–37.





**Adresse der Autoren**

Prof. Dr. Eric Kubli, Dr. Daniel Bopp  
Institut für Molekulare Biologie  
Universität Zürich  
Winterthurerstrasse 190  
CH-8057 Zürich  
Schweiz  
Email: [ekubli@zool.uzh.ch](mailto:ekubli@zool.uzh.ch), [daniel.bopp@imls.uzh.ch](mailto:daniel.bopp@imls.uzh.ch)

**DANKSAGUNG**

Zu allererst möchten wir unseren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern herzlich danken für die Erarbeitung eines guten Teils der Resultate, die in diesem Neujahrsblatt vorgestellt werden. Wir danken auch Andreas Dübendorfer, Jürg Frey, Frank Klötzli und Claudia Kunfermann für hilfreiche Kommentare zum Manuskript, Sarah Steinbacher und Stephanie van Grondel (Informatikdienste der Universität Zürich, MELS) für gekonnte grafische Arbeiten und der Julius-Klaus-Stiftung für einen Beitrag an die Druckkosten.

