



JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ

„Gedächtnismechanismen und Gehirnstrukturen
der Verhaltenskontrolle zum Umgang mit
konkurrierenden visuellen Stimuli bei
Drosophila melanogaster“

Dissertation
zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“

Fachbereich Biologie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Stefanie Flethe
geboren am 30.10.1982 in Werne an der Lippe

Mainz, Mai 2018

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Lernen und Gedächtnis.....	1
1.2 Lernen und Gedächtnis bei <i>Drosophila melanogaster</i>	2
1.3 Biochemie des visuellen Arbeitsgedächtnisses	4
1.4 Memotaxis – die Funktionsweise eines visuellen Kurzzeitintegrators bei	
<i>Drosophila melanogaster</i>	7
1.5 Weitere visuelle Orientierungsstrategien	9
1.6 Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit und Entscheidungsprozesse.....	10
1.7 Der Modellorganismus <i>Drosophila melanogaster</i>	12
1.8 Neuroanatomie von <i>Drosophila melanogaster</i>	16
1.8.1 Der Ellipsoidkörper.....	18
1.8.2 Der Pilzkörper.....	21
1.9 Die Rolle der NMDA-Rezeptoren.....	23
1.10 Fragestellungen und Aufbau der Arbeit	27
2. Material und Methoden	30
2.1 Fliegenaufzucht und die verwendeten Stämme	30
2.2 Der Versuchsaufbau und das Memotaxis-Paradigma	32
2.3 Das Detour-Paradigma	35
2.4 Statistische Auswertung der Daten aus dem Memotaxis-Paradigma.....	37
2.5 Gehirnschnittpräparate und Mikroskopie	39
3. Ergebnisse	41
3.1 Analyse der Funktion von Ringneuronen des Ellipsoidkörpers im Memotaxis-Paradigma	41
3.2 Bedeutung des Gens <i>ebo</i> im Memotaxis-Paradigma	45
3.3 Expression von Tetanustoxin im Pilzkörper.....	53
3.4 Das Verhalten der klassischen Lernmutanten <i>dnc</i> ¹ , <i>Pka-C1</i> ^{H2} und <i>rut</i> ¹ im Memotaxis-Paradigma	55
3.4.1 <i>Knockdown</i> von <i>rut</i> in den vier Subtypen der Ringneuronen.....	59
3.4.2 Die Beteiligung der Proteinkinase G an der Etablierung eines Kurzzeitintegrators.....	64
3.4.3 Der Einfluss von <i>ign</i> ^{58/1} und <i>crebB</i> ^{S162} auf die visuelle Orientierung	66
3.5 Die Beteiligung der Nitritoxid-Synthase an der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma	75
3.6 Analyse der Rolle der NMDA-Rezeptoren im Memotaxis-Verhalten.....	79
3.6.1 Die Rolle des spannungsabhängigen Ca ²⁺ -Einstroms durch die NMDA-Rezeptoren.....	87
3.7 NMDA-Rezeptoren sind an der Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses beteiligt.....	88
3.7.1 Die Rolle des Ca ²⁺ -Einstroms im Detour-Paradigma.....	90

4. Diskussion	93
4.1 Die Rolle des Ellipsoidkörpers bei der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma.....	94
4.2 Pilzkörper und die visuelle Kurzzeitintegration.....	98
4.3 Die Rolle des cAMP-Signalwegs für die Aktivierung eines visuellen Kurzzeitintegrators.....	103
4.4 Die Beteiligung des cGMP-Signalwegs an der visuellen Kurzzeitintegration.....	108
4.5 Die Rolle der NMDA-Rezeptoren für die Memotaxis und das visuelle Kurzzeitgedächtnis.....	113
4.6 Landmarkenanläufe und zurückgelegte Strecken.....	124
4.7 Modell zur Funktionsweise eines visuellen Kurzzeitintegrators bei <i>Drosophila melanogaster</i>	127
5. Zusammenfassung	139
6. Summary	141
7. Verzeichnisse	142
7.1 Literaturverzeichnis.....	142
7.2 Abbildungsverzeichnis.....	160
7.3 Tabellenverzeichnis.....	163
7.4 Abkürzungsverzeichnis.....	166
8. Anhang	168
8.1 Statistik.....	168
8.1.1 Beispiel für die statistische Auswertung der mutanten Stämme <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ und <i>ebo</i> ^{KS263}	168
8.1.2 TNT-Silencing der R-Neuronen im Ellipsoidkörper.....	169
8.1.3 Statistische Analyse zur Expression von Tetanustoxin im Pilzkörper.....	171
8.1.4 Statistische Analyse des Stammes <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ / <i>yw</i> ^a FM7a.....	172
8.1.5 Statistische Analyse des Stammes <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ / <i>Y</i> ;UAS-3282 ^{M7} / <i>CyO</i>	173
8.1.6 Expression der wildtypischen cDNA von <i>ebo</i> ⁺ in einem <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ -mutanten Hintergrund.....	174
8.1.7 <i>dnc</i> ¹ / <i>Y</i> , <i>Pka-C1</i> ^{H2} , <i>dnc</i> ¹ / <i>Y</i> ; <i>Pka-C1</i> ^{H2}	175
8.1.8 CS ♀, homozygote <i>dnc</i> ¹ und doppelt heterozygote <i>rut</i> ¹ / <i>X</i> ; <i>Pka-C1</i> ^{H2} / <i>II</i> -Mutanten.....	176
8.1.9 <i>Knockdown</i> von <i>rut</i> in den Ringneuronen.....	177
8.1.10 <i>for</i> ^R und <i>for</i> ^S	179
8.1.11 <i>ign</i> ^{58/1} / <i>Y</i> und <i>crebB</i> ^{S162} / <i>X</i>	180
8.1.12 Expression wildtypischer cDNA von <i>ign</i> ²⁻¹ im <i>ign</i> ^{58/1} -mutanten Hintergrund–Detour-Paradigma.....	181
8.1.13 Expression wildtypischer cDNA von <i>ign</i> ²⁻¹ im <i>ign</i> ^{58/1} -mutanten Hintergrund–Memotaxis-Paradigma.....	182

8.1.14	<i>Knockdown</i> von NOS in den R3-Neuronen, Detour-Paradigma	185
8.1.15	<i>Knockdown</i> von NOS in den R3-Neuronen, Memotaxis-Paradigma.....	185
8.1.16	Konstitutive Überexpression von NOS in den R3-Neuronen.....	186
8.1.17	UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi} mit VT25526-GAL4 (R4m)	187
8.1.18	<i>Knockdown</i> der dNR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors (Stock-Nr.: 25941) und Analyse im Memotaxis-Paradigma	189
8.1.19	Codon Substitution innerhalb der dNR1-Untereinheit (Stamm: UAS- <i>dNR1</i> (N631Q))–Memotaxis-Paradigma	191
8.1.20	<i>Knockdown</i> der dNR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors (Stock-Nr.: 25941) und Analyse im Detour-Paradigma	192
8.1.21	Codon Substitution innerhalb der dNR1-Untereinheit (Stamm: UAS- <i>dNR1</i> (N631Q))–Detour-Paradigma.....	194
8.2	Histologische Präparate.....	194

1. Einleitung

1.1 Lernen und Gedächtnis

Lernen bezeichnet den Erwerb von Wissen oder Fähigkeiten, während der Begriff Gedächtnis für Informationen verwendet wird, die in einem neuronalen Netzwerk bereits abgespeichert wurden und abrufbar sind (Davis et al., 2005). Unterschieden werden das nicht-assoziative Lernen und das assoziative Lernen (Pereira und van der Kooy, 2012). Assoziatives Lernen umfasst die operante Konditionierung und die klassische Konditionierung, während das nicht-assoziative Lernen Habituation und Sensitivierung beinhaltet (Bear, Connors, Paradiso, 2016).

Eric Kandel untersuchte an der Meeresschnecke *Aplysia* zunächst die Habituation des Kiemenrückzugreflexes, eine nicht-assoziative Form des Lernens. Zum einen stellte er fest, dass die Reaktion nach mehrfacher mechanischer Reizung am Siphon nachlässt. Diese Habituation basiert auf einer reizinduzierten Veränderung im Nervensystem. Er konnte aber auch zeigen, dass der Kiemenrückzugreflex konditionierbar ist, wenn die mechanische Reizung mit einem elektrischen Schock am Fuß der Schnecke kombiniert wird. Nach der Konditionierung verursachte die mechanische Reizung alleine den Kiemenrückzugreflex. Darüber hinaus entdeckte er einige Schlüsselkomponenten des cAMP/PKA-Signalweges, die den cAMP-Haushalt in der Zelle regulieren und damit die Reaktion einer Zelle auf einen Reiz modulieren (Kandel et al., 1983; Kandel, 2012). Da der cAMP/PKA-Signalweg für die vorliegende Studie von zentraler Bedeutung ist, wird im folgenden Kapitel näher darauf eingegangen. Die Sensitivierung ist eine nicht-assoziative Form des Lernens, dabei nimmt das Antwortverhalten gegenüber einem Stimulus zu. Versuche an Katzen zeigten, dass sich das Antwortverhalten des vorderen Schienbeinmuskels erhöht, wenn ein elektrischer Stimulus verabreicht wird (Durkovic, 1975). Eine assoziative Lernform ist die klassische Konditionierung. Bei der klassischen Konditionierung wird der Zusammenhang zwischen verschiedenen Stimuli erlernt. So verknüpft der Pavlov'sche Hund nach einer Lernphase das Klingeln der Glocke mit der Gabe von Nahrung (Pavlov, 1927). Im Tully-Quinn-Paradigma ist es möglich, den Prozess der klassischen Konditionierung mit Hilfe von aversiven und appetitiven olfaktorischen Stimuli an *Drosophila melanogaster* zu untersuchen. Die ersten Mutanten zeigen, dass sie lernen können, jedoch nicht in der Lage sind, das Gelernte in Form eines Gedächtnisses länger als 30 Minuten abzu-

speichern (Tully und Quinn, 1985). So wurden die ersten Fliegenstämme mit Mutationen in den Genen *rutabaga*, *dunce* und *amnesiac* isoliert (Davis et al., 2005). Im Gegensatz zu der operanten Konditionierung ist im Fall der Pavlov'schen Konditionierung kein aktives Verhalten notwendig. Bei der operanten Konditionierung lernt ein Individuum aus der eigenen Erfahrung, dass eine Veränderung des Verhaltens zum Ziel führen kann. In einem Verhaltensversuch lernten Krähen zum Beispiel durch das Benutzen eines Werkzeuges an ein anderes Werkzeug zu gelangen, um damit ein Stück Fleisch zu erreichen (Taylor et al., 2010). Den Grundstein bezüglich der wissenschaftlichen Untersuchungen im Zusammenhang mit der operanten Konditionierung legte der amerikanische Psychologe Burrhus Frederic Skinner. Er gilt als einer der bedeutsamsten Psychologen des 20. Jahrhunderts (Haggbloom et al., 2002). Er entwickelte die sogenannte Skinner-Box, mit dessen Hilfe operante Konditionierung an Ratten untersucht werden kann. Dabei untersuchte er vor allem Verhaltensweisen, die erst nach einem Reiz aus der Umwelt verstärkt werden und etablierte damit den Begriff der operanten Konditionierung. Drückt eine Ratte einen Hebel in der Skinner-Box wenn gleichzeitig ein Licht aufleuchtet, so erhält sie ein Futterpellet. Tut sie es nicht, so erhält sie einen leichten Stromstoß. Die operante Konditionierung bewirkt, dass die Ratte sehr schnell den Hebel drückt, wenn die Lampe aufleuchtet (Skinner, 1938; Skinner, 1963). Auch bei *Drosophila melanogaster* kann die operante Konditionierung untersucht werden. Mit Hilfe der Hitze-Box, in der die Fliege lernen kann, eine Kammer mit einer aversiven Temperatur aktiv zu vermeiden, ist es mittlerweile möglich, operante Lernvorgänge bei *Drosophila melanogaster* zu untersuchen. Unter Ausnutzung dieses Verhaltensmusters konnte eine weitere Lernmutante *ignorant*^{58/1} isoliert werden (Putz et al., 2004).

1.2 Lernen und Gedächtnis bei *Drosophila melanogaster*

Die wissenschaftlichen Untersuchungen des olfaktorischen Lernens und der Etablierung eines olfaktorischen Gedächtnisses führten zur Identifizierung einiger molekularer und neuronaler Schlüsselkomponenten. Populär in diesem Zusammenhang ist insbesondere der cAMP/PKA-Signalweg, dessen Komponenten essentiell für die Etablierung eines Gedächtnisses und für Lernvorgänge sind (McGuire et al., 2005). Als entscheidende Signalgeber beim olfaktorischen Lernen sind die Phosphodiesterase, welche durch das Gen *dunce* (*dnc*) codiert wird, und die olfaktorische Typ I Ca²⁺/Calmodulin-abhängigen Adenylylzyklase (AC) zu nennen. Diese wird von dem Gen *rutabaga* (*rut*) codiert. Für die Synthese des zyklischen Adeno-

sin-3',5'-Monophosphats (cAMP) benötigt sie zum einen ein aktiviertes heterotrimeres G-Protein innerhalb der Membran der Postsynapse (Signal 1) und zum anderen den Einstrom von Ca^{2+} (Signal 2) (vgl. Abb. 1) (McGuire et al., 2005; Schwaerzel et al., 2007).

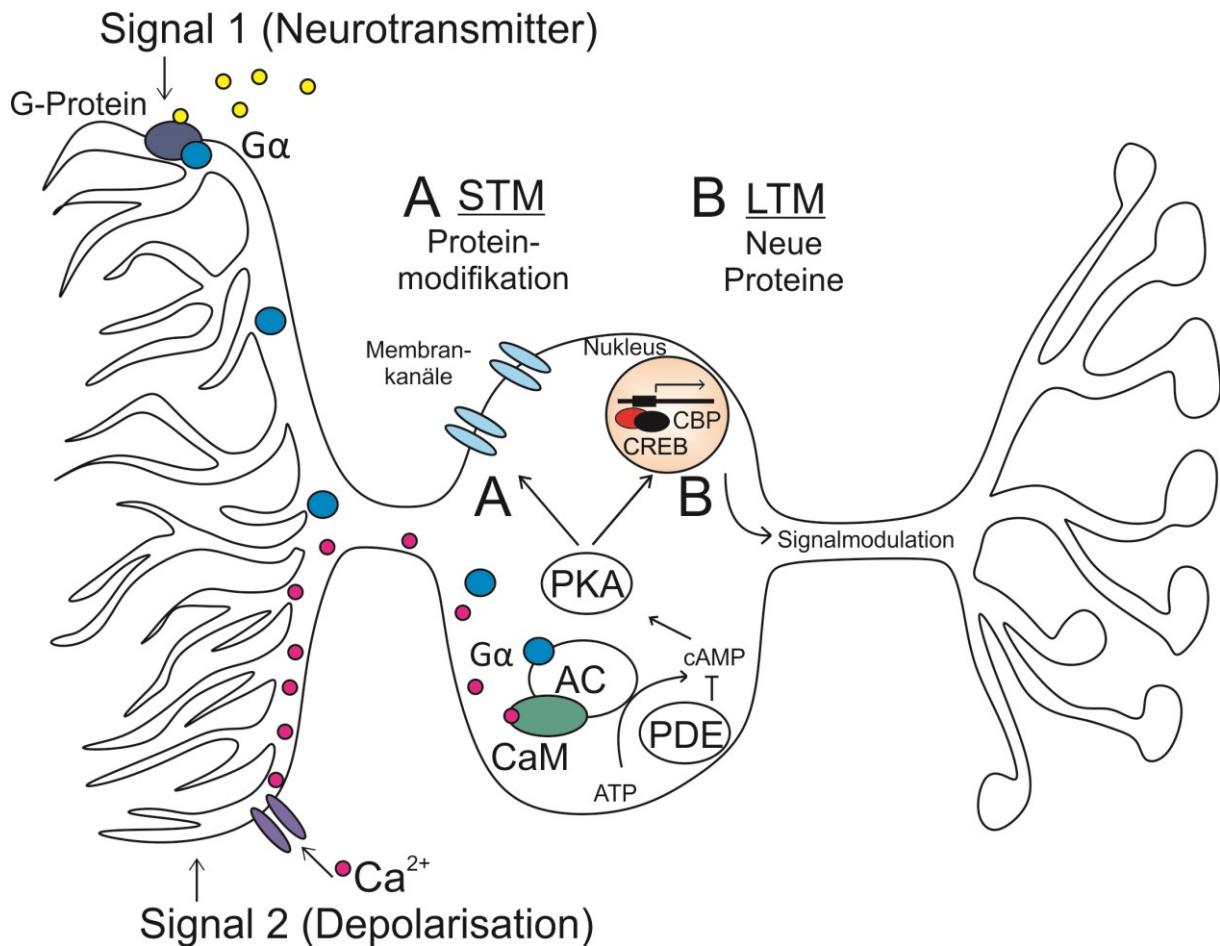


Abb. 1. Biochemische Signalkaskade zur Bildung eines Kurzzeit- und Langzeitgedächtnisses. Neurotransmitter aktivieren ein G-Protein, die G_{α} -Untereinheit wird abgespalten und bindet an die Adenylzyklase (AC) (Signal 1). Ein weiteres Neuron löst exzitatorische postsynaptische Potenziale aus, so dass der Schwellenwert erreicht wird und Ca^{2+} in die Zelle gelangt (Signal 2). Beide Vorgänge aktivieren die doppelt regulierte AC, die zyklisches Adenosin-3',5'-Monophosphat (cAMP) generiert. Der sekundäre Botenstoff aktiviert die Proteinkinase A (PKA), die Transmembranproteine und Enzyme phosphoryliert und damit in ihrer Aktivität modulieren kann. Durch diese Vorgänge kann ein Kurzzeitgedächtnis (STM) entstehen. Die Phosphodiesterase (PDE) kann cAMP inhibieren. Bei kurz aufeinander folgender oder längerer Depolarisation wird der Transkriptionsfaktor cAMP-response element binding protein (CREB) im Nucleus, der zusammen mit einem Cofaktor CREB-binding protein (CBP) Transkriptionsvorgänge an der DNA steuern kann, von der PKA aktiviert. Durch Transkription und Translation kann eine dauerhafte, strukturelle Modifikation von Neuronen erfolgen und es bildet sich ein Langzeitgedächtnis (LTM) (verändert nach Waddel und Quinn, 2001).

Bei der olfaktorischen Duftkonditionierung verknüpft der Organismus Fliege einen olfaktorischen Stimulus (Signal 2) mit einem aversiven oder appetitiven Stimulus (Signal 1). Der aversive Stimulus, z. B. ein elektrischer Schock, verursacht die Freigabe des Katecholamins Dopamin. Ein appetitiver Stimulus, z.B. die Gabe von Zucker, bewirkt die Freigabe des Katecholamins Octopamin. In beiden Fällen ist der cAMP-Signalweg involviert (Waddel und Quinn, 2001; Schwaerzel et al., 2003). Die G_{α} -Einheit des G-Protein-gekoppelten Rezeptors

wird nach der Aktivierung des Rezeptors freigesetzt. Sie kann zusammen mit dem Calcium-Calmodulin-Komplex ($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -Komplex) die AC aktivieren (Keene und Waddel, 2007). Erst diese Koinzidenzdetektion verursacht die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) durch cAMP und damit die Phosphorylierung von anderen Enzymen und Membranproteinen.

Durch Phosphorylierung wird die Aktivität der Enzyme und Membrankanäle moduliert (vgl. Abb. 1). Beispielsweise schließen sich K^+ -Hintergrundkanäle in der Membran, so dass sich das Ruhepotenzial dem Schwellwert nähert. So kann die Zelle leichter ein Aktionspotenzial auslösen und damit aktiviert werden. Dieser Prozess ist für das Lernen von großer Bedeutung und im gesamten Tierreich konserviert (Zars et al., 2000, Sokolowski, 2001). Für die Etablierung eines Kurzzeitgedächtnisses (STM) ist die Proteinmodifikation von zentraler Bedeutung (vgl. Abb. 1). Die posttranslationale Modifikation von Enzymen und Proteinen durch Phosphorylierung stellt aber nur eine kurzzeitige Veränderung in der Aktivität dar, da sie schnell durch Phosphodiesterasen oder Phosphatasen wieder in ihre ursprüngliche Konformation zurückgebracht werden können (Blokland et al., 2006; Mansuy et al., 2006; Hättig, 2009). Die Bildung eines Langzeitgedächtnisses (LTM) erfordert die dauerhafte, strukturelle Veränderung an den Synapsen zwischen den Neuronen und beruht im Wesentlichen auf der Aktivierung der Genexpression. So werden zum Beispiel die synaptischen Verbindungen weiter ausgebaut, wozu neues Zellmaterial, aber auch neue Proteine, benötigt werden (vgl. Abb. 1). Eine Voraussetzung ist, dass die PKA dauerhaft oder mehrmals in Folge aktiviert wird (Hammer et al., 1995). Diese bewirkt infolgedessen die Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors cAMP-response element binding protein (CREB) im Nukleus, der zusammen mit dem Cofaktor CREB-binding protein (CBP) die Transkription und damit die Expression neuer Proteine aktiviert (Deisseroth et al., 1996; Sokolowski, 2001; Waddel und Quinn, 2001). Für die Etablierung eines Gedächtnisses spielen vor allem biogene Amine wie Dopamin, Octopamin und Serotonin eine entscheidende Rolle (Sitaraman et al., 2012).

1.3 Biochemie des visuellen Arbeitsgedächtnisses

Für das visuelle Arbeitsgedächtnis bei *Drosophila melanogaster* sind sowohl die Nitritoxid-Synthase (NOS) als auch die Cystathionin- β -Synthase (CBS) in den R3-Neuronen des Ellipsoidkörpers essentiell (Kuntz et al., 2017). In Folge der Transsulfurierung entsteht aus Homocystein mit Hilfe der CBS die Aminosäure Cystein und Schwefelwasserstoff (H_2S) (Paul und Snyder, 2012). Innerhalb des Metabolismus von Arginin zu Citrullin fungiert NOS als Katalysa-

tor, infolgedessen entsteht NO. H₂S und NO modulieren den cGMP-Spiegel. Eigentlich ist H₂S bekannt als toxisches Gas, jedoch konnte innerhalb eines Organismus die Stoffwechselaktivität von CBS nachgewiesen werden. CBS wird stark im Hippocampus und im Cerebellum exprimiert. Vermutlich übernimmt es im Gehirn eine Rolle als Neuromodulator (Kimura, 2000). Bei Mäusen unterstützt der CBS/H₂S-Signalweg Lernprozesse und Gedächtnisfunktionen (Bruintjes et al., 2014). Im Hippocampus fungiert NO als retrograder Botenstoff und steuert die Langzeitpotenzierung (Abe und Kimura; 1996). Für das visuelle Arbeitsgedächtnis bei *Drosophila melanogaster* ist der cGMP-Spiegel essentiell, sowohl CBS als auch NOS sind in der Lage, den cGMP-Spiegel zu modulieren (vgl. Abb. 2).

Das durch NOS produzierte NO aktiviert die im Zytosol vorhandene, lösliche Guanylylzyklase (sGC), die durch das Gen *dgca1* codiert wird, und in der Lage ist, den cGMP-Spiegel zu modulieren (Kuntz et al., 2012; 2017). Bei *Drosophila melanogaster* gibt es sowohl lösliche als auch membrangebundene GCs die GTP zu cGMP dephosphorylieren. Sie nehmen an unterschiedlichen zellulären und physiologischen Prozessen, wie z.B. axonale Repulsion und Attraktion oder die Etablierung exakter dendritischer Verästelungen, teil (Chak und Kolodkin, 2014). CBS moduliert ebenfalls den cGMP-Spiegel. H₂S inhibiert die Phosphodiesterase 6 (PDE6), die den cGMP-Spiegel abbaut (Kuntz et al., 2017). Bei *Drosophila melanogaster* sind bisher sechs PDEs bekannt: PDE1, *dunce* (PDE4), PDE6, PDE8, PDE9 und PDE11 (Day et al., 2005). Für die visuelle Orientierung bei *Drosophila melanogaster* ist besonders die PDE6 essentiell (Kuntz et al., 2012). Die sGC phosphoryliert die Proteinkinase G (PKG), welche durch das Gen *foraging* (*for*; synonym: *dg2*) codiert wird. Das Gen codiert eine zyklische Guanosin-3',5'-Monophosphat- (cGMP)-abhängige Proteinkinase. Es gibt zwei natürlich vorkommende Allele, *for^R* und *for^S* (Osborne et al., 1997). Die PKG wird bei der Verarbeitung visueller Muster innerhalb des Ellipsoidkörpers und des fächerförmigen Körpers, also in Gehirnregionen der Fliege, benötigt. Das visuelle Mustergedächtnis von *for^S*-Fliegen ist deutlich herabgesetzt (Wang et al., 2008). Larven des Stammes *for^R* legen bei der Futtersuche längere und gerade Laufspuren zurück (Sokolowski et al., 1997). Forschungsergebnisse zeigen, dass die cGMP-abhängige Proteinkinase im Bereich der visuellen Informationsverarbeitung in Bezug auf die Bildung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses die RSKII phosphoryliert (vgl. Abb. 2).

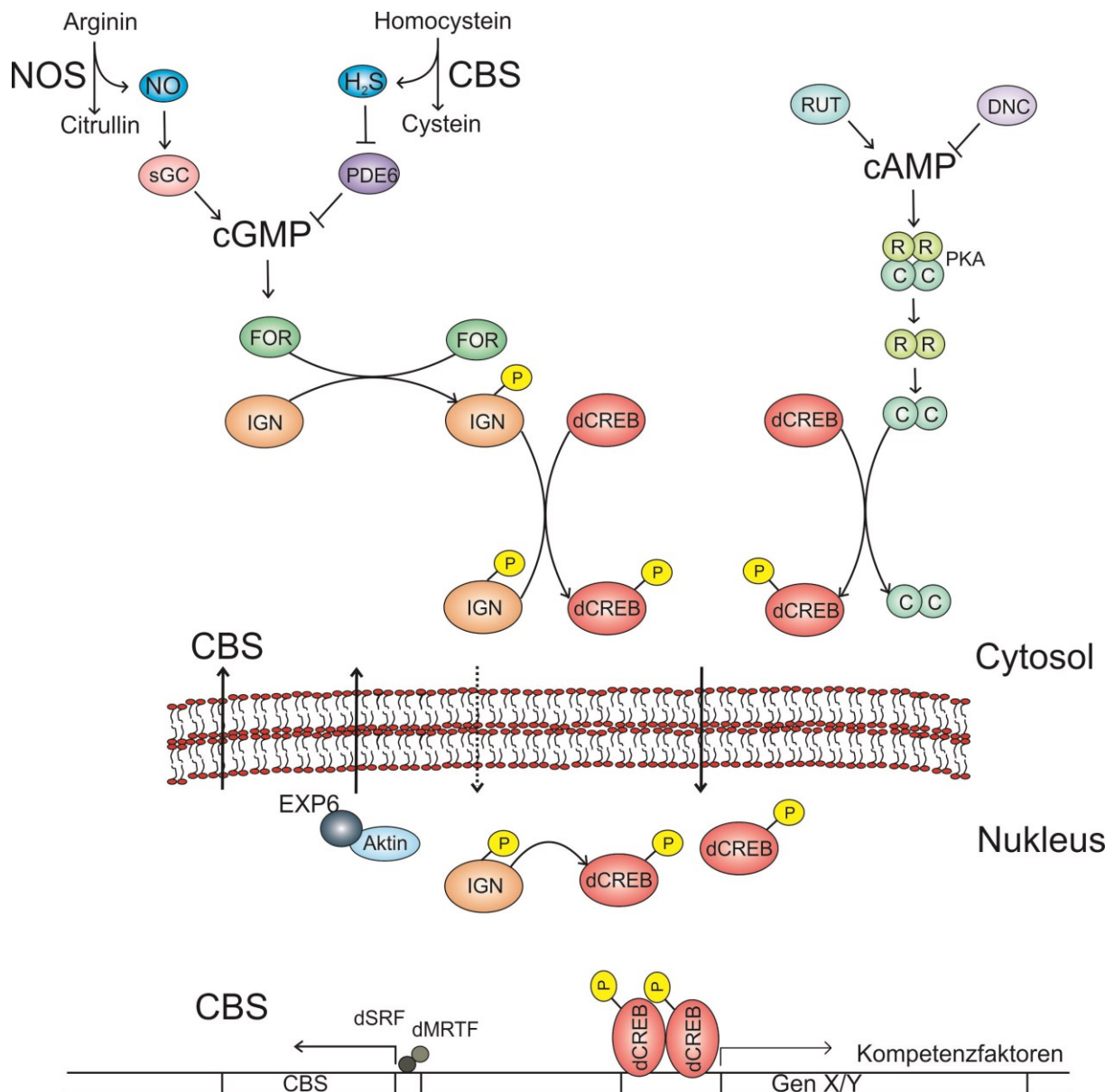


Abb. 2. Biochemische Signalkaskade für das visuelle Arbeitsgedächtnis von *Drosophila melanogaster*. Die Nitritoxid-Synthase (NOS) transformiert die Aminosäure Arginin zu Citrullin und spaltet dabei NO ab. NO aktiviert die Guanylylzyklase (sGC), die wiederum cGMP aktiviert. Die Phosphodiesterase 6 (PDE6) sorgt durch den Abbau von cGMP ebenfalls für eine Modulation des cGMP-Spiegels. PDE6 wird durch H₂S inhibiert. H₂S entsteht während der Transsulfurierung von Homocystein zu Cystein. Die phosphorylierte Proteinkinase G (PKG) phosphoryliert die ribosomale S6 Kinase II (RSKII), welche durch das Gen *ign* kodiert wird. RSKII phosphoryliert den Transkriptionsfaktor dCREB (*Drosophila*-CREB) der die sogenannten Kompetenzfaktoren durch Genexpression reguliert. Eine andere Aktivierungsmöglichkeit von dCREB basiert auf der Aktivierung des sekundären Botenstoffs cAMP mit Hilfe der Adenylylzyklase. cAMP aktiviert die Proteinkinase A (PKA) die dCREB ebenfalls phosphorylieren kann. Im Nucleus erfolgt die Aktivierung des Transkriptionskomplexes dSRF und MRTF. Dieser Komplex aktiviert die Genexpression von CBS. Diese grundlegenden Signalkaskaden sind nur in der Anwesenheit des Proteins Exportin 6 (EXP6) möglich. *ebo* codiert EXP6 und transportiert Aktin aus dem Nucleus in das Cytosol (Verändert nach Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013; Kuntz et al., 2017).

Bei *Drosophila melanogaster* sind Lernprozesse und die Gedächtnisbildung beeinträchtigt, wenn die ribosomale S6 Kinase II (RSKII) nicht ordnungsgemäß funktioniert (Beck et al., 2015). So sind operante als auch klassische Lernvorgänge deutlich herabgesetzt (Putz et al., 2004). Werden Nullmutante *ign*^{58/1}-Fliegen bezüglich ihres visuellen Arbeitsgedächtnisses im

Detour-Paradigma analysiert, so zeigen sie einen vollständigen Orientierungsverlust (Kuntz et al., 2017). Der Transkriptionsfaktor CREB ist abhängig von dem zellulären cAMP-Spiegel. CREB steht im Zusammenhang mit der Langzeitpotenzierung und leitet die Gentranskription ein, um zusätzliche synaptische Verbindungen zu etablieren oder die Anzahl von bestimmten Membrankanälen zu modifizieren (Kandel, 2012). Das visuelle Arbeitsgedächtnis von *Drosophila melanogaster* benötigt ebenfalls CREB (vgl. Abb. 2, Kuntz et al., 2017). Bei *Drosophila* wird dCREB (*Drosophila*-CREB) für das visuelle Arbeitsgedächtnis allerdings nicht akut benötigt. Der Transkriptionsfaktor steuert bereits im Vorfeld die Transkription der sogenannten Kompetenzfaktoren. Diese werden dann akut für das visuelle Arbeitsgedächtnis benötigt (Kuntz et al., 2017). Parallel zum cGMP-Signalweg reguliert auch der cAMP-Signalweg die Transkription der Kompetenzfaktoren. Ist der cAMP-Spiegel hoch genug, so wird die PKA aktiviert, die wiederum dCREB phosphoryliert (Chen et al., 2012, Kuntz et al., 2017).

Für das visuelle Arbeitsgedächtnis wird das Gen *ellipsoid-body-open (ebo)* benötigt (Neuser et al., 2008, Thran et al., 2013). Dieses codiert das Protein Exportin 6 (Exp6) bei *Drosophila melanogaster* (Thran et al., 2013). Exp6 ist ein Transportrezeptorprotein, welches Profilin-Aktin-Komplexe bildet und die Akkumulation von Aktin im Nukleus verhindert (Stüven et al., 2003; Thran et al., 2013). Die Transkriptionsfaktoren dSRF (*Drosophila* Serum response factor) und MRTF (myocardin-activated protein kinase) leiten die Transkription von CBS ein und werden somit ebenfalls für das visuelle Arbeitsgedächtnis benötigt (Thran et al., 2013).

1.4 Memotaxis – die Funktionsweise eines visuellen Kurzzeitintegrators bei *Drosophila melanogaster*

Bei der Memotaxis entspringt das Verhalten aus der internen Speicherung externer Stimuli heraus und ist damit zeitlich gepuffert und eine gewisse Zeitspanne unabhängig von aktuellen, visuellen Stimuli (Berg, Dissertation 2013, Strauss et al., 2014). Durch die Integration der sensorischen Information können kurzzeitige Störsignale ignoriert und der Kurs in die Richtung des gewählten Zieles beibehalten werden (Castellanos et al., 2008; Berg, Dissertation 2013). Das Konzept „Memotaxis“ ist auf ein Modell zurückzuführen, welches zur visuellen Orientierung bei Robotern entwickelt wurde. Der Roboter, der sich chemotaktisch oder memotaktisch, entsprechend des jeweiligen Programmes orientieren kann, bewegt sich auf eine von zwei alternierend sichtbaren Landmarken zu. Innerhalb einer Arena (200 cm X 300 cm) wurden an zwei Seiten LCD-Monitore aufgestellt. Auf den Monitoren war abwechselnd

eine Landmarke sichtbar, wobei eine Landmarke mit einer höheren Wahrscheinlichkeit sichtbar war. Es konnte gezeigt werden, dass eine memotaktische Verhaltensweise einen Roboter schneller zum Ziel der mit einer höheren Wahrscheinlichkeit sichtbaren Landmarke bringt, als eine chemotaktische. Die zurückgelegte Strecke ist bei der Memotaxis deutlich geringer, wohingegen „Chemo“taxis, also die unmittelbare Abhängigkeit von den Stimuli, zu Zickzack-Spuren führt (Castellanos et al., 2008; Strauss et al., 2014). Ursprünglich beschreibt Chemotaxis die ungerichtete Fortbewegung von einfachen Organismen wie z.B. Bakterien, die sich immer in Richtung des aktuell detektierbaren, chemischen Reizes hin orientieren (Bren und Eisenbach, 2000). Im Rahmen eigener Vorarbeiten wurde ein Verhaltens-Paradigma entworfen, mit dem es möglich ist, unter ähnlichen Bedingungen das memotaktische Verhalten von *Drosophila melanogaster* zu charakterisieren. Es konnte gezeigt werden, dass insbesondere der Ellipsoidkörper für die memotaktische Verhaltensweise essentiell ist (Flethe, Diplomarbeit 2013; Strauss et al., 2014).

In ihrer natürlichen Umwelt ist es für die Fliege wichtig, ein internes, visuelles Abbild der externen Umwelt zu besitzen, die es ihr ermöglicht, sich im Raum zu orientieren. So können ausgewählte, visuelle Objekte kurzzeitig nicht sichtbar sein, wenn z.B. eine anvisierte Kirsche im Baum durch hin und her schwenkende Blätter kurzzeitig verdeckt wird. Es müssen idiothetische, signalgebende Stimuli vorhanden sein, die das motorische System in dem Muster ihrer Aktivität aufrechterhalten, damit der Organismus weiterhin das nicht sichtbare Ziel ansteuern kann (Strauss und Pichler, 1998). Die Memotaxis beschreibt ein Gedächtnis basiertes Verhalten und grenzt es von dem Verhalten einfach gebauter Organismen, wie z.B. Bakterien, die sich chemotaktisch immer nach dem aktuellen sensorischen Eingang fortbewegen, ab. Bei der Memotaxis entspringt das Verhalten aus der internen Speicherung externer Stimuli heraus und ist damit zeitlich gepuffert und eine gewisse Zeitspanne unabhängig von aktuellen, visuellen Stimuli (Berg, Dissertation 2013, Strauss et al., 2014). Ursprünglich war die Theorie auch für verrauschte Signale wie Gerüche entwickelt worden, die verwirbelt werden können. Übertragen auf visuelle Stimuli spielt die Dauer der Sichtbarkeit des visuellen Stimulus diese Rolle, denn es zeigte sich, dass die Fliege nach dem Verschwinden des Objektes maximal nur so lange darauf zuläuft, wie dieses Objekt für sie vorher sichtbar war (Berg, Dissertation 2013). Im Rahmen eigener Vorarbeiten wurden verschiedene Zeiteinheiten für zwei gleiche visuelle Objekte, die im Winkel von 120° zueinander alternierend erscheinen, getestet. Es wurde eine geeignete Zeiteinheit ermittelt, die es der Fliege ermöglicht, den Kurs auf die zuerst sichtbare Landmarke beizubehalten, obwohl diese verschwin-

det und zugleich eine ablenkende Landmarke für kurze Zeit erscheint. Die zuerst sichtbare Landmarke erscheint für drei Sekunden. Danach erscheint die zweite Landmarke für eine Sekunde, im Anschluss daran wird wieder die erste Landmarke für eine Sekunde sichtbar (2s+1s/1s). Die Landmarken werden so lange alternierend gezeigt, bis die Fliege das Ende der Laufplattform vor einer der beiden Landmarken erreicht (vgl. Kap. 2.2). Der zeitliche Vorlauf von zwei Sekunden hinterlegt die Information in einem kurzzeitigen Gedächtnis, so dass wildtypische Fliegen, im Gegensatz zu *ebo*-Mutanten, häufig die Landmarke erreichen können, ohne von ihrem Kurs abzuweichen (Flethe, Diplomarbeit 2013).

1.5 Weitere visuelle Orientierungsstrategien

Vertebraten können sich mit Hilfe des Hippocampus im Raum orientieren. Der Hippocampus enthält Ortszellen, Rasterzellen und Geschwindigkeitszellen. In Abhängigkeit von der Geschwindigkeit werden die Geschwindigkeitszellen im entorhinalen Cortex aktiviert. Bei Ratten gibt die Frequenz der Aktionspotenziale innerhalb dieser Neuronen Auskunft über die Geschwindigkeit. Die Ortszellen der Ratten speichern Informationen in Zusammenhang mit einem Ort ab (O'Keefe und Burgess, 1996; O'Keefe et al., 1998; Abbot und Callaway, 2014; Kropff et al., 2015). Zusätzlich zu den Orts- und Geschwindigkeitszellen kann mit Hilfe von Rasterzellen eine räumliche Karte der externen Umwelt im Hippocampus erstellt werden. Diese erstellt ein Koordinatensystem, in dem Orte rasterförmig angeordnet werden können. Die eigene Position wird durch die Vektorverschiebung stetig angepasst und im Zusammenhang mit bestimmten Orten ermittelt (Moser et al., 2008). Auch beim Menschen korreliert die Aktivität von Neuronen im Hippocampus mit der räumlichen Umgebung (Maguire et al., 1998). Insekten können sich mit Hilfe bestimmter Gehirnbereiche, die in einem internen Netzwerk Koordinaten der externen visuellen Umwelt abspeichern, innerhalb des Raumes orientieren. Diese Fähigkeit wird als Pfadintegration bezeichnet (Seelig und Jayaraman, 2015; Haberkern und Jayaraman, 2016). So speichern Wüstenameisen (*Cataglyphis fortis*) die Position ihres Nestes und die Eigenposition in Form von Koordinaten ab und finden nach der Futtersuche ihr Nest wieder (Hartmann und Wehner, 1995; Haberkern und Jayaraman, 2016). Libellen der Art *Pathemis lydia* können ihre fliegende Beute im Flug wahrnehmen und diese mit hoher Präzision verfolgen und im Flug fangen (Mischianti et al., 2015; Haberkern und Jayaraman, 2016).

Bei Invertebraten erfolgt die Detektion visueller Stimuli durch Photorezeptorzellen, die in den Komplexaugen angeordnet sind. Das nachgeschaltete visuelle System zur Informationsverarbeitung besteht aus vier Ganglien: Lamina, Medulla, Lobula und Lobula Platte (Maisak et al., 2013; Strother et al., 2014). *Drosophila melanogaster* zeigt verschiedene visuelle Orientierungsstrategien. Zum einen zeigen die Fliegen die Wahrnehmung von verschiedenen visuellen Parametern wie Größe, Position, horizontale und vertikale Ausdehnung und den Abstand von Objekten zueinander (Ernst und Heisenberg, 1999; Tang und Guo, 2001; Liu et al., 2006). Zum anderen können sie mit Hilfe des Kurzzeitgedächtnisses die Position von Landmarken abspeichern und die gespeicherte Information abrufen, da sie in einem idiothetischen Gedächtnis hinterlegt wird (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013; Kuntz et al., 2017). Weiterhin zeigen wildtypische Fliegen, dass sie für die Navigation in der Umwelt ein Ortsgedächtnis ausbilden können. Versuche im Cold-Spot-Paradigma, ähnlich dem Morris-Water-Maze-Experiment für Ratten und Mäuse, zeigten, dass Fliegen kein Ortsgedächtnis ausbilden können, wenn R1-Neuronen des Ellipsoidkörpers inhibiert werden (Ofstad et al., 2011). R2-Neuronen des Ellipsoidkörpers hingegen werden für die Erkennung visueller Muster benötigt (Seelig und Jayaraman, 2013; Pan et al., 2009). Für das visuelle Kurzzeitgedächtnis werden R3-Neuronen benötigt (Kuntz et al., 2012; 2017). Für alle visuellen Orientierungsstrategien ist der Ellipsoidkörper essentiell. Rezeptive Felder lassen sich den Mikroglomeruli innerhalb der lateralen Triangeln bzw. den Bulbi zuordnen, diese wiederum sind den Subtypen der Ringneuronen R2 und R3/R4d zugeordnet und präsentieren retinotop das visuelle Umfeld. Die Kompassneuronen bilden eine Karte der visuellen Umwelt in den Mikroglomeruli ab (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015).

1.6 Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit und Entscheidungsprozesse

Damit Prozesse wie Lernen und Gedächtnis in einem Nervensystem stattfinden können, wird davon ausgegangen, dass es innerhalb des informationsverarbeitenden Systems neuronale Einheiten geben muss, die sensorische Informationen zugleich verwalten und für den Organismus relevante Informationen in entsprechende Speichersysteme verteilen. Solche Fähigkeiten werden dem Arbeitsgedächtnis zugesprochen. Im Gegensatz zum Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis ist diese Art von Gedächtnis in seiner Kapazität sehr stark begrenzt. Um Informationen daraus länger zu speichern, bedarf es einiger Wiederholungen. Aktuelle Modelle des Arbeitsgedächtnisses gehen beim Menschen von einer zentralen Exekutive und

zwei sensorischen Registern, dem visuospatialen Speicher und der phonologischen Schleife, aus (vgl. Abb. 3) (Baddeley; 2003).

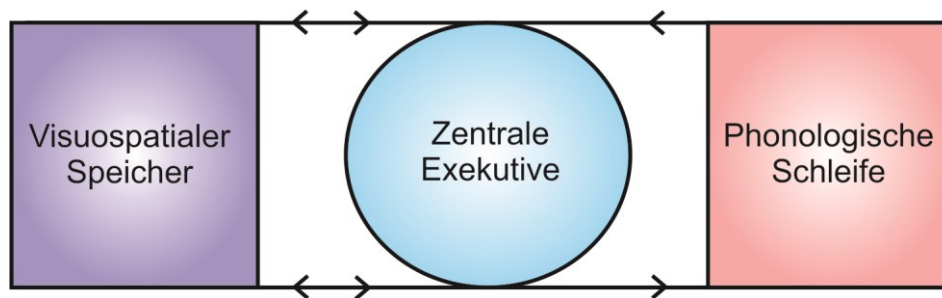


Abb. 3. Drei-Komponenten-Modell des Arbeitsgedächtnisses. Die zentrale Exekutive verwaltet Informationen aus den zwei Speichersystemen, den visuospatialen Notizblock und der phonologischen Schleife (verändert nach Baddeley und Hitch; 1974).

Die zentrale Exekutive besitzt die Funktion eines Managers der aktuellen sensorischen Informationen und der bereits gespeicherten, internen Informationen. Laut dem Modell nach Baddeley gehen nahezu 100% der sensorischen Informationen in sogenannte sensorische Register, dort erfolgt der Zerfall der Information sehr schnell und nur ein Teil gelangt in den kapazitiv begrenzten Arbeitsspeicher. Solch eine „Vorfilterung“ der sensorischen Informationen ist für höhere Organismen absolut notwendig. Die Theorie nach Baddeley umfasst den visuell-räumlichen Notizblock und die phonologische Schleife als sensorisches Register (vgl. Abb. 3). Es wird davon ausgegangen, dass das Arbeitsgedächtnis beim Menschen und bei höheren Primaten im präfrontalen Cortex lokalisiert ist (Goldman-Rakic, 1987; Passingham und Sakai, 2004). Die Eigenschaft des Arbeitsgedächtnisses ist der Abruf und der Gebrauch des erworbenen Wissens und hat die Fähigkeit, dieses anzupassen und wieder ins Langzeitgedächtnis zu übertragen (Goldman-Rakic, 1995).

In den achtziger Jahren wurde Aufmerksamkeit definiert als „It is the differentiation of objects of interest from other objects in the environment“ (Posner et al., 1980). Mit Hilfe der Aufmerksamkeit ist es für Menschen innerhalb einer Umwelt möglich, zur richtigen Zeit für eine ausgewählte Handlung die richtigen motorischen Abläufe durchzuführen. Die Aufmerksamkeit bestimmt aber nicht nur die Auswahl einer Handlung/Bewegung sondern auch die Bildung eines Gedächtnisses. Auch einfache Organismen wie *Drosophila melanogaster* haben in einer sich konstant verändernden Umwelt aufmerksamkeits-ähnliche Prozesse entwickelt, um die einkommenden sensorischen Stimuli effektiv auszufiltern (van Swinderen und Brembs, 2010). Somit sind Organismen in der Lage, den verschiedenen sensorischen Informationen, von denen sie umgeben sind, einen unterschiedlichen Anteil an Aufmerk-

samkeit zukommen zu lassen und gegebenenfalls eine Entscheidung zu treffen, welches Objekt in den Fokus der Aufmerksamkeit gestellt werden soll.

Wahrnehmung und die adäquate Reaktion auf die externe Umwelt umfassen einige mentale Prozesse wie die Funktion eines Arbeitsgedächtnisses, die Kontrolle der Aufmerksamkeit und die Entscheidungsfindung. Diese Prozesse auf neuronaler und biochemischer Ebene zu untersuchen und zu verstehen ist das Ziel der modernen Neurowissenschaften. Vertebraten als auch Invertebraten besitzen die Fähigkeit zur internen Repräsentation der externen Umwelt (Mischianti et al., 2015; Card et al., 2008; Haberkern und Jayaraman, 2016) und mit Hilfe der Pfadintegration sind sie in der Lage sich in ihrer Umwelt zu orientieren (Hartmann und Wehner, 1995; Seelig und Jayaraman, 2013; 2015; Haberkern und Jayaraman, 2016). Sie können Entscheidungen treffen und ihre Aufmerksamkeit auf Objekte in der Umwelt lenken (Paulk et al., 2014; Tang und Juusola, 2010; Wiederman und O'Carroll, 2013; Haberkern und Jayaraman, 2016), genauso gut nutzen sie ein Arbeitsgedächtnis zur Orientierung und besitzen ein räumliches Gedächtnis (Neuser et al., 2008; Ofstad et al., 2011; Kuntz et al., 2012; 2017; Haberkern und Jayaraman, 2016). Aktuelle Studien an *Drosophila melanogaster* zeigen, dass die Aufmerksamkeitsspanne vier Sekunden beträgt, und dass Dopamin innerhalb der Kenyonzellen des Pilzkörpers das visuelle Entscheidungsverhalten beeinflussen kann (Koenig et al., 2016a; 2016b).

1.7 Der Modellorganismus *Drosophila melanogaster*

Mehr als 100 Jahre ist es jetzt her, als die Wissenschaft begann, *Drosophila melanogaster* ins Rampenlicht der modernen Forschung zu rücken. Meilensteine wurden gesetzt mit der Entdeckung der Chromosomentheorie der Vererbung (Thomas Hunt Morgan, Nobelpreis für Medizin, 1933), der fast vollständigen Sequenzierung des Genoms (Ashburner et al., 2000; Ashburner et al., 2005), sowie mit den Forschungsbeiträgen der Genetikerin und Entwicklungsbiologin Christiane Nüsslein-Volhard. Mit ihren bahnbrechenden Beiträgen zur Aufklärung der Musterbildungsprozesse in frühen Embryonalstadien von Tieren erhielt sie 1995 den Nobelpreis für Medizin und Physiologie (Nüsslein-Volhard, 1995). Seitdem wird mehr und mehr erkannt, dass die molekularen Mechanismen, die die Entwicklung und Physiologie der Zellen steuern, evolutionär hoch konserviert sind, obwohl sich die menschliche Morphologie stark von dem Modellorganismus der Fliege unterscheidet. So sind es ungefähr 65% der Gene, die beim Menschen Erkrankungen auslösen, die eine homologe Funktion bei *Drosophi-*

la melanogaster ausüben (Chien et al., 2002; Yamamoto et al., 2014; Ugur et al., 2016). In den letzten zwei Jahrzehnten ist es möglich geworden, verschiedene neurologische Erkrankungen wie z.B. Epilepsie, Demenz und Schlaganfälle mit Hilfe von *Drosophila melanogaster* zu erforschen (Ugur et al., 2016). Aber auch verschiedene Assays zur Verhaltensanalyse tragen zur Aufklärung der Funktion einzelner Gene, Neuronen und neuronalen Netzwerken bei (Inagaki et al., 2010; McGuire et al., 2005; Simon und Dickinson, 2010; Ugur et al., 2016). Außerdem ist der Modellorganismus günstig in der Haltung, einfach zu transportieren und mit der kurzen Generationszeit von ca. 10 Tagen ist es möglich, eine hohe Anzahl von Nachkommen zu erzeugen. Somit können in einem relativ kurzen Zeitraum Eigenschaften über mehrere Generationen hinweg untersucht werden (Pulver et al., 2011).

Das moderne gentechnische Werkzeug für die Manipulation einzelner Neuronen und neuronalen Netzwerken ist sehr umfangreich. Mit dem GAL4/UAS-System kann gezielt die Expression eines bestimmten Gens im Gewebe gesteuert werden (Pulver et al., 2012) (vgl. Abb. 4). GAL4 ist ein Transkriptionsfaktor, der ursprünglich nur in Hefe vorkommt. Mit Hilfe der Enhancer-Trap Technik wird ein P-Element, welches die genetische Information von GAL4 trägt, an einer zufälligen Stelle des Genoms von *Drosophila melanogaster* integriert. Um entsprechende Tiere isolieren zu können, trägt das P-Element ein zusätzliches Reportergen. Gelangt dieses P-Element unter die Kontrolle eines Enhancers, so wird GAL4 im Muster des Gens transkribiert, welches sich normalerweise unter der Kontrolle des Enhancers befindet. Die Genexpression kann durch diese Methode räumlich gesteuert werden. Bindet GAL4 an die UAS-Sequenz (*upstream activating sequence*) wird die Transkription des nachgeschalteten Gens X eingeleitet (Brand und Perrimon, 1993).

Eine Weiterentwicklung des Systems stellt das Phi-Integrase-System dar. Die Integrase erlaubt mit Hilfe der *attB*-Seite die gezielte Integration von P-Elementen, die bereits die gewünschten Enhancer codieren und integriert Enhancer, Promotor und GAL4-Sequenz an eine nicht-codierende Region in das Genom (vgl. Abb. 4) (Pfeiffer et al., 2008; 2010). Mittlerweile stehen tausende GAL4 Linien zur Verfügung (Venken et al., 2011). Das Bloomington *Drosophila* Stock Center ist eine der größten Datenbanken die eine umfassende Sammlung von gentechnisch modifizierten Stämmen zur Verfügung stellt. Das VDRC (*Vienna Drosophila Resource Center*) ist ebenfalls eine sehr umfangreiche Datenbank.

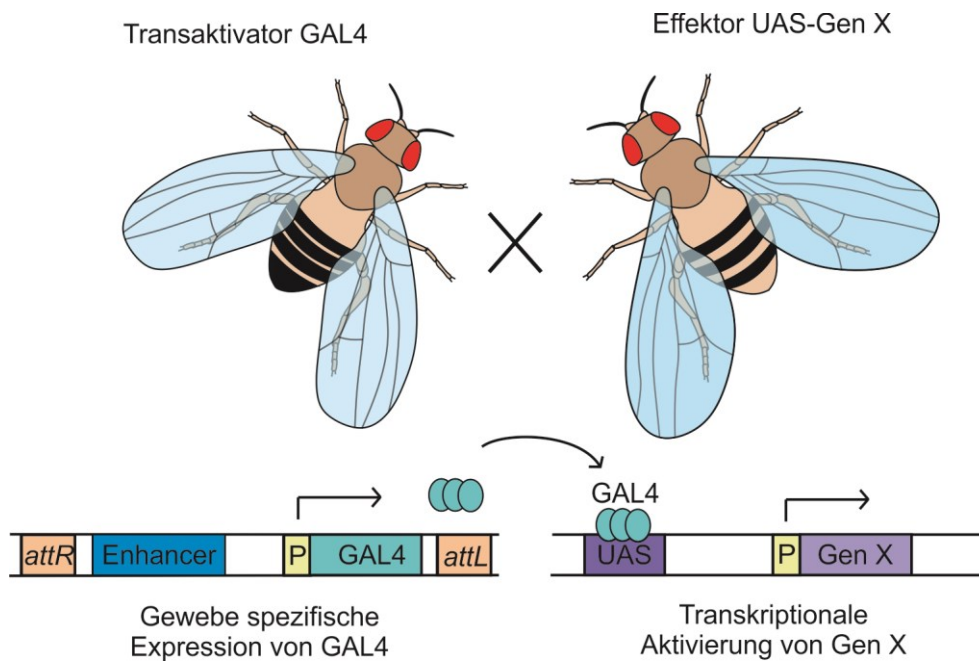


Abb. 4. Das modifizierte GAL4/UAS-System. Ein Männchen, welches auf einem X-Chromosom das genetisch modifizierte P-Element trägt, wird mit einem Weibchen gekreuzt. Das P-Element enthält die flankierenden Seiten *attR* und *attL*, die zur gezielten Integration in das Genom dienen, den Enhancer und die Promotor-Region P sowie die Sequenz GAL4. Das Weibchen besitzt ein X-Chromosom welches die UAS-Sequenz und das Gen X trägt. Die Nachkommen in der F1-Generation besitzen sowohl das GAL4-Element als auch das UAS-Konstrukt (Verändert nach Brand und Perrimon, 1993; Pfeiffer et al., 2008).

Eine Weiterentwicklung des binären Systems erlaubt es, die Blockade der synaptischen Informationsübertragung temperaturabhängig einzuleiten. Damit kann die Genexpression nicht nur räumlich, sondern auch zeitlich gesteuert werden. Der Transkriptionsfaktor GAL4 wird erst ab einer bestimmten Temperatur von dem Inhibitor GAL80 freigesetzt und kann dann die Expression der Zielsequenz einleiten. Die Genexpression kann somit zu einem gewünschten Zeitpunkt eingeleitet werden (McGuire et al., 2003).

Eine weitere beliebte Methode zur Modifikation der Genexpression ist das sogenannte *Knockdown* von Genen mit Hilfe des Gene-Silencings (vgl. Abb. 5). Die Translation der mRNA (Botenstoff RNA) wird mit Hilfe von RNAi (RNA-Interferenzen) inhibiert und anschließend degradiert. Dieser Mechanismus wurde zuerst in *Caenorhabditis elegans* entdeckt und dient dem Organismus dazu, fremde RNA zu degradieren (Fire et al., 1998). Für die *Drosophila* Forschung stehen umfangreiche UAS-RNAi Linien zur Verfügung (Dietzl et al., 2007). Durch Inverted Repeats können mRNA-Moleküle doppelsträngige dsRNA-Moleküle oder small hairpin RNA shRNA-Moleküle bilden (vgl. Abb. 5).

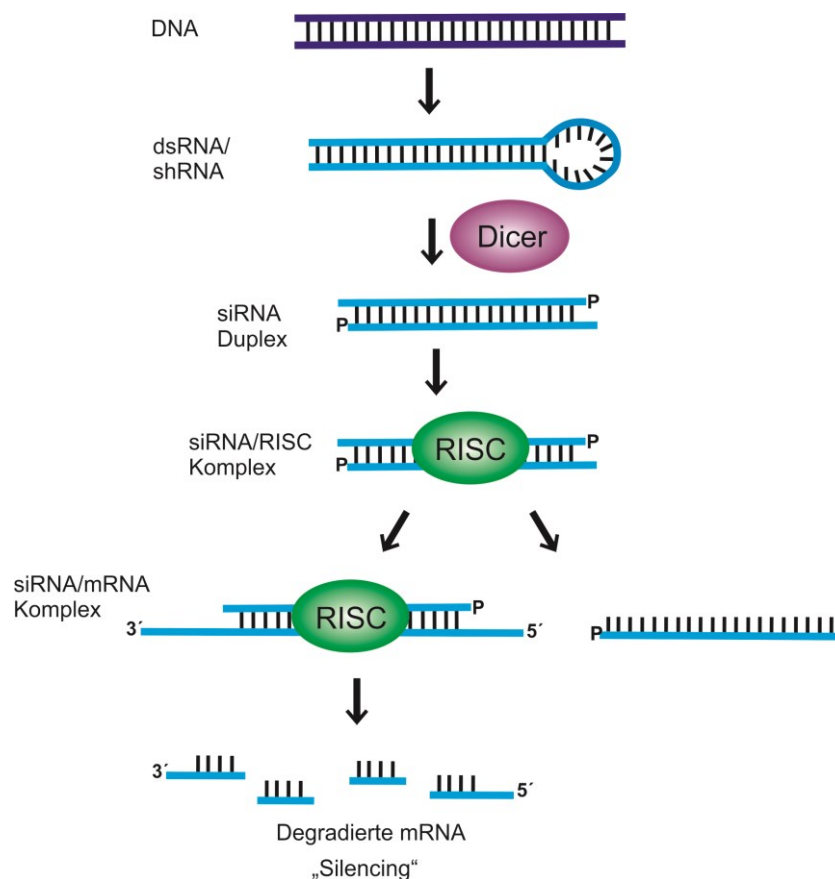


Abb. 5. Molekulare Darstellung des Knockdowns mit Hilfe von RNAi. Inverted Repeats verursachen die Entstehung von doppelsträngigen RNA-Molekülen wie dsRNA oder shRNA. Dicer sorgt für die Prozessierung, so dass kleinere doppelsträngige siRNA-Duplexe entstehen. Der Nukleasekomplex RISC trennt die siRNA-Duplexe in einzelsträngige siRNA-Moleküle auf. Die mRNA bindet an die komplementäre siRNA. RISC kann daraufhin die mRNA degradieren.

An diesen setzt das Enzym Dicer an. Dicer, eine RNase III, gehört zur Familie der dsRNA (double-stranded RNA) spezifischen Ribonukleasen, welches die dsRNA in 19-31 Nukleotid lange siRNA-Fragmente (small interfering RNAs) degradiert. siRNAs binden an den sogenannten RISC-Komplex (RNA-induced silencing complex). Der Nukleasekomplex spaltet die siRNAs in einzelsträngige RNAs. Die komplementäre mRNA lagert sich an die RNAi-Einheit innerhalb des RISC-Komplexes an und wird anschließend degradiert (McManus und Sharp, 2002; Chapman und Carrington, 2007). Diese Methode ermöglicht die gezielte Unterdrückung der Genaktivität und ist bei Pilzen, Pflanzen und Tieren ein Mechanismus, der die Translation von mRNA inhibieren und degradieren kann (Zhao und Srivastava, 2007). Mittlerweile ist diese Technik bei *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* und menschlichen Zellen einsetzbar (Boutros und Ahringer, 2008; Ugur et al., 2016).

1.8 Neuroanatomie von *Drosophila melanogaster*

Eines der wichtigsten Kompartimente des Fliegengehirns für die Verhaltenssteuerung ist der Zentralkomplex innerhalb des Protocerebrums (vgl. Abb. 6) (Young und Armstrong, 2010). Er ist in die Steuerung des Flugverhaltens von *Drosophila* (Ilius et al., 1994), die Koordination des motorischen Systems (Strauss und Heisenberg, 1993; Martin et al., 1999; Strauss, 2002; Poeck et al., 2008) und in die Ausprägung des Balzverhaltens (Popov et al., 2003; 2004) involviert. Darüber hinaus steuert er das visuelle Mustergedächtnis (Liu et al., 2006; Pan et al., 2009), die räumliche Orientierung (Heinze und Homberg, 2007), das olfaktorische Gedächtnis (Wu et al., 2007) und das räumliche Orientierungsgedächtnis (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; 2017). Der Zentralkomplex ist von akzessorischen Neuropilen umgeben. Diese akzessorischen Bereiche werden durch Verzweigungen der Neuronen der Protocerebralbrücke (PB) kontaktiert und werden als Crepine (CRE), Rubus (RUB), Gall (GA) und laterale akzessorische Loben (LAL) bezeichnet (vgl. Abb. 6 A) (Wolff et al., 2015).

Der Zentralkomplex sorgt nicht nur für einen Informationsaustausch zwischen den beiden bisymmetrischen Hemisphären, sondern hat auch direkte Verbindungen zu den Thorakalganglien, an denen sich die motorischen Zentren befinden (Hanesch et al., 1989; Strauss, 2002). Der Zentralkomplex besteht aus insgesamt vier Neuropilen und wird aus Ellipsoidkörper, fächerförmigem Körper, Protocerebralbrücke und den paarigen Noduli gebildet (vgl. Abb. 6 B) (Hanesch et al., 1989, Young und Armstrong, 2010; Wolff et al., 2015). Er wird als Integrationszentrum bezeichnet, welches unterschiedliche motorische und sensorische Aktivitäten als auch Lernen und Gedächtnis in allen Arthropoden reguliert (Homberg, 2008; Lin et al., 2013). Flug- und Laufverhalten (Bausenwein et al., 1989; Strauss und Heisenberg, 1993; Ilius et al., 1994; Zars, 2000; Poeck et al., 2008), olfaktorische Lern- und Gedächtnisvorgänge und die visuelle Orientierung (Tully und Quinn, 1985; Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2017; Seelig und Jayaraman, 2013) werden vom Zentralkomplex gesteuert. Der torusförmige Ellipsoidkörper repräsentiert die visuelle Umwelt mit Hilfe von sogenannten Kompassneuronen (Seelig und Jayaraman; 2013; 2015). Er befindet sich im anterioren Bereich des Zentralkomplexes. Der Ellipsoidkörper und der fächerförmige Körper setzen sich aus sogenannten Großfeldneuronen, den R- bzw. F-Neuronen, zusammen (vgl. Abb. 6).

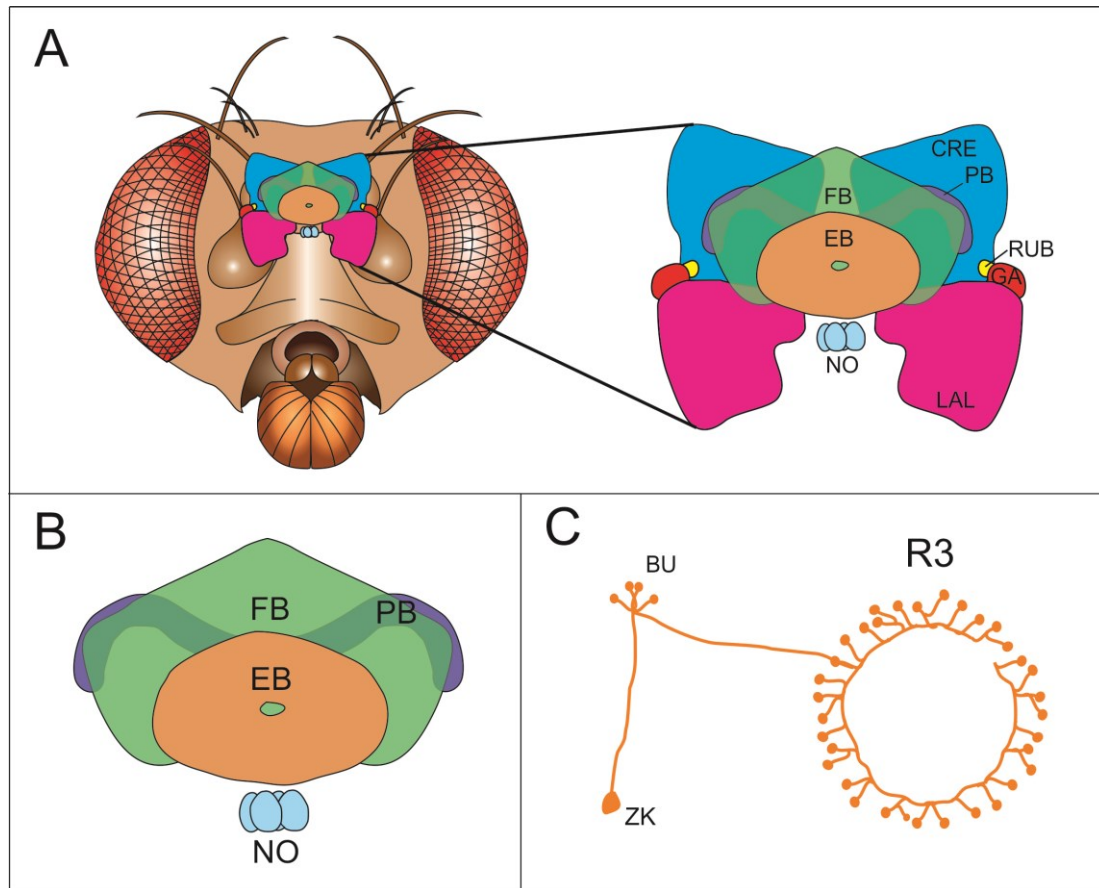


Abb. 6. Neuroanatomie von *Drosophila melanogaster*. A) Innerhalb des Protocerebrums ist der Zentralkomplex eingebettet. Der Zentralkomplex besteht aus dem Ellipsoidkörper (EB), dem fächerförmigen Körper (FB), der Protocerebralbrücke (PB) und den Noduli (NO). Akzessorische Neuropile umgeben den Zentralkomplex und werden als Crepine (CRE), Rubus (RUB), Gall (GA) und laterale akzessorische Loben (LAL) bezeichnet. B) Anordnung der Neuropile des Zentralkomplexes von anterior nach posterior. C) Schematische Abbildung eines einzelnen R3-Neurons. Der Zellkörper (ZK) befindet sich im corticalen Bereich, das Axon verläuft durch die lateralen Triangeln/Bulbus (BU) und bildet im Bereich des Ellipsoidkörpers starke synaptische Verzweigungen aus.

Die Großfeldneuronen gelten als Haupteingang in den Zentralkomplex und bilden dichte Strukturen in nur einem Neuropil. Die Kleinfeldneuronen hingegen gelten als Hauptauegang des Zentralkomplexes und bilden Kolumnen über verschiedene Neuropile des Zentralkomplexes hinweg (Hanesch et al., 1989; Young und Armstrong, 2010; Kahsai et al., 2010). Acetylcholin und Glutamat sind als Neurotransmitter am häufigsten im Zentralkomplex vertreten, γ -Aminobuttersäure (GABA) lässt sich vor allem im Ellipsoidkörper detektieren (Hanesch et al., 1989; Kahsai und Winther, 2011).

Die R-Neuronen des Ellipsoidkörpers lassen sich in vier Subtypen, R1-R4, einteilen. Neuesten Studien zur Folge gibt es einen neuen Subtyp. Dieser wird als R5 bezeichnet (Omoto et al., 2017). Über dessen Funktion ist bisher noch wenig bekannt. In Abb. 6 C ist ein R3-Neuron exemplarisch dargestellt. Die Zellkörper der R-Neuronen befinden sich im corticalen Bereich, projizieren über den RF-Trakt zu den lateralen Triangeln, die inzwischen Bulbi genannt wer-

den, und von dort zu den entsprechenden Neuropilen. Dort befinden sich auch dendritische Verzweigungen, von denen die Neuropile vermutlich afferent ihren Eingang von den verarbeitenden optischen Systemen und von Fasern, die dendritische Verzweigungen innerhalb des Protocerebrums besitzen, erhalten (Hanesch et al., 1989; Neuser et al., 2008). Der fächerförmige Körper befindet sich rostral der Protocerebralbrücke und caudal des Ellipsoidkörpers. Die Fasern der F-Neuronen bilden neun horizontale Schichten und die fächerförmige Struktur wird durch acht sichtbare vertikale Segmente gebildet (Wolff et al., 2015). Der fächerförmige Körper und der Ellipsoidkörper werden vermutlich gemeinsam für die Verarbeitung visueller Informationen benötigt (Liu et al., 2006).

Ventral des Ellipsoidkörpers und des fächerförmigen Körpers sind die paarigen Noduli angeordnet. Sie sind spiegelsymmetrisch angeordnet und enthalten Verzweigungen einiger Kleinfeldneurone, die ebenfalls Verzweigungen in anderen Neuropilen des Zentralkomplexes aufweisen. Vermutlich sind sie ebenfalls an der Verhaltenssteuerung beteiligt (Hanesch et al., 1989; Wolff et al., 2015). Der fächerförmige Körper und die Noduli übernehmen die Kontrolle der Flugrichtung von *Drosophila* (Weir und Dickinson, 2015). Im posterioren Bereich befindet sich die Protocerebralbrücke (vgl. Abb. 6 B). Diese besteht aus 18 Glomeruli (Wolff et al., 2015). Die Glomeruli sind mit den Substrukturen des Zentralkomplexes, den Ventralkörpern und den Bulbi verbunden (Lin et al., 2013; Wolff et al., 2015). Die Protocerebralbrücke verarbeitet repräsentative Informationen über die visuelle Umwelt und ist in der Lage, die Schrittlänge zu regulieren. Sie steuert Laufgeschwindigkeit und die Richtung, in die die Fliege laufen möchte (Strauss, 2002; Poeck et al., 2008; Triphan et al., 2010).

1.8.1 Der Ellipsoidkörper

Die kompakte Struktur des Ellipsoidkörpers kommt durch stark ausgeprägte, synaptische Verzweigungen der R-Neuronen zustande. Diese Struktur ähnelt einem Torus und wird in 16 konzentrisch angeordnete Sektoren unterteilt, die sich nochmals in 32 Hemisektoren unterteilen lassen (Hanesch et al. 1989; Renn et al., 1999; Wolff et al., 2015). Die Gesamtzahl aller Ringneuronen wird auf ca. 200-250 pro Hemisphäre geschätzt (Young und Armstrong, 2010). Davon sind auf jeder Seite 37+/-4 nicht GABAerg (Martin-Peña et al., 2014). Im Ellipsoidkörper gibt es exzitatorische als auch inhibitorische Synapsen. Als exzitatorische Synapsen konnten cholinerge, glutamaterge und serotonerge Ringneuronen identifiziert werden, als inhibitorische hauptsächlich GABAerge (Martin-Peña et al., 2014).

R1- bis R3-Neuronen bilden ihre synaptischen Verzweigungen zentral im Ellipsoidkörper, während die der R2- und R4-Neuronen in der Peripherie des Ellipsoidkörpers angeordnet sind. R1-Neuronen bilden den Ellipsoidkörperkanal und sind sowohl im anterioren als auch posterioren Bereich angeordnet (vgl. Abb. 7 A und B) (Hanesch et al., 1989; Renn et al., 1999). R4-Neuronen lassen sich anhand ihres Verzweigungsmusters innerhalb des Ellipsoidkörpers in R4m- und R4d-Neuronen unterteilen. R4m-Neuronen verzweigen sich im medialen und R4d-Neuronen im distalen Bereich (Young und Armstrong, 2010; Wolff et al., 2015). Anatomische Studien zeigen, dass der Ellipsoidkörper in eine anteriore (A), mediale (m) und posteriore Schale (P) eingeteilt werden kann (vgl. Abb. 7) (Wolff et al., 2015). Die Verzweigungen der EB.w-Neuronen umfassen die anteriore, mediale und posteriore Schale. EB.t-Neuronen bilden Verzweigungen nur in der posterioren Schale. Die Verzweigungen der EB.w- und EB.t-Neuronen sind funktionell unterschiedlich.

Die Zelltypen innerhalb der 16 Sektoren stellen vermutlich Eingangs-Domänen dar. Die $PB_{G1-8}.b$ -EBw.s-D/Vgall.b-Neuronen besitzen Eingangs-Domänen im Ellipsoidkörper und führen zur Protocerebralbrücke und zur Gall. Diese EB.w-Neuronen greifen die Information entsprechend der Sektoren des Ellipsoidkörpers ab und leiten sie zur Protocerebralbrücke und zur Gall (Wolff et al., 2015; Seelig und Jayaraman, 2015). Sie stellen eine Untergruppe der von Hanesch et al. 1989 beschriebenen Kleinfeldneuronen dar und konnten von Seelig und Jayaraman als Kompassneuronen identifiziert werden (Seelig und Jayaraman; 2015; Wolff et al., 2015). EB.t-Neuronen bilden Verzweigungen nur in der posterioren Schale. Der Zelltyp $PB_{G1-8}.s$ -EBt.b-D/Vgall.b bildet Verzweigungen nur in den Glomeruli 1-8 der Protocerebralbrücke aus. $PB_{G2-9}.b$ -EBt.b-NO.b-Neuronen verzweigen sich nur in den Glomeruli 2-9. EB.w- und EB.t-Neuronen sorgen für eine 1:1 Korrespondenz zwischen Protocerebralbrücke und dem Ellipsoidkörper (vgl. Abb. 7 C) (Wolff et al., 2015). Sie bilden aber entsprechend des Neuronentyps auch Verbindungen zu den Noduli oder der Gall (Wolff et al., 2015).

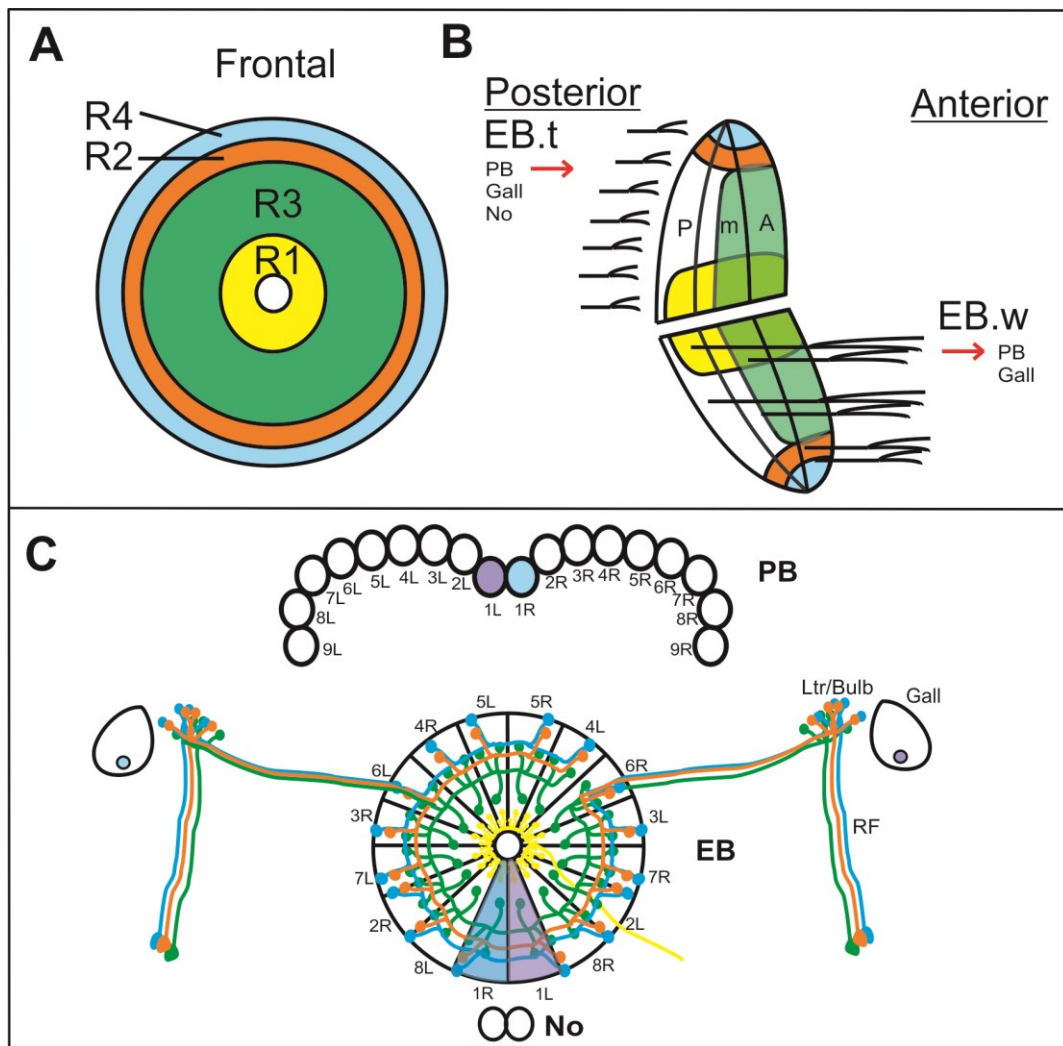


Abb. 7. Schematische Darstellung der Feinstruktur des Ellipsoidkörpers. Das anteriore Ringsystem besteht aus R1-Neuronen, die sich im Bereich des Ellipsoidkörperkanals verzweigen. R3-Neuronen bilden Verzweigungen im distalen und im Bereich des Kanals, R2- und R4-Neuronen dagegen nur im peripheren Bereich. B) Unterteilung in anterores (A), mediales (m) und posteriores Ringsystem (P). Posterior befinden sich R1-Neuronen während R3-Neuronen ausschließlich im anterioren Bereich zu finden sind. R2- und R4-Neuronen verzweigen sich anterior und posterior. Das posteriore Ringsystem wird von EB.t-Neuronen kontaktiert und bildet die Eingangs-Domänen. EB.t-Neuronen bilden Verbindungen zur Protocerebralbrücke (PB), Gall und den Noduli (No). Die EB.t-Neuronen, die die Information von der Protocerebralbrücke zum Ellipsoidkörper und zu den Noduli leiten, werden aktuell als P-EN-Neuronen bezeichnet. Das anteriore Ringsystem bildet Ausgangs-Domänen. EB.w-Neuronen verbinden den EB mit der PB und der Gall. Aktuell werden diese EB.w-Neuronen auch als E-PG-Neuronen bezeichnet, da sie die Information vom Ellipsoidkörpers zur Protocerebralbrücke und zur Gall leiten. C) R-Neuronen verlaufen durch den RF-Trakt (RF), bilden an den lateralen Triangeln/Bulbi (Ltr/Bulb) synaptische Verzweigungen aus und verlaufen weiter zum EB. Der EB lässt sich in 16 Sektoren („Wedges“), unterteilen. EB.t- und EB.w-Neuronen sorgen für eine 1:1 Korrespondenz zwischen EB und PB bzw. der Gall. EB.w-Neuronen leiten die Informationen, die sie aus den Wedges erhalten, in korrespondierende Bereiche der PB und der Gall. Diese 1:1 Kommunikation wird blau und violett dargestellt (verändert nach Hanesch et al.; 1989; Renn et al.; 1999; Wolff et al.; 2015; Turner-Evans et al., 2017).

Die Bulbi sind bezüglich der R2- und R4-Ringneuronen retinotop organisiert (Seelig und Jayaraman; 2013). Diese Ringneuronen kontaktieren die posteriore und mediale Schale. Jedoch gibt es auch Neuronentypen die alle drei Schalen kontaktieren. Dieser zweite Neuronentyp der Sektoren, EB.w.AMP.s-Dga-s.b, besitzt zusätzliche Verzweigungen im anterioren

Bereich. Nach aktuellen Studien werden EB.w-Neuronen als E-PG-Neuronen bezeichnet, da sie die Informationen vom Ellipsoidkörper zu der Protocerebralbrücke und zur Gall leiten. Die EB.t-Neuronen werden auch P-EN-Neuronen genannt, da sie ihre Postsynapsen im Bereich der Protocerebralbrücke besitzen und ihre Präsynapsen im Ellipsoidkörper und den Noduli angeordnet sind. Die beiden Neuronentypen bilden eine Rückkopplungsschleife und ermöglichen die visuelle Orientierung (Turner-Evans et al., 2017). In der vorliegenden Arbeit wird die Bezeichnung P-EN- und E-PG-Neuronen bevorzugt. Neben der visuellen Orientierung (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013) wird der Ellipsoidkörper auch für die Etablierung des olfaktorischen Langzeitgedächtnisses (und des Anästhesie-sensitiven Gedächtnisses) benötigt (Wu et al., 2007; Zhang et al. 2013).

1.8.2 Der Pilzkörper

Die Suche nach einer Gedächtnisspur begleitete die Vermutung, dass es festgelegte Areale innerhalb des neuronalen Systems gibt, in der kleinere Einheiten existieren, die für Lernprozesse nötig sind. Bei *Drosophila melanogaster*, aber auch bei anderen Insekten wie Libellen und Heuschrecken, wurden die Pilzkörper identifiziert, die für die Verarbeitung von olfaktorischen Informationen benötigt werden (Heisenberg, 1998; Strausfeld et al., 1998). Bei *Drosophila* bestehen die Pilzkörper aus ca. 2000 Kenyon-Zellen pro Seite (Aso et al., 2014). In ihnen konnte erstmals ein olfaktorisches Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis lokalisiert werden (Heisenberg et al., 1985; de Belle und Heisenberg, 1996; Dubnau et al., 2001; McGuire et al., 2001; Aso et al., 2014). Außerdem konnte ebenfalls ein „Gedächtnismolekül“, die Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Adenylylzyklase, nachgewiesen werden. Diese wird in weiten Bereichen innerhalb des Gehirns von *Drosophila melanogaster* exprimiert. Die Expression der Adenylylzyklase ist innerhalb der Kenyon-Zellen des Pilzkörpers am höchsten (Zars, 2000; Waddel und Quinn, 2001). Die Antennen enthalten die olfaktorischen Rezeptorzellen, mit denen die Fliege olfaktorische Reize wahrnehmen kann (Davis et al., 2005). Diese werden in eine bestimmte Frequenz von Aktionspotenzialen übersetzt und über die Antennalnerven zu den Antennalloben geleitet. Durch den inneren und medialen antennoerebralen Trakt gelangt die sensorische Information zum lateralen Horn und zum Pilzkörper (vgl. Abb. 8 A).

Die Eingangsstation der Pilzkörper wird durch die Calices gebildet. Von dort projizieren Axone zum anterioren Bereich des Gehirns, wo sie α/α' -, β/β' - und γ -Loben bilden (vgl. Abb. 8 B) (Davis et al., 2005; Keene und Waddel, 2007; Aso et al., 2014).

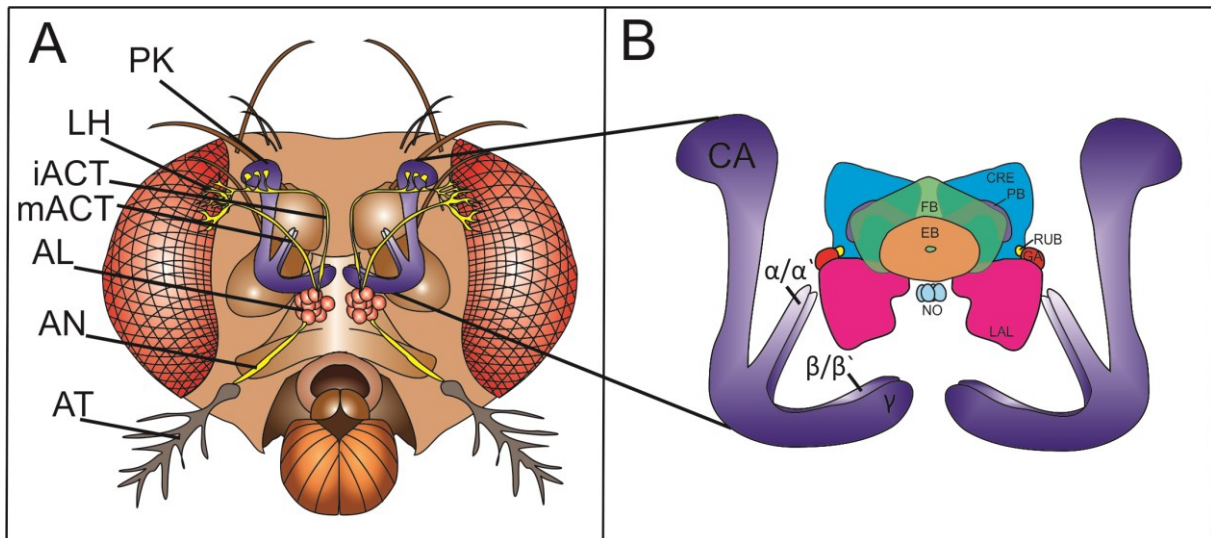


Abb. 8. Anatomie der Pilzkörper. A) Die Antennen (AT) detektieren olfaktorische Signale. Diese werden durch die Antennalnerven (AN) zu den Antennalloben (AL) weitergeleitet. Durch den inneren und medialen antenocerebralen Trakt (iACT, mACT) gelangt die sensorische Information zum lateralen Horn (LH) und zum Pilzkörper (PK). B) Von den Calices (CA) aus projizieren Axone zu den α/α' -, β/β' - und γ -Loben. Die Pilzkörper umgeben den Zentralkomplex (verändert nach Davis et al., 2005).

Die kollateral gelegenen Neuronen der α/α' -, β/β' - und γ -Loben werden von dopaminergen und octopaminergen neuromodulatorischen Neuronen kontaktiert. Sie erhalten Informationen aber auch von den dorsal paired medial (DPM) Neuronen (Davis et al., 2005). Nicht nur für olfaktorisches Lernen (Tully und Quinn, 1985; Strausfeld et al., 1998), sondern auch für das Lernen von Zusammenhängen im visuellen Kontext im Flugsimulator und der Kontrolle der spontanen Laufaktivität wird der Pilzkörper benötigt (Zars et al., 2000). Insgesamt wird dem Pilzkörper der Insekten ein relativ breites Spektrum von Funktionen zugewiesen, unter anderem in der Kontrolle des Bewegungsapparates (Martin et al., 1998; Liu et al., 1999; Zars et al., 2000; Tanaka et al., 2008), dem Schlaf (Tanaka et al., 2008), der Bildung eines Ortsgedächtnisses und der Ortspräferenz innerhalb einer Arena (Liu et al., 1999; Zars et al., 2000; Tanaka et al., 2008) und dem Balz- und Paarungsverhalten (Tanaka et al., 2008).

Durch die vielseitige Funktionsweise der Pilzkörper wird angenommen, dass dieser in der Lage sein muss, verschiedene sensorische Eingänge zu unterscheiden und diese in andere Modalitäten zu integrieren. Mit diesen Eigenschaften ist er in der Lage, ein komplexes Verhaltensspektrum zu kontrollieren und der räumlichen Orientierung anzupassen (Strausfeld et al., 1998).

1.9 Die Rolle der NMDA-Rezeptoren

NMDA-Rezeptoren induzieren die Langzeitpotenzierung (LTP) im Hippocampus der Vertebraten, können aber auch die Langzeitdepression (LTD) steuern. Bei der LTP werden entweder AMPA-Rezeptoren phosphoryliert oder zusätzliche AMPA-Rezeptoren in die postsynaptische Membran eingebaut. Bei der LTD werden AMPA-Rezeptoren dephosphoryliert oder aus der Membran entfernt (Whitlock et al., 2006).

Neuronen des entorhinalen Cortex senden sensorische Informationen zum Gyrus dentatus, der Eingangsstation des Hippocampus. Dort sind besonders die Pyramidenzellen CA1 und die Mooszellen CA3 essentiell. Die CA3-Neuronen greifen die Informationen der entorhinalen Schicht ab und leiten sie zu den Pyramidenzellen CA1, die auch die Schaffer-Kollateralen bilden. Somit führt eine Abzweigung der Pyramidenzellen in die CA1-Region, der andere Zweig zieht durch den Fornix aus dem Hippocampus hinaus. Die CA1-Neuronen sind mit NMDA-Rezeptoren ausgestattet, die durch den Neurotransmitter Glutamat aktiviert werden können. Verschiedene sensorischer Eingänge werden in den CA1-Neuronen verrechnet. Kommt es nach der Verrechnung von inhibierenden und exzitatorischen Signalen zum exzitatorischen postsynaptischen Potenzial (EPSP), kann die LTP eingeleitet werden. Alternativ zu dieser räumlichen Summation an der Postsynapse kann auch eine zeitliche Summation ein EPSP auslösen. Bei der LTP wird die Dichte der AMPA-Rezeptoren an der Postsynapse erhöht, so dass diese sensitiver für Glutamat wird. Durch diese Modifikation wird die Leitfähigkeit für Na^+ erhöht, so dass an den CA1-Neuronen leichter ein EPSP ausgelöst werden kann. Bei der LTD werden AMPA-Rezeptoren aus der Membran entfernt, wodurch eine Desensitivierung der Neuronen erfolgt (Heynen et al., 2000).

Eine bemerkenswerte Eigenschaft ist, dass ein glutamaterges Neuron mit Hilfe der NMDA-Rezeptoren in der Lage ist, die simultane Aktivität von Prä- und Postsynapse zu detektieren und darauf zu reagieren („Hebb'sche Koinzidenzdetektoren“). Der Kanal ist in der Lage, ein Mg^{2+} -Ion zu binden. Erst wenn die Postsynapse durch exzitatorische Ereignisse durch die Bindung von Glutamat an AMPA-Rezeptoren einen Schwellenwert von etwa 0 mV erreicht hat, löst sich Mg^{2+} , und der Kanal erhöht seine Leitfähigkeit für positiv geladene Ionen. Zusätzlich zu Na^+ kann Ca^{2+} aus dem Extrazellulärraum in den Intrazellulärraum gelangen, während K^+ aus dem Intra- in den Extrazellulärraum gelangt (Miyashita et al., 2012). Erst dieser Prozess erlaubt die Gedächtniskonsolidierung und die Steuerung der Genexpression.

Es gibt drei Arten von ionotropen Glutamat-Rezeptoren, die entsprechend dem Agonisten, den sie binden können, benannt werden. Sie werden als AMPA- (α Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionsäure), NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat) und Kainat-Rezeptoren bezeichnet (Dingledine et al., 1999). Neben diesen ionotropen Rezeptoren gibt es zusätzlich metabotrope Rezeptoren, die den Neurotransmitter Glutamat binden können. Glutamat ist ein exzitatorischer Neurotransmitter, der sowohl bei Vertebraten als auch Invertebraten innerhalb des zentralen Nervensystems aktiv ist.

Der Neurotransmitter Glutamat spielt bei bedeutenden Vorgängen innerhalb des Organismus eine vielseitige Rolle, so reguliert der Transmitter Prozesse, die die Entwicklung des zentralen Nervensystems fördern. Er sorgt für die Proliferation und die Differenzierung der Neuronen und spielt auch bei der Synaptogenese eine wichtige Rolle (Zachepilo et al., 2008). Als Koinzidenzdetektor wird er auch für die Gedächtniskonsolidierung benötigt und steuert die Prozesse LTP und LTD (Xia et al., 2005). In Vertebraten befindet sich die höchste Dichte glutamaterger Neuronen innerhalb des cerebralen Cortex und dem Hippocampus. Diese Bereiche gelten als essentielle Integrationszenter (Luk et al., 2003; Zachepilo et al., 2008).

Aktuelle Annahmen schreiben NMDA-Rezeptoren auch eine Funktion bei der Regulation der Aufmerksamkeit und dem Arbeitsgedächtnis zu (Lisman et al., 1998; Krystal et al., 1994; 2005; Mongillo et al., 2008). Antagonisten wie Ketamin können nicht nur den Abruf von Gedächtnisinhalten unterbrechen, sondern die Probanden zeigen ebenfalls, dass sie eine herabgesetzte Aufmerksamkeit besitzen, wenn sie Ketamin verabreicht bekommen (Malhotra et al. 1996). Weitere Studien belegen, dass bei der Gabe von NMDA-Rezeptorantagonisten Prozesse wie das Arbeitsgedächtnis und die Aufmerksamkeit beeinträchtigt sind und schizophrenie-ähnliche Symptome bei Menschen beobachtet werden können (Krystal et al., 1994; 2005).

Laut dem Hopfield-Modell werden die simultane Aktivität der Prä- und Postsynapse für die Funktionsweise eines Arbeitsgedächtnisses benötigt (vgl. Abb. 9) (Lisman et al., 1998). Das Hopfield-Modell ermöglicht eine räumliche Aktivierung innerhalb des neuronalen Netzwerkes aus Pyramidenzellen. Diese räumliche Aktivierung erfolgt in Abhängigkeit der zu speichernden sensorischen Information und stellt ein bestimmtes Aktivitätsmuster von Neuronen dar (Lisman et al., 1998). Dazu ist die spannungsabhängige Lösung des Mg^{2+} von den NMDA-Rezeptoren ausschlaggebend. Spannungsabhängig wird an NMDA-Rezeptoren der Mg^{2+} -Block entfernt, so dass es zu einem starken Einstrom von Ca^{2+} in die Zelle kommt (Lisman et al., 1998; Miyashita et al., 2012). Die neuronale Aktivität von NMDA-Rezeptorzellen

kann durch ein anhaltendes Ca^{2+} -Signal aufrechterhalten werden. Dieses Signal kann die gespeicherte Information über eine Sekunde aufrecht halten (Mongillo et al., 2008). NMDA-Rezeptoren besitzen die ungewöhnliche Eigenschaft, für mehrere 100 ms aktiv zu sein und sind damit in der Lage, die Integration einkommender Signale zu übernehmen (Dzubay und Jahr, 1996).

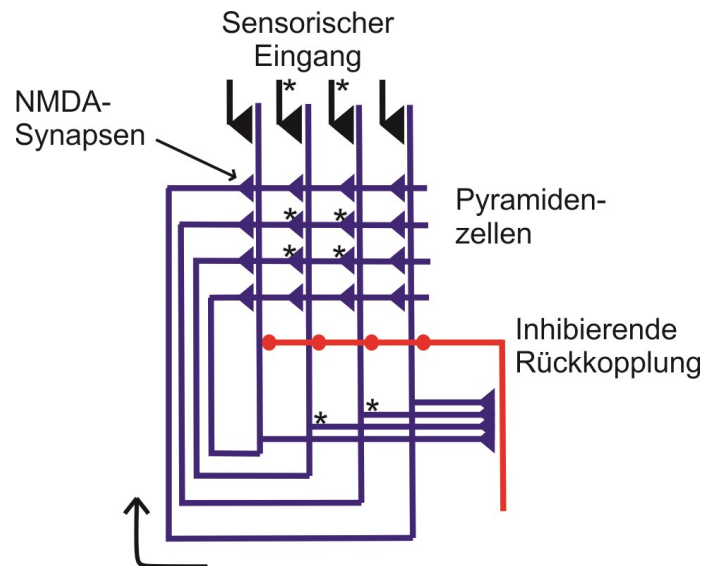


Abb. 9. Hopfield-Modell. Der spezifische, sensorische Eingang (*) aktiviert Pyramidenzellen (*) innerhalb des neuronalen Netzwerkes aus Pyramidenzellen (blau), die alle miteinander verschaltet sind. Die aktivierten Pyramidenzellen leiten die Informationen zum einen an inhibierende Interneuronen (rot), zum anderen wird die Information zurück zu den Pyramidenzellen geleitet. Pyramidenzellen sind mit NMDA-Rezeptoren an den Synapsen ausgestattet. Wenn Prä- und Postsynapsen simultan aktiviert werden, löst sich der Mg^{2+} -Block von den NMDA-Rezeptoren, so dass Ca^{2+} in die Pyramidenzellen gelangen kann. Dies hat eine verstärkte Aktivierung der betroffenen Pyramidenzellen zur Folge. Damit das aktive, räumliche Muster aus Pyramidenzellen sich nicht auf die anderen Pyramidenzellen ausweitet, inhibiert das Rückkopplungssystem die Pyramidenzellen, die keinen sensorischen Eingang erhalten (modifiziert nach Lisman et al., 1998).

Die anhaltende Aktivität in den Neuronen wird der Funktion eines Arbeitsgedächtnisses zugesprochen und kann die Lokomotion des Organismus steuern. Diese Kontinuität in der neuronalen Aktivität resultiert aus der Selektivität gegenüber sensorischen Stimuli und ist sehr spezifisch gegenüber sensorischen Informationen. Interessanterweise besitzen NMDA-Rezeptoren damit Eigenschaften, die für eine gewisse Stabilität bezüglich der anhaltenden neuronalen Aktivität sorgen können (Wang et al., 2001). Zunächst ist es von Bedeutung, dass die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren spannungsabhängig erfolgt und damit langsamer ist als die Aktivierung anderer Rezeptoren. Wenn die Erregung einer Zelle erst langsam ausgelöst wird, kann sie auch länger anhalten (Wang, 1999; Compte et al., 2000; Wang et al., 2001). Weiterhin kann die Eigenschaft der NMDA-Rezeptoren für eine andauernde Verhaltenssteuerung durch die Eigenschaft der Informationsintegration sorgen (Seung, 1996; Wang et al., 2001). NMDA-Rezeptoren können für eine Selektivität bezüglich der Aktivität eines

neuronalen Netzwerkes verantwortlich sein. Diese Aktivität ist abhängig von dem präsentierten Stimulus. Für diese Spezifität innerhalb des Nervensystems sorgt ein Mg^{2+} -Block, der nur innerhalb der Neuronen des aktivierten Netzwerkes entfernt wird, so dass nur dieses Netzwerk seine neuronale Aktivität aufrecht erhalten kann (vgl. Abb. 9) (Lisman et al., 1998; Wang et al., 2001). Desweiteren kann die Sättigung der NMDA-Rezeptoren durch den Transmitter Glutamat länger aufrechterhalten werden, da Glutamat sich nur langsam von dem Rezeptor löst (Wang, 1999; Wang et al., 2001).

Bei *Drosophila melanogaster* sind NMDA-Rezeptoren vor allem im Ellipsoidkörper, im fächerförmigen Körper und in den Pilzkörpern vorhanden (Wu et al., 2007). Innerhalb des Zentralkomplexes besitzen insbesondere die Großfeldneuronen des Ellipsoidkörpers NMDA-Rezeptoren, dort sind die Untereinheiten dNR1 (*Drosophila*-NMDA-Rezeptor1) und dNR2 (*Drosophila*-NMDA-Rezeptor2) nachweisbar. Antikörper gegen dNR1 verursachen im kompletten Ellipsoidkörper ein Signal, während Antikörper gegen dNR2 ein starkes Signal in R4m-Neuronen verursachen. Genauere Angaben, innerhalb welcher Neuronen des Pilzkörpers NMDA-Rezeptoren lokalisiert sind, ist noch nicht geklärt (Wu et al., 2007). Die Pilzkörper und der Zentralkomplex sind die Integrationszentren für Lernen und Gedächtnis. Interessanterweise legen die neuesten Studien nahe, dass sowohl NOS als auch dCREB an der Regulation des visuellen Arbeitsgedächtnisses bei *Drosophila melanogaster* beteiligt sind (Kuntz et al., 2012, 2017). Bei Vertebraten steuern NMDA-Rezeptoren indirekt über den Ca^{2+} -Einstrom NOS und damit die Synthese von NO (Standaert, 1999). Zusätzlich steuert der Mg^{2+} -Block der NMDA-Rezeptoren bei *Drosophila melanogaster* die Expression eines dCREB Repressors. In Kopfextrakten adulter Tiere kann eine vierfach höhere Expressionsrate eines dCREB-Repressors nachgewiesen werden, wenn die dNR1-Untereinheit der NMDA-Rezeptoren kein Mg^{2+} -Block mehr binden kann (Miyashita et al., 2012). Zusätzlich konnte festgestellt werden, dass die Expressionsrate von dCREB-gesteuerten Genen wie z.B. *activin*, *homer* und *staußen* deutlich geringer in diesen Mg^{2+} -Block-Mutanten ausfällt. Da NMDA-Rezeptoren normalerweise auch als Hebb'sche Koinzidenzdetektoren bezeichnet werden, und der Mg^{2+} -Block dabei eine wichtige Rolle spielt, besitzen Mutanten, die kein Mg^{2+} in die dNR1-Untereinheit einbauen können, diese Fähigkeit nicht mehr. Assoziatives olfaktorisches Lernen ist zwar möglich, aber die Fliegen können kein olfaktorisches Langzeitgedächtnis ausbilden. Auch das 24-Stunden Kurzzeitgedächtnis ist in diesen Mutanten nicht mehr vorhanden. Wie genau die biochemische Signalkaskade zur Kontrolle des dCREB-Repressors im Zusammenhang mit dem Mg^{2+} -Block abläuft, ist unklar (Miyashita et al., 2012).

Der Ellipsoidkörper besitzt eine hohe Dichte von NMDA-Rezeptoren (Wu et al., 2007). Der Ellipsoidkörper wird für verschiedene visuelle Orientierungsstrategien benötigt (Neuser et al. 2008, Kuntz et al., 2012; 2017; Ofstad et al., 2011; Koenig et al., 2016 a und b). Außerdem steuert er die visuelle Pfadintegration. Visuelle Landmarken werden dabei Ca^{2+} -abhängig im Ellipsoidkörper und den Kompassneuronen präsentiert (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015).

Deswegen stellt die Untersuchung der NMDA-Rezeptoren im Zusammenhang mit der Regulation der visuellen Kurzzeitintegration einen interessanten Versuchsansatz dar. Bisher liegen noch keine experimentellen Ergebnisse im Zusammenhang mit Verhaltensstudien an *Drosophila melanogaster* vor, die die Hypothese bestätigen, dass NMDA-Rezeptoren sowohl die visuelle Kurzzeitintegration als auch die Etablierung eines Arbeitsgedächtnisses übernehmen.

1.10 Fragestellungen und Aufbau der Arbeit

Die vorliegende Arbeit untersucht die allerersten Schritte der Informationsverarbeitung und des Abrufs eines sehr flüchtigen Gedächtnisses im genetischen Modellorganismus Fliege. Mit Hilfe eines visuellen Kurzzeitintegrators wird die zielgerichtete Fortbewegung auf einer Fläche ermöglicht. Dazu muss der Organismus entscheiden, auf welches Objekt in seiner Umgebung die visuelle Aufmerksamkeit gerichtet wird. Doch wie reagiert der Modellorganismus Fliege, wenn konkurrierende visuelle Stimuli präsentiert werden? Im Rahmen eigener Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass die Attraktivität eines Stimulus erhöht wird, wenn dieser länger sichtbar ist. Wildtypische Fliegen können ein visuelles, ablenkendes Objekt ignorieren und laufen auf den für sie attraktiveren visuellen Stimulus weiter zu, auch wenn er kurzzeitig nicht sichtbar ist (Flethe, 2013; Diplomarbeit). Doch welche neuronalen Mechanismen steuern dieses Verhalten? Welche biochemischen Komponenten verursachen die Aufrechterhaltung der neuronalen Aktivität, auch wenn das Ziel nicht sichtbar ist? Dies sind die Leitfragen der vorliegenden Arbeit.

Wildtypische Fliegen wählen häufiger die Landmarke, die zu Beginn der Messung drei Sekunden sichtbar ist. Sie legen dorthin signifikant geringere Strecken im Vergleich zu Mutanten des Ellipsoidkörpers zurück. Bei diesen Mutanten ist die Funktionsweise des Kurzzeitintegrators unterbrochen. Die Analysen zeigen, dass sich die Mutanten zufällig für eine der beiden Landmarken entscheiden und häufiger die Laufrichtung wechseln (Diplomarbeit Flethe, 2013). Dieser Entscheidungsprozess beruht auf der Annahme, dass die Information

über das ursprüngliche Ziel idiothetisch vorhanden sein muss, um das ablenkende Objekt ignorieren zu können. Im Detour-Paradigma kann gezeigt werden, dass die Information bezüglich einer visuellen Landmarke in einem Arbeitsspeicher hinterlegt wird, wenn die Fliege darauf zuläuft und die Landmarke verschwindet. Wird für eine Sekunde ein ablenkendes Objekt präsentiert, läuft sie darauf zu, nach dem Verschwinden des Objektes erinnert sie sich an die Position ihres ursprünglichen Ziels und läuft in diese Richtung. Das Zurückgreifen auf diese idiothetische Information entspricht der Eigenschaft eines visuellen Arbeitsgedächtnisses (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013).

Aus bisherigen Studien ist bekannt, dass das visuelle Arbeitsgedächtnis in den Ringneuronen-Subtypen R3 lokalisiert ist (Kuntz et al., 2012; 2017). Parallel dazu sollen die durchgeführten Studien analysieren, in welchen Subtypen der Ringneuronen die Integration des visuellen Signals im Memotaxis-Paradigma erfolgt. Mit Hilfe der Expression von TNT in Neuronen des Ellipsoidkörpers und die Wiederherstellung der Expression des wildtypischen Gens von *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutantem Hintergrund soll die Leitfrage beantwortet werden, wo der visuelle Kurzzeitintegrator im Ellipsoidkörper lokalisiert ist.

Ein weiteres Ziel ist die Untersuchung, ob der cAMP/PKA-Signalweg nach Kandel auch für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma benötigt wird. Die Komponenten des cAMP-Signalfades, die das Verhalten bei *Aplysia* und der Maus steuern, sind auch für Lernprozesse und die Gedächtnisbildung bei *Drosophila melanogaster* essentiell (Dudai et al., 1976; Yin et al., 1995; Vosshall, 2007). Die Proteinkinase A besitzt Substrate in den synaptischen Endigungen, wie zum Beispiel Membrankanäle oder Proteine, die an der Exocytose beteiligt sind. Zum einen können sie durch die posttranslationale Modifikation von Membranproteinen den Schwellenwert modifizieren, bis ein exzitatorisches, oder inhibitorisches postsynaptisches Potenzial ausgelöst wird. Zum anderen können sie die Gentranskription durch die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren steuern, wodurch Lernprozesse und die Gedächtnisbildung ermöglicht werden (Kandel, 2012). Neueste Studien zeigen, dass diese Komponenten auch für die visuelle Orientierung im Detour-Paradigma von großer Bedeutung sind (Kuntz et al., 2012; 2017). Deswegen wurde die Hypothese aufgestellt, dass diese Komponenten auch für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma benötigt werden, um ein visuelles Kurzzeitgedächtnis in Form eines Kurzzeitintegrators zu etablieren.

Eine weitere Leitfrage ist, ob der cGMP-Signalweg auch die visuelle Kurzzeitintegration im Memotaxis-Paradigma reguliert. Aktuelle Studien zeigen, dass dieser im Detour-Paradigma für die Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses essentiell ist (Kuntz et al., 2017).

Parallel dazu wurde untersucht, ob die visuelle Kurzzeitintegration über den Gasotransmitter NO und dem cGMP-Signalweg gesteuert wird. Dazu wurde die Redundanz von EBO anhand von Rettungs-Experimenten analysiert. Im Detour-Paradigma konnte gezeigt werden, dass die Redundanz von EBO auf Gasotransmitter zurückzuführen ist (Thran et al., 2013; Kuntz et al., 2017). In den R3-Neuronen aktiviert NO eine biochemische Signalkaskade, die das visuelle Arbeitsgedächtnis von *Drosophila melanogaster* reguliert (Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013; Kuntz et al.; 2017). Ein weiteres Thema der vorliegenden Arbeit ist die Analyse einiger der Schlüsselkomponenten aus dieser biochemischen Signalkaskade im Zusammenhang mit der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma.

Weiterhin klärt die vorgelegte Studie die Frage, ob NMDA-Rezeptoren für die visuelle Kurzzeitintegration und das Arbeitsgedächtnis benötigt werden. Die Translation der NMDA-Untereinheit dNR1 wird in R1- bis R4-Neuronen einzeln mit Hilfe von RNAi herunterreguliert. Die Auswirkungen werden im Memotaxis- und Detour-Paradigma untersucht. Weiterhin wird die Aminosäure Asparagin, die innerhalb der Aminosäuresequenz der dNR1-Untereinheit von NMDA-Rezeptoren Mg^{2+} bindet, modifiziert. Mit Hilfe des GAL4/UAS-Systems kann innerhalb des Ellipsoidkörpers die mutante dNR1-Untereinheit exprimiert werden (Miyashita et al., 2012). Es soll überprüft werden, ob die Kanalaktivität allein oder im Zusammenhang mit dem Mg^{2+} -Block, die visuelle Kurzzeitintegration und das Arbeitsgedächtnis regulieren.

2. Material und Methoden

2.1 Fliegenaufzucht und die verwendeten Stämme

Die Fliegen wurden auf einem Standardnährmedium bei 25 °C in der Klimakammer aufgezogen. Diese besaß einen Hell-Dunkel-Rhythmus von jeweils 14/10 Stunden (Hellphasenbeginn um 7:00 Uhr). Die Luftfeuchtigkeit betrug 60%. Die Aufzucht der Larven erfolgte in Plastikgläsern mit einem Volumen von 80 cm³. Der Futterbrei wurde nach dem Rezept der Gruppe Heisenberg (Universität Würzburg) zubereitet, welches sich aus Wasser, Bierhefe, Maismehl, Sojamehl, Malzextrakt, Zuckerrübensirup, Agar und Nipagin, zur Eindämmung des Pilzwachstums, zusammensetzt.

Um die gewünschte genetische Konstellation zu erzeugen, wurden gezielt Männchen des einen Stammes mit jungfräulichen Weibchen des anderen Stammes verpaart. Diese Weibchen sind leicht am Meconium zu erkennen. In der vorliegenden Studie wurden nur 3-5 Tage alte Tiere für die Verhaltensanalyse ausgewählt. Einen Tag bevor sie getestet wurden, wurde ihnen unter Kälteanästhesie (~0°C) die Flügel um zwei Drittel ihrer ursprünglichen Länge gekürzt. Nachfolgend sind alle verwendeten Stämme, die Anordnung der genetischen Modifikation auf dem entsprechenden Chromosom, die Bezugsquelle und gegebenenfalls die entsprechende Referenz tabellarisch dargestellt (Tab. 1).

Tab. 1. Tabellarische Darstellung aller verwendeten Fliegenstämme unter Berücksichtigung der betroffenen Chromosomen, der Bezugsquelle und entsprechender Referenz.

Stamm	Chromosom	Bezugsquelle	Referenz
Canton-Spezial (CS)		Stammsammlung Institut für Zoologie, Abteilung III Neurobiologie, Uni Mainz, AG Roland Strauß	
<i>CrebB</i> ^{S162} /FM7a	I	Bloomington Stock Center; BL 4720	Akalal et al., 2010
<i>dunce</i> ¹ (<i>dnc</i> ¹)	I	Stammsammlung Institut für Zoologie, Abteilung III Neurobiologie, Uni Mainz, AG Roland Strauß	
<i>ellipsoid-body-open</i> ⁶⁷⁸ (<i>ebo</i> ⁶⁷⁸)	I	Martin Heisenberg	Strauss und Heisenberg, 1993; Thran et al., 2013
<i>ellipsoid-body-open</i> ^{KS263} (<i>ebo</i> ^{KS263})	I	Martin Heisenberg	Strauss und Heisenberg, 1993
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /yw ⁹ FM7a	I	Burkhard Poeck	Thran et al., 2013
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /FM7a;UAS-3282 ^{M7} /CyO	I;II	Burkhard Poeck	Thran et al., 2013
<i>foraging-Rover</i> (<i>for</i> ^R)	II	Marla Sokolowski	de Belle und Sokolowski, 1987; Kuntz et al., 2012
<i>foraging-sitter</i> (<i>for</i> ^S)	II	Marla Sokolowski	de Belle und Sokolowski, 1987; Kuntz et al., 2012
<i>ignorant</i> ^{58/1} (<i>ign</i> ^{58/1})	I	Martin Heisenberg	Putz et al., 2004; Kuntz et al., 2012
<i>Proteinkinase A-C1</i> ^{H2} (<i>Pka-C1</i> ^{H2})/CyO	II	Bloomington Stock Center; BL 4101	Lane und Kalderon, 1993
<i>rutabaga</i> ¹ (<i>rut</i> ¹)	I	Stammsammlung Institut für Zoologie, Abteilung III Neurobiologie, Uni Mainz, AG Roland Strauß	
198y-GAL4 (R1-Treiber)	IV	Bloomington Stock Center	Manseau et al., 1997
189y-GAL4 (R3-Treiber)	II	Douglas Armstrong	Renn et al., 1999 http://www.fly-trap.org/
EB1-GAL4 (R2-Treiber)	II	Burkhard Poeck	Young und Armstrong, 2010b
<i>ftz-(ng)</i> -GAL4/TM3; <i>sb</i> (R4-Treiber)	III	Julie Simpson Bloomington Stock Center; BL 8767	Pereanu et al., 2011
mb247-GAL4	III	Burkhard Poeck	Zars et al., 2000; Poeck et al., 2008
w ^P {w ^m UAS- <i>ign</i> ²⁻¹ } <i>ign</i> ^{58/1} /FM7a	I	Sara Kuntz	Kuntz et al., 2017
UAS- <i>Nos</i> ^{RNAi}	II	Vienna Drosophila Research Centre; VDRC 108433	Dietzl et al., 2007
UAS- <i>rut</i> ^{RNAi} /TM3; <i>sb</i>	III	Bloomington Stock Center; BL27291	

UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	III	Minoru Saitoe	Miyashita et al., 2012
UAS- <i>dNR1</i> (N631Q)	III	Minoru Saitoe	Miyashita et al., 2012
UAS-TNT ^{Pin7.2} / <i>CyO</i>	II	H. Scholz aus Köln	
VT49921-GAL4 (R2-Treiber)	III	Vienna Drosophila Research Centre VDRC	
VT043679-GAL4 (R4d-Treiber)	III	Vienna Drosophila Research Centre VDRC	
VT25526-GAL4 (R4m-Treiber)	III	Vienna Drosophila Research Centre VDRC	

Da beim Experimentieren mit Fliegen des mutanten Stammes *ign*^{58/1} mehrfach die Erfahrung gemacht wurde, dass die Tiere über mehrere Generationen hinweg ihren Verhaltensphänotyp verlieren (Kuntz et al., 2017), wurden die Tiere des Stammes *ign*^{58/1} und die des Stammes $w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}\}ign^{58/1}/FM7a$ vor der Versuchsdurchführung über 10 Generationen hinweg cantonisiert. Dazu wurden jungfräuliche Weibchen mit Männchen des Stammes FM7a/Y gekreuzt. Der Balancerstamm besitzt den genetischen Hintergrund des wildtypischen Stammes CS. Somit kann der genetische Hintergrund des Stammes *ign*^{58/1} ausgetauscht werden, während die Mutation mit Hilfe des Balancers erhalten bleibt. Insgesamt wurden zehn Kreuzungen durchgeführt. Um die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ im *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund zu exprimieren, wurden nach der Cantonisierung Weibchen des Stammes $w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}\}ign^{58/1}/FM7a$ mit Männchen der entsprechenden Treiberlinien gekreuzt.

2.2 Der Versuchsaufbau und das Memotaxis-Paradigma

Die Fliegen wurden auf einen 15 mm x 10 mm Einlaufsteg am Rande einer Plattform mit einem Durchmesser von 260 mm gesetzt. Die Plattform wird von einem Wassergraben umgeben, der verhindert, dass die Fliegen die Plattform verlassen können. Die Plattform ist von einem beleuchteten, zylindrischen Schirm (Durchmesser 402 mm, Höhe 224 mm) umgeben, ist milchig transparent und wird von unten mit einer Rotlichtlampe beleuchtet (Dunkelkammer-Glühbirne; vgl. Abb. 10).

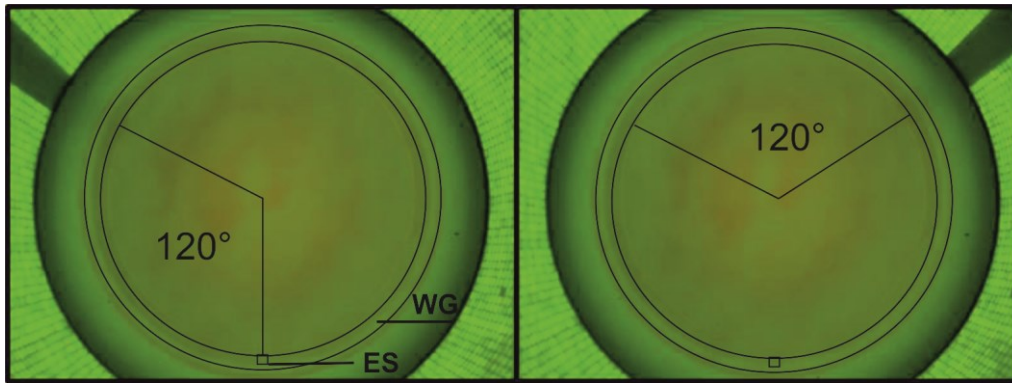


Abb. 10. Aufsicht auf die Plattform. Im Winkel von 120° zu den Landmarken ist ein Einlaufsteg (ES; 10 mm x 15 mm) befestigt. Die Landmarken werden nach dem Einlaufen der Fliege auf die Plattform alternierend gezeigt. Die Plattform wird von einem Wassergraben (WG) umgeben.

Eine rotlichtsensible elektronische Schwarz-Weiß Kamera (Valvo CCD-Design-Board mit Frame-Transfer-Chip NXA1101) nimmt die Bewegungen der Fliege auf (vgl. Abb. 11).

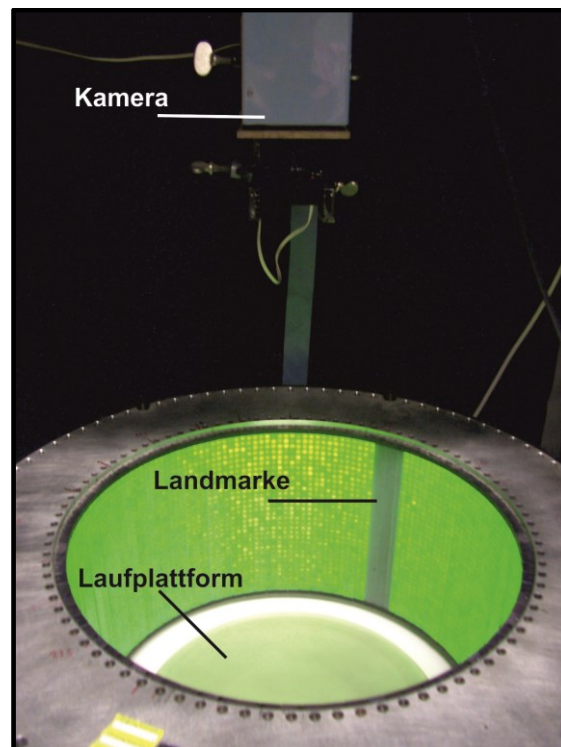


Abb. 11. Sicht auf die oberhalb der Plattform installierte Kamera. Die LED-Arena sorgt für eine einheitlich determinierte visuelle Umwelt, die durch den Experimentator gesteuert wird. Innerhalb der Arena ist gerade eine Landmarke sichtbar.

Das Bild wird von der Kamera auf einen Monitor übertragen (vgl. Abb. 12). Die Kamera besitzt einen Rotlichtfilter, der verhindert, dass das gelb-grüne Streulicht der Lichtemittierenden Dioden (LEDs, Typ RS585-589, Wellenlänge 565 nm) in den Aufnahmen mitverarbeitet wird. Die Videoinformation kann mit einer zeitlichen Auflösung von 50 Hz mit Hilfe einer ATVista card (Truevision Inc.) am PC verarbeitet werden.

Die LED-(Light-emitting-diode-)Arena ist unterteilt in 90 vertikale, bildgebende Einheiten. Jede dieser Einheiten besteht aus zwei Säulen mit jeweils 32 LEDs. Der zylindrische Schirm der LED-Arena besteht damit aus 32 horizontalen Vollkreisen, die jeweils 180 LEDs besitzen. Diese sind auf einer elektronischen Treiberplatine, die von einem Computer über ein entsprechendes Programm kontrolliert werden kann, befestigt (Strauss et al., 1997). Für die Fliege erscheint der Bildschirm als einheitlich beleuchtet, da die Pixelstruktur feiner ist als die Auflösung der Augen der Fliege. In einer ansonsten einheitlichen Umgebung interessieren sich die Fliegen für die Landmarken und laufen auf eine der beiden Kanten, also den Übergang von dunkel zu hell, zu (Strauss et al., 1997; Strauss und Pichler, 1998).

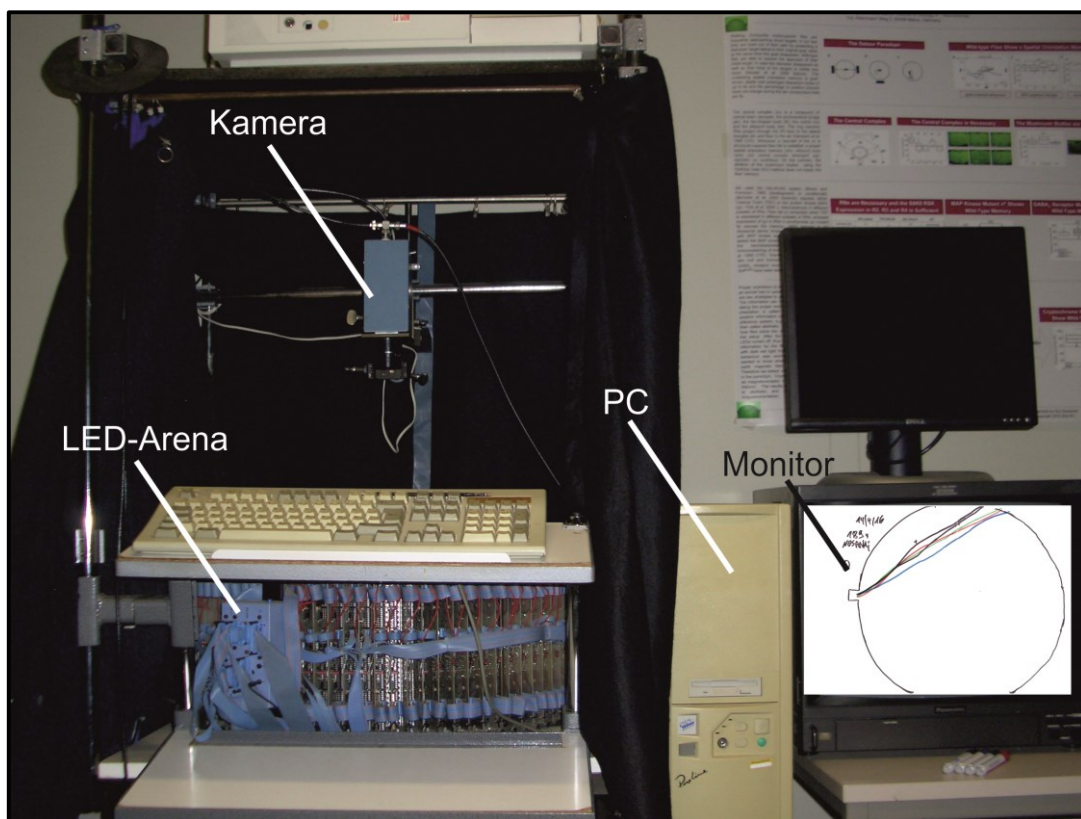


Abb. 12. Versuchsaufbau. Innerhalb der LED-Arena befindet sich eine Plattform mit einem Durchmesser von 260 mm. Oberhalb der Plattform ist eine rotlichtsensible elektronische Schwarz-Weiß Kamera (Valvo CCD-Design-Board mit Frame-Transfer-Chip NXA1101) installiert. Das Bild wird auf einem Monitor übertragen.

Mit Hilfe des Programms kann der Experimentator die visuelle Umgebung der Fliege steuern. Dieses wurde so programmiert, dass zwei Landmarken (Breite: 3,5 cm) in einem Winkel von 120° zueinander alternierend als dunkle Streifen erscheinen. Die Landmarken werden durch jeweils fünf benachbarte Säulen gebildet, die an- oder ausgeschaltet werden können. Eine Landmarke ist 3,5 cm breit und 22 cm hoch.

Wenn die Fliege auf den Einlaufsteg gesetzt wird, wird die erste Landmarke für drei Sekunden in einem Winkel von 120° zum Einlaufsteg sichtbar (vgl. Abb. 13 A). Danach verschwindet sie und eine identische Distraktorlandmarke wird für eine Sekunde präsentiert. Sie erscheint in einem Winkel von 120° (von der Mitte der Plattform aus gesehen) von der zuerst sichtbaren Landmarke (vgl. Abb. 13 B). Danach erscheint wieder die zuerst sichtbare Landmarke und bleibt eine Sekunde lang sichtbar (vgl. Abb. 13 C). Die Landmarken alternieren in ihrer Sichtbarkeit so lange, bis die Fliege eine der Landmarken erreicht.

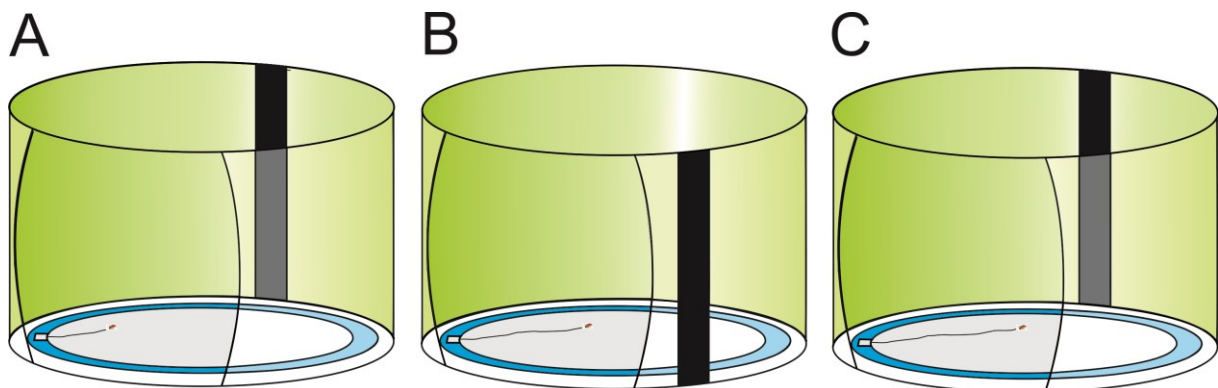


Abb. 13. Memotaxis-Paradigma. A) Die Fliege beginnt den Lauf auf einen kleinen Einlaufsteg. Zunächst wird ihr eine Landmarke für drei Sekunden präsentiert. B) Danach erscheint eine Distraktorlandmarke im Winkel von 120° zur ersten Landmarke für eine Sekunde. C) Nachdem die Distraktorlandmarke verschwunden ist, erscheint die zuerst sichtbare Landmarke wieder für eine Sekunde. Die beiden Landmarken alternieren in ihrer Sichtbarkeit so lange, bis die Fliege eine der beiden Landmarken erreicht hat.

Mit Hilfe des Memotaxis-Paradigmas lässt sich das memotaktische Verhalten analysieren (Diplomarbeit, Flethe 2013). Die zurückgelegte Strecke und die Anzahl der Läufe zu den Landmarken dienen dabei als Indikator für die Funktionsweise des visuellen Kurzzeitintegrators.

2.3 Das Detour-Paradigma

Das Detour-Paradigma ermöglicht die Untersuchung des visuellen Arbeitsgedächtnisses bei *Drosophila melanogaster* auf neuronaler und biochemischer Ebene (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013; Kuntz et al., 2017). Innerhalb der Arena werden im Winkel von 180° zwei vertikale Landmarken gezeigt. Die Fliege läuft zwischen den beiden Landmarken auf und ab (vgl. Abb. 14 A). Eine Landmarke ist 3,5 cm breit und 22 cm hoch. Überquert die Fliege die imaginäre Mittellinie, verschwinden die Landmarken und es wird im Winkel von 90° zu den ursprünglichen Landmarken eine Distraktorlandmarke eingeblendet (vgl. Abb. 14 A und B). Nachdem die Fliege eine Sekunde auf die Landmarke zugelaufen ist,

verschwindet diese ebenfalls. Anschließend ermittelt der Experimentator, ob die Fliege in Richtung des ursprünglichen Ziels oder in die entgegengesetzte Richtung läuft.

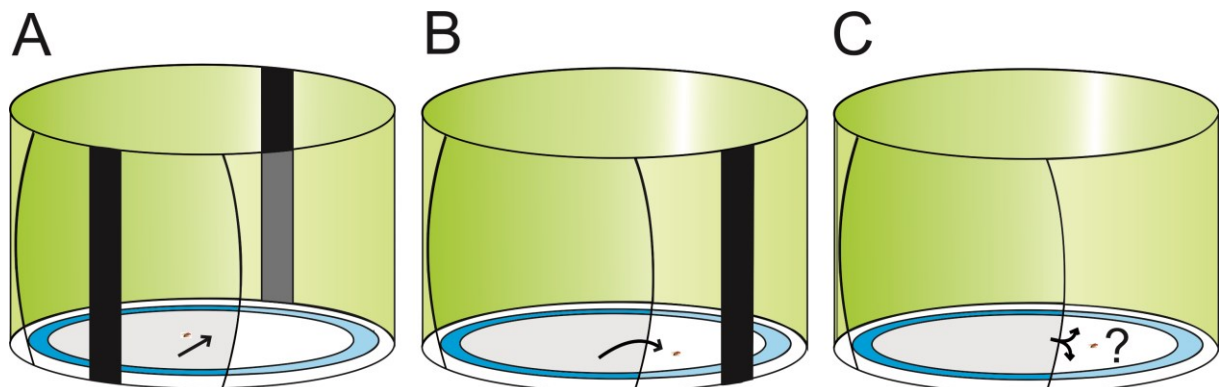


Abb. 14. Detour-Paradigma. A) Die Fliege läuft zwischen den beiden Landmarken im Winkel von 180° auf und ab. B) Überquert die Fliege die imaginäre Mittellinie der Plattform verschwinden beide Landmarken und es erscheint eine Distraktorlandmarke im Winkel von 90°. C) Die Fliege läuft auf die Distraktorlandmarke zu. Nach einer Sekunde verschwindet die Landmarke. Es wird analysiert ob die Fliege sich in Richtung ihres ursprünglichen Ziels wendet oder ob sie in die entgegengesetzte Richtung läuft.

Dabei wurde der Rotationswinkel der Fliege von $\pm 45^\circ$ berücksichtigt. Pro Fliege werden zehn Anläufe ermittelt. Erfolgt die Drehung der Fliege in Richtung ihres ursprünglichen Ziels, wird dies als positive Drehung bewertet. Dreht sich die Fliege hingegen in die entgegengesetzte Richtung, so gilt dies als negative Drehung. Fliegen, die die Landmarke nicht fixieren, können auf das Detour-Verhalten nicht untersucht werden.

Wildtypische Fliegen zeigen, dass sie sich häufiger in die Richtung ihres ursprünglichen Zieles orientieren (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; Thran et al., 2013; Kuntz et al., 2017). Statistische Analysen beziehen sich auf das Zufallsniveau. Aufgrund der Turn-Kompensation liegt es bei 58%, da es wahrscheinlicher ist, dass die Fliege nach einer Rechtskurve eine Linkskurve vollführt und umgekehrt (Strauss und Pichler, 1998). Bei der statistischen Analyse wird zunächst jede Stichprobe auf ihre Verteilungsfunktion mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests hin untersucht. Liegen die Daten parametrisch vor, so wurde der Einstichproben-t-Test gegen das Zufallsniveau von 58% verwendet. Bei nicht-parametrischen Datensätzen wird der Wilcoxon-Test verwendet. Bei dem statistischen Vergleich der Stichproben untereinander, wurde bei parametrisch und nicht-parametrisch verteilten Datensätzen der Kruskal-Wallis-Test verwendet, um zu überprüfen, ob es Unterschiede zwischen den Verteilungsfunktionen gibt. Wenn diese Unterschiede nachweisbar sind, wurde die Posthoc-Analyse durchgeführt, um zu ermitteln, wo genau sich die Unterschiede befinden. Um die

statistische Irrtumswahrscheinlichkeit herabzusetzen, wurde die Bonferroni-Korrektur verwendet.

2.4 Statistische Auswertung der Daten aus dem Memotaxis-Paradigma

Im Memotaxis-Paradigma sollen statistische Analysen klären, ob die Auswahl einer der beiden Landmarken zufällig erfolgt oder ob es eine zielgerichtete Auswahl gibt. Weiterhin lassen sich mit Hilfe der statistischen Analysen der zurückgelegten Strecken Aussagen über das memotaktische Verhalten eines Stammes treffen. Bei der Memotaxis entspringt das Verhalten aus der internen Speicherung externer Stimuli heraus und ist damit zeitlich gepuffert und eine gewisse Zeitspanne unabhängig von aktuellen, visuellen Stimuli (Berg, Dissertation 2013; Strauss et al., 2014). Im Memotaxis-Paradigma wird die Fliege mit zwei visuell konkurrierenden Stimuli konfrontiert.

Nachfolgend sind exemplarisch fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS und der mutanten Stämme ebo^{KS263} und ebo^{678} dargestellt (vgl. Abb. 15).

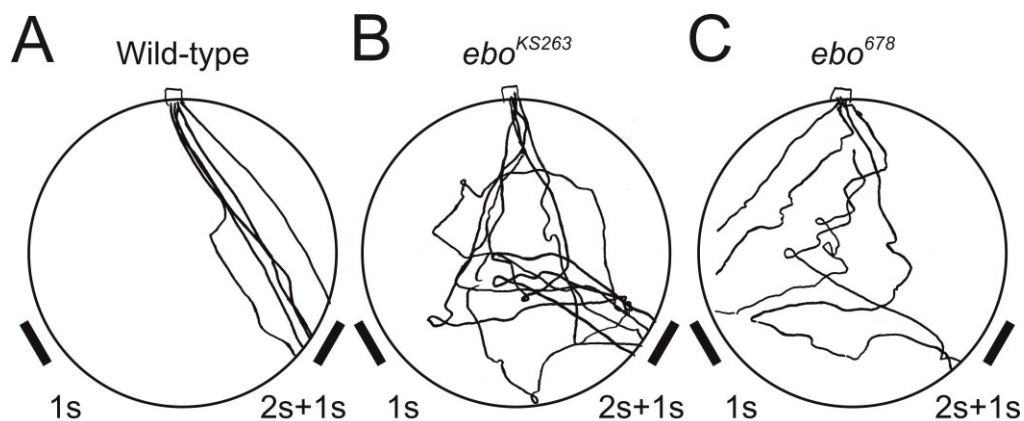


Abb. 15. Fünf exemplarische Laufspuren pro Fliege. A) Laufspuren des wildtypischen Stammes CS. Wildtypische Laufspuren sehen zielgerichtet aus und wählen häufiger die zuerst sichtbare Landmarke und lassen sich nicht ablenken. Die zurückgelegte Strecke ist vergleichsweise kurz. B) Die Laufspuren des Stammes ebo^{KS263} zeigen ein wenig zielgerichtetes Verhalten. Statistische Analysen machen deutlich, dass die Auswahl der Landmarken zufällig erfolgt und die zurückgelegten Strecken länger als die des wildtypischen Stammes CS sind. C) Die Laufspuren des Stammes ebo^{678} zeigen, dass beide Landmarken gleich häufig angelaufen werden. Es kommt zu Zickzack-Läufen und die zurückgelegten Strecken erscheinen weniger zielgerichtet und länger.

Die statistischen Analysen umfassen die Häufigkeit der Anläufe zur anfänglich länger sichtbaren Landmarke und die zurückgelegte Strecken (vgl. Abb. 16). Von jedem Tier werden je zehn Läufe analysiert. Von allen getesteten Tieren werden die gesamten Laufspuren ausgewertet (zurückgelegte Strecken). Dies ermöglicht es, Aussagen über die Fähigkeiten des

Stammes zu treffen. Weiterhin wird ermittelt, wie häufig jedes Tier die zuerst sichtbare Landmarke, die anfänglich für drei Sekunden erscheint, anläuft. Die Verteilung der Summen der Anläufe eines jeden Tieres pro Stamm oder Linie werden statistisch gegen das Zufallsniveau von fünf Anläufen getestet. Das Zufallsniveau wird als fünf definiert, da bei einem „chemotaktischen“ Anlauf beide Landmarken gleich häufig ausgewählt werden sollten. Die zehn Laufspuren eines jeden Tieres (10 pro Fliege mal n Fliegen) werden einzeln vermessen. Alle gemessenen Laufspuren eines Stammes oder einer Kreuzung werden als Boxplot dargestellt und statistisch ausgewertet. Die statistische Auswertung wird in der folgenden Abbildung exemplarisch dargestellt (vgl. Abb. 16).

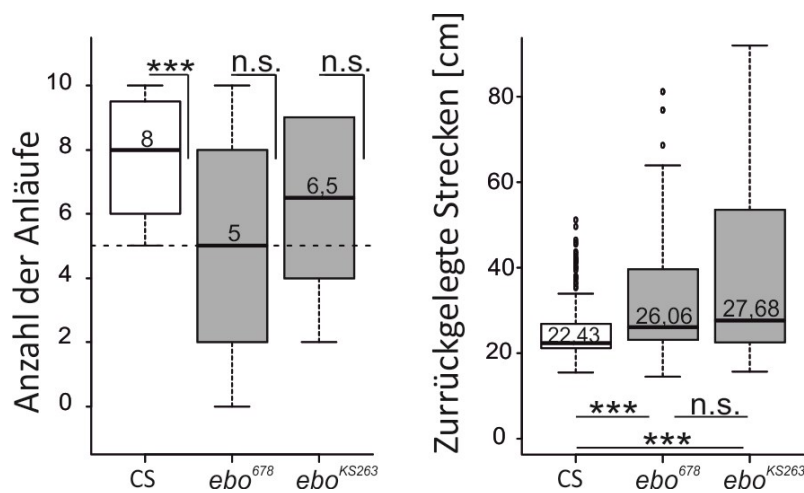


Abb. 16. Beispiel für die statistische Analyse der Anzahl der Anläufe und der zurückgelegten Strecken der Stämme *ebo*⁶⁷⁸ und *ebo*^{KS263}. A) CS (n=20) unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. *ebo*⁶⁷⁸ und *ebo*^{KS263} hingegen unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. B) Werden die zurückgelegten Strecken statistisch analysiert, so unterscheiden sich die Strecken des wildtypischen Stammes CS höchst signifikanten von den Mutanten *ebo*⁶⁷⁸ und *ebo*^{KS263} (je n=10). Die mutanten Stämme hingegen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die Mediane werden soweit es möglich ist, in den Abbildungen angegeben. Die statistische Auswertung befindet sich im Anhang unter 8.1.1.

Bei der Anzahl der Anläufe zur Landmarke wird jede Stichprobe mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Test getestet, ob die Daten normalverteilt sind. Liegt eine Normalverteilung vor, so wird der Einstichproben-t-Test verwendet, um den Datensatz gegen das Zufallsniveau zu testen. Sind die Daten nicht normalverteilt, wird der Wilcoxon-Test verwendet. Bei den zurückgelegten Strecken wird jeder Datensatz auf Normalverteilung hin untersucht. Sind in den zu analysierenden Stichproben nicht-normalverteilte und normalverteilte Datensätze enthalten, so wird der Kruskal-Wallis-Test verwendet, um zu analysieren, ob sich die Verteilungsfunktionen unterscheiden. Wird die Nullhypothese abgelehnt, so wird eine Posthoc-Analyse mit Hilfe des Wilcoxon-Tests als multiples Testverfahren angewendet. Diese Analyse klärt, wo genau die Unterschiede zwischen den Verteilungsfunktionen zu finden sind. Alle Datens-

ätze wurden nach Bonferroni korrigiert. Für statistische Analysen mit nur zwei Datensätzen wird entsprechend der Wilcoxon-Test oder der t-Test verwendet. Die Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm R! (Version: R x64 v 3.3.1) durchgeführt und in Form von Boxplots dargestellt (vgl. Abb. 17).

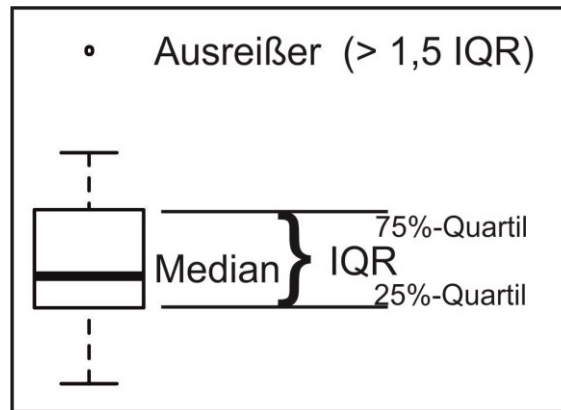


Abb. 17. Darstellung des Boxplots mit R! Die Darstellung der Boxplots basiert auf dem Interquartilsabstand (IQR). Das untere Ende der Box stellt das 25%-Quartil dar, das obere Ende das 75%-Quartil. Die Länge der Box wird als IQR bezeichnet. Der Balken in der Box gibt den Median an. Die gestrichelten Linien außerhalb der Box sind die Fehlerbalken (engl. Whisker), daher wird der Boxplot auch als *Box-Whisker-Plot* bezeichnet. Die Fehlerbalken geben Auskunft über die Lage der Daten in den Randbereichen an. Werte, die mehr als den 1,5 IQR von der oberen bzw. der unteren Box abweichen, stellen Ausreißer dar. Statistische Ergebnisse sind dargestellt als: n.s.: nicht signifikant, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Die Kenngrößen aller statistischen Analysen sind im Anhang unter 8.1 dargestellt.

2.5 Gehirnschnittpräparate und Mikroskopie

Unter Kälte ($\sim 0^{\circ}\text{C}$) wurden die Fliegen betäubt und der Reihe nach auf einen Kragen aufgefädelt. Anschließend wurden die Krägen in eine Carnoy-Lösung (30 ml Ethanol, 15 ml Chloroform, 5 ml Eisessig) überführt und für vier Stunden fixiert, um das Gewebe zu stabilisieren. Anschließend wurden die Krägen für 2 x 30 Minuten in vergälltem Ethanol überführt. Der letzte Reinigungsschritt erfolgte in trockenen Ethanol (Trocknung durch Aluminiumsilikate) für 1 x 1 Stunde. Über Nacht wurden die Krägen in Methylbenzoat als Intermedium vor der Paraffineinbettung inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Krägen für eine Stunde in ein Methylbenzoat/Paraffin-Gemisch (1/1) in den Wärmeschrank (64°C) gelegt. Anschließend erfolgte die Paraffinierung zur Entwässerung und Imprägnierung des Gewebes mit flüssigem Paraffin bei 64°C . Die Krägen wurden dazu in eine Petrischale überführt und achtmal für 20 Minuten mit neuem, flüssigem Paraffin bedeckt. Beim letzten Schritt wurde jeder Kragen in

eine Silikonform gelegt und mit Paraffin aufgefüllt. Anschließend wurde die Silikonform zum Abkühlen an die Luft gestellt.

Mit Eiweiß-Glycerin der Firma Chroma (Chargennummer 412625) beschichtete Objektträger wurden eine Stunde bei Raumtemperatur getrocknet. Die Blöcke wurden nach dem Zurechtschneiden mit einer Rasierklinge am Mikrotom in 7 µm Scheiben geschnitten, die als Bänder ablaufen. Anschließend wurden die Schnitte mit Hilfe zweier Pinsel auf den Objektträger überführt, der mit Wasser überschichtet war. Auf einer Wärmeplatte (40°C) wurden die Schnitte gestreckt und in Position gerückt. Dabei diffundiert der Augenfarbstoff Retinal in das Gewebe. Die anschließende Entparaffinierung erfolgte 2 x 30 Minuten und 1 x 20 Minuten mit Xylol der Firma Roth (Reinheitsgrad >98%, Artikelnummer 9713.3) bei 64°C. Danach wurden die Präparate mit Entellan der Firma Merck (Chargennummer HX255673) eingedekelt. Die Auswertung der Präparate erfolgte unter dem Mikroskop (Olympus BX50). Dieses ist mit dem Olympus U-RFL-T Power Supply Vorschaltgerät verbunden und besitzt eine 100 W Hochdruck-Quecksilberlampe. Unter dem Mikroskop ist die Autofluoreszenz des diffundierten Farbstoffs Retinal deutlich sichtbar, der gelblich in den Cortices und grünlich in den Neuropilen erscheint.

Das verwendete Objektiv besitzt eine Gesamtvergrößerung von 20 X und eine numerische Apertur von 0,4. Die Bildweite ist unendlich, die Dicke des zugelassenen Deckgläschens ist 0,17 mm. Mit einer Kamera (Moticam 2300, 3.0 M Pixel, USB 2.0) wurden Serienbilder des Ellipsoidkörpers und des fächerförmigen Körpers von anterior nach posterior erstellt. Diese ist auf einem PC (DELL LATITUDE/D610, Betriebssystem XP) installiert. Zur Darstellung der Fluoreszenzbilder auf dem PC wurde das Programm Motic Images Plus 2.0 verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Analyse der Funktion von Ringneuronen des Ellipsoidkörpers im Memotaxis-Paradigma

Tetanus toxin light chain (TNT) spaltet das für die Exocytose benötigte Protein Synaptobrevin. Wird TNT mit Hilfe des GAL4/UAS-Systems gezielt in bestimmten Neuronengruppen exprimiert, wird die Kommunikation der chemischen Synapsen unterbrochen. Die mit Transmitter gefüllten Vesikel können nicht sezerniert werden (Sweeney et al., 1995). Zunächst wurden weibliche Tiere des Stammes UAS-TNT^{PIN7.2} mit Männchen des Stammes 198y-GAL4 gekreuzt. Die Männchen der F1-Generation mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} wurden im Memotaxis-Paradigma getestet. Des Weiteren wurden für die Kontrollen wildtypische Weibchen des Stammes CS mit der Treiberlinie 198y-GAL4 gekreuzt und heterozygote Männchen aus der F1-Generation parallel getestet. Weiterhin wurden Weibchen des UAS-TNT^{PIN7.2} Stammes mit wildtypischen Männchen des Stammes CS gekreuzt. Die heterozygoten Männchen aus der F1-Generation mit dem Allel UAS-TNT^{PIN7.2} wurden im Memotaxis-Paradigma untersucht.

Die im Folgenden dargestellte Abb. 18 zeigt, dass die experimentellen Fliegen keine der beiden Landmarken zielgerichtet anlaufen können, wenn TNT in R2-Neuronen exprimiert wird (vgl. Abb. 18 C).

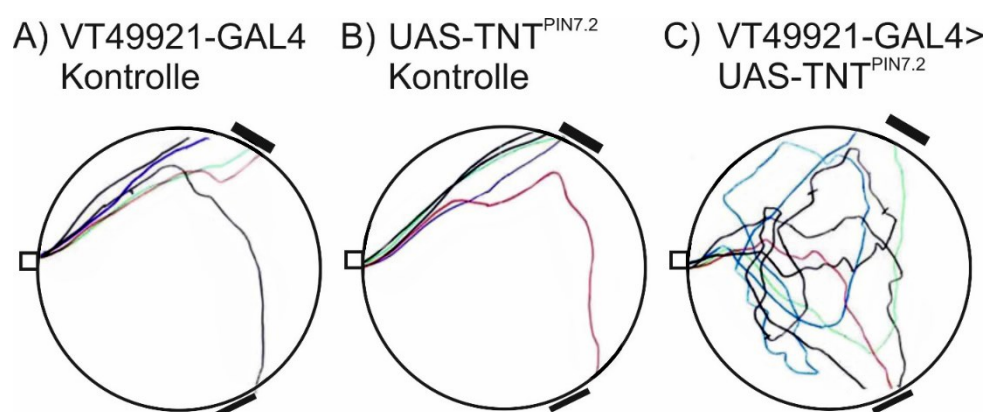


Abb. 18. Exemplarische Laufspuren der Fliegen, die TNT unter der Kontrolle der R2-Treiberlinie VT49921-GAL4 exprimieren. A) Darstellung von je fünf Laufspuren der VT49921-GAL4 Kontrolle und B) der UAS-TNT^{PIN7.2} Kontrolle. In C) sind Laufspuren von fünf Fliegen dargestellt, in denen UAS-TNT^{PIN7.2} unter der Kontrolle des VT49921-GAL4 Treibers in R2-Neuronen exprimiert wird. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Die Fliegen der beiden Kontrollgruppen laufen die Landmarke, die zu Beginn für drei Sekunden sichtbar war, zielgerichtet an und behalten den Kurs überwiegend bei, auch wenn diese Landmarke verschwindet und die zweite Landmarke erscheint (vgl. Abb. 18 A und B). Wird UAS-TNT^{PIN7.2} unter der Kontrolle der alternativen R2-Treiberlinie VT49921-GAL4 exprimiert, so zeigen die Fliegen, dass sie ebenfalls nicht in der Lage sind, eine der Landmarken zielgerichtet anzulaufen. Auch hier ließ sich häufiges wechseln der Laufrichtung bzw. das sogenannte Zickzack-Verhalten beobachten, welches in einer längeren Laufstrecke resultiert (vgl. Abb. 18 C). Interessanterweise ließ sich dieses Verhalten auch beobachten, wenn UAS-TNT^{PIN7.2} in R1-Neuronen, in R3- oder in R4m-Neuronen exprimiert wird.

Die statistischen Analysen in Abb. 19 B zeigen, dass die Strecken der Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} (m=27,12 cm) höchst signifikant länger ausfallen als die Strecken der beiden Kontrollgruppen mit den Medianen m=22,44 cm und m=23,06 cm. Betrachtet man die Auswahl der Landmarken, so fällt auf, dass sich die Anläufe der Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden, der Median befindet sich bei m=7,5 (vgl. Abb. 19 A). Tendenziell befindet sich der Wert jedoch auf der Ebene der Kontrollen 198y-GAL4 und UAS-TNT^{PIN7.2}. Diese Gruppen unterscheiden sich jedoch signifikant und hoch signifikant vom Zufallsniveau. Alle Mediane der getesteten Stichproben sind in Tab. 2, S. 45, einsehbar. Die Expression von TNT in den R1-Neuronen verursacht eine Einschränkung bezüglich des memotaktischen Verhaltens und zeigt sich in Form längerer Wegstrecken zu dem ausgewählten visuellen Objekt. Statistisch betrachtet erfolgt die Auswahl des visuellen Objekts zufällig, es macht also keinen Unterschied ob die zuerst sichtbare Landmarke zwei Sekunden länger sichtbar war als die zweite Landmarke, die nur eine Sekunde sichtbar war.

Um die R2-Neuronen zu adressieren, wurde die Wiener Linie VT49921-GAL4 aus dem Vienna Drosophila Resource Center VDRC mit dem UAS-TNT^{PIN7.2} Konstrukt kombiniert. Der Median der zurückgelegten Strecken liegt bei m=32,36 cm und unterscheidet sich damit höchst signifikant von den zurückgelegten Strecken der beiden Kontrollen (vgl. Tab. 2). Die Strecken von Fliegen der heterozygote Kontrollgruppe VT49921-GAL4 besitzen einen Median von 22,49 cm, die der heterozygote UAS-TNT^{PIN7.2} Kontrollgruppe einen Median von m=22,44 cm. Damit sind die Mediane der zurückgelegten Strecken der Kontrollen ca. 10 cm kürzer als der Median der Tiere mit dem Genotyp VT49921-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}. Betrachtet man die Anzahl der Anläufe zur Landmarke, so ist ersichtlich, dass die Auswahl auf dem Zufallsniveau von 5 liegt. Beide Kontrollgruppen unterscheiden sich hingegen hoch signifikant

vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 19 A). Auch hier deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die memotaktische Orientierung eingeschränkt ist, wenn TNT in R2-Neuronen exprimiert wird.

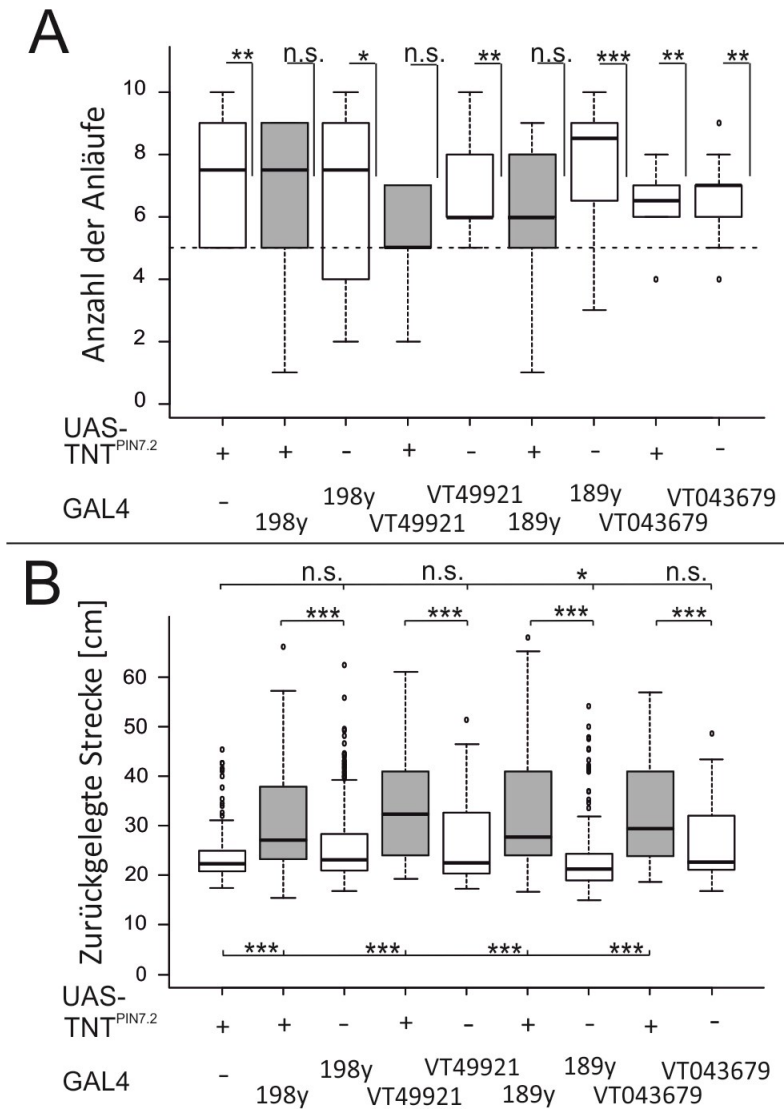


Abb. 19. Memotaxis-Verhalten nach der Expression von TNT in den Subtypen der Ringneuronen R1-R4. A) Während sich die Anzahl der Anläufe der heterozygoten Kontrollgruppe mit dem Konstrukt UAS-TNT^{PIN7.2} hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, unterscheiden sich auch die Anzahlen der Anläufe der heterozygoten GAL4-Kontrollen signifikant bis hoch signifikant vom Zufallsniveau. Die Expression von TNT in den R1-Neuronen (198y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}), den R2-Neuronen (VT49921-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}) und den R3-Neuronen (189y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}) führt dazu, dass sich die Anzahl der Landmarkenanläufe nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet. Wird TNT hingegen in den R4d-Neuronen exprimiert (VT043679-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}), so unterscheidet sich die Anzahl der Landmarkenanläufe hoch signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken der heterozygoten Kontrollgruppe UAS-TNT^{PIN7.2} fallen höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}, VT49921-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}, 189y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} und VT043679-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}. Die statistische Analyse zeigt, dass die zurückgelegten Strecken höchst signifikant länger ausfallen wenn TNT in R1-, R2-, R3- oder R4d-Neuronen exprimiert wird als die der entsprechenden GAL4 Kontrollgruppen. Die Kontrollgruppe UAS-TNT^{PIN7.2} unterscheidet sich bezüglich der zurückgelegten Strecken nicht signifikant von den Strecken der 198y-GAL4 Kontrollgruppe, der VT49921-GAL4 Kontrollgruppe und der VT043679-GAL4 Kontrollgruppe. Die zurückgelegten Strecken der 189y-GAL4 Kontrollgruppe fallen signifikant kürzer aus als die der UAS-TNT^{PIN7.2} Kontrollgruppe (alle Gruppen mit n=10, außer 189y-GAL4/II und 198y-GAL4/IV mit n=20). Die Mediane sind in Tab. 2 auf S.45 einsehbar. Die statistischen Auswertungen befinden sich im Anhang unter 8.1.2. Konventionen wie für Abb. 17.

In einem nächsten Versuchsansatz wird die synaptische Informationsübertragung in den R3-Neuronen blockiert. Dazu wird TNT im Muster der Treiberlinie 189y-GAL4 exprimiert. Fliegen mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} zeigen, dass die zurückgelegten Strecken höchst signifikant länger ausfallen als die zurückgelegten Strecken der beiden Kontrollgruppen (vgl. Abb. 19 B). Der Median der getesteten Stichprobe mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} liegt bei m=27,65 cm, der Median der 189y-GAL4 Kontrollgruppe bei 21,24 cm. Mit einem Median von m=6 unterscheidet sich die Anzahl der Anläufe zu der Landmarke mit Vorlauf nicht signifikant vom Zufallsniveau, wenn TNT in R1-Neuronen exprimiert wird. Beide Kontrollen zeigen jedoch, dass sie sich mit den Medianen m=8,5 und m=7,5 höchst und hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden. Diese Ergebnisse zeigen, dass auch in diesen Fliegen die Funktionsweise des Kurzzeitintegrators eingeschränkt ist, wenn die synaptische Kommunikation in den R3-Neuronen unterbrochen wird. Dies resultiert, im Vergleich zu den Kontrollgruppen, in deutlich längeren Wegstrecken durch weniger zielgerichtetes Laufverhalten. Das weniger zielgerichtete Laufverhalten spiegelt sich auch in der zufälligen Landmarkenauswahl wider.

Im Anschluss wurde untersucht, ob die Unterbrechung der synaptischen Informationsübertragung in R4-Neuronen auch dazu führt, dass die Fliegen eine eingeschränkte, memotaktische Orientierungsleistung besitzen. Die Treiberlinie *ftz-(ng)*-GAL4 exprimiert den Transkriptionsfaktor GAL4 in den Ringneuronen-Subtypen R4m und R4d (mündliche Mitteilung, B. Poeck). Das Gen *ftz* (*fushi-tarazu*) wird bei *Drosophila melanogaster* während der Embryogenese für die frühen Segmentierungsprozesse benötigt (Krause et al., 1988). Da sowohl *ftz-(ng)*-GAL4 und VT25526-GAL4 (R4m) bei der Verpaarung mit Weibchen des Stammes UAS-TNT^{PIN7.2} keine lebensfähigen Nachkommen hervor brachten, konnte TNT nur in den R4d-Neuronen exprimiert und entsprechende Fliegen im Memotaxis-Paradigma analysiert werden. Im Vergleich zu den Kontrollgruppen zeigen die Ergebnisse, dass die visuelle Orientierung deutlich schlechter ausfällt, wenn TNT in R4d-Neuronen exprimiert wird. Die zurückgelegten Strecken der Fliegen mit dem Genotyp VT043679-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} und dem Median m=29,4 cm fallen höchst signifikant länger aus als die Strecken der beiden Kontrollen. Die Anzahl der Landmarkenanläufe mit dem Median m=6,5 unterscheidet sich jedoch hoch signifikant vom Zufallsniveau und liegt damit auf dem Niveau der beiden Kontrollen (vgl. Abb. 19 A und B). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die memotaktische Orientierung herabgesetzt ist, da die Wegstrecken deutlich länger ausfallen. Trotzdem erreichen die Tiere aber die Landmarke, die zu Beginn der Messung länger sichtbar war.

Um das memotaktische Gedächtnis näher zu kartieren, wurde in einem nächsten Schritt die wildtypische cDNA von *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund exprimiert. Dies bedeutet, dass mit der Verwendung von unterschiedlichen Treiberlinien gezielt ein Subtyp von Ringneuronen das Gen *ebo* exprimiert, während die anderen Ringneuronen die Mutation *ebo*⁶⁷⁸ besitzen.

Tab. 2. Tabellarische Darstellung der Mediane der Anläufe und der zurückgelegten Strecken bezüglich der Expression von Tetanustoxin in den Ringneuronen R1-R4d. Die Expression von TNT erfolgte in Abhängigkeit der entsprechenden Treiberlinie in einem der vier Subtypen von Ringneuronen. Für den Ringneuronen-Subtyp R1 wurde die Treiberlinie 198y-GAL4 verwendet, für die R2-Neuronen VT49921-GAL4, für R3-Neuronen 189y-GAL4 und für die R4d-Neuronen VT043679-GAL4.

Genotyp	A) Mediane Anzahl der Anläufe	B) Mediane der zurückgelegten Strecken [cm]
UAS-TNT ^{PIN7.2}	7,5	22,44
198y-GAL4> UAS-TNT ^{PIN7.2}	7,5	27,12
198y-GAL4	7,5	23,06
VT49921-GAL4> UAS-TNT ^{PIN7.2}	5	32,36
VT49921-GAL4	6	22,49
189y-GAL4> UAS-TNT ^{PIN7.2}	6	27,65
189y-GAL4	8,5	21,24
VT043679-GAL4> UAS-TNT ^{PIN7.2}	6,5	29,4
VT043679-GAL4	7	22,69

3.2 Bedeutung des Gens *ebo* im Memotaxis-Paradigma

Die vorherigen Versuche mittels TNT haben eine deutliche Einschränkung des memotaktischen Gedächtnisses der Fliegen durch die Unterbrechung der synaptischen Transmission in einem der vier Subtypen der Ringneuronen gezeigt. In einem weiteren Versuch wird nun gezielt die wildtypische cDNA des Gens *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund in einem der vier Subtypen von Ringneuronen exprimiert.

Vorherige Studien im Zusammenhang mit dem visuellen Arbeitsgedächtnis im Detour-Paradigma belegen, dass der Expressionsort von EBO eine redundante Funktion übernimmt. Wird die cDNA von *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund in einem der vier Subtypen von Ringneuronen exprimiert, kann in jedem der vier Rettungsexperimente das visuelle Arbeitsgedächtnis auf das wildtypische Niveau angehoben werden (Thran et al., 2013). Es konnte gezeigt werden, dass der Verhaltensphänotyp von *ebo* nicht mit dem strukturellen

Defekt korreliert, denn Rettungsversuche zeigten, dass in den entsprechenden Tieren wildtypische als auch strukturelle Defekte bezüglich des Ellipsoidkörpers nachweisbar sind (Thran et al., 2013; Dissertation, 2013).

Der verwendete Stamm $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/yw^aFM7a$ besitzt einerseits das Allel ebo^{678} auf dem X-Chromosom, andererseits besitzt der Stamm eine P-Element Insertion, die an der Stelle $UAS-SD3282^{23}$ in das Genom integriert wurde, und eine wildtypische Kopie des Gens ebo^+ hinter einer UAS-Sequenz enthält. Es wird untersucht, ob das Gen ebo^+ bezüglich der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma auch eine redundante Funktion übernimmt. Es soll geklärt werden, ob der Verhaltensphänotyp ebenfalls unabhängig davon ist, in welchem der vier Subtypen von Ringneuronen die cDNA von ebo^+ exprimiert wird und ob damit das Verhalten auf das wildtypische Niveau wieder angehoben werden kann. Auf dem Balancerchromosom befinden sich die Mutationen y (*yellow*) und w^a (*white^{apricot}*), die für die Kreuzungsgenetik als Augenfarbenmarker dienen. Da der Balancer während der Tetrade im Meiosestadium die Rekombination verhindert, ist davon auszugehen, dass sich die Mutation stabil verhält. Für folgende Versuche wurde daher mit diesem Stamm gearbeitet. Zunächst wurden Weibchen des Stammes mit wildtypischen Männchen des Stammes CS gekreuzt. Die hemizygoten $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ Männchen wurden auf ihr memotaktisches Gedächtnis hin untersucht (vgl. Abb. 20).

Der Median der zurückgelegten Strecken liegt bei $m=24,17$ cm und unterscheidet sich signifikant von den Fliegen des Stammes ebo^{678} , der Median des getesteten Stichprobenumfangs liegt bei $m=26,06$ cm. Der Median der wildtypischen Gruppe hingegen liegt bei $m=22,43$ cm. Betrachtet man jedoch die Auswahl der Landmarken, so fällt auf, dass die Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ sich nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden (vgl. Abb. 20), der Median liegt bei $m=5,5$. Der Median der Fliegen des Stammes ebo^{678} liegt bei $m=5$. Beide Stichprobenumfänge unterscheiden sich damit nicht signifikant zum Zufallsniveau. Der Median des wildtypischen Stammes hingegen liegt bei $m=8$ und unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. Die Ergebnisse zeigen, dass sich die zurückgelegten Strecken der getesteten Kreuzung nicht signifikant von den zurückgelegten Strecken der wildtypischen Männchen unterscheiden (vgl. Abb. 20 B); der ebo -Phänotyp hinsichtlich der Streckenlänge verschwindet bereits durch Leckexpression.

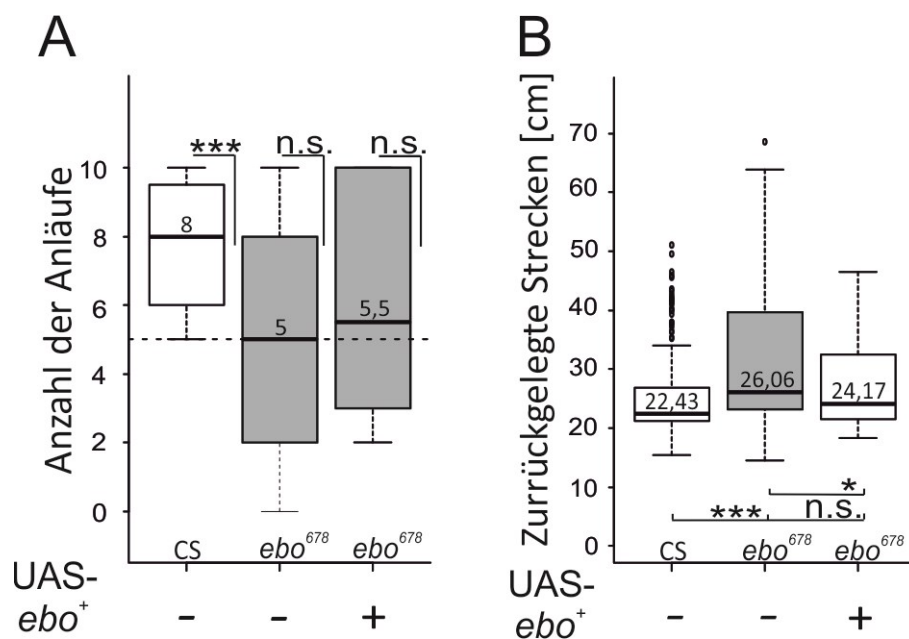


Abb. 20. Verhaltensanalyse der Männchen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ im Memotaxis-Paradigma. A) Während Männchen des Stammes CS ($n=20$) die Landmarke mit Vorlauf häufiger anlaufen und sich die Verteilungsfunktion höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, unterscheiden sich die Verteilungsfunktion der Mutanten des Stammes ebo^{678} ($n=10$) und der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ nicht signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ unterscheiden sich nicht signifikant von den zurückgelegten Strecken des Stammes CS und signifikant von den Strecken der ebo^{678} -Mutanten. Alle Statistiken befinden sich im Anhang unter 8.1.4. Konventionen wie für Abb. 17.

Es wäre zu erwarten gewesen, dass sich die zurückgelegten Strecken auf dem Niveau der ebo^{678} -Mutanten befinden und damit länger als die wildtypischen Strecken ausfallen. Doch statistische Analysen zeigen, dass die $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ -Männchen sich besser orientieren können, als die Mutanten des Stammes ebo^{678} .

Da die Tiere sich nicht wie Mutanten des Stammes ebo^{678} verhalten, wurde mit dem Stamm $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/FM7a;UAS-3282^{M7}/CyO$ weitergearbeitet. Dieser trägt zusätzlich noch eine zweite P-Element Insertion, so dass die wildtypische cDNA von ebo^+ in Kombination mit einem GAL4 Aktivator in doppelter Menge exprimiert werden kann. Das zweite Chromosom enthält den Marker *Curly of Oster* (*CyO*), so dass Tiere, die nach der Kreuzung den Marker und nicht die UAS-Sequenz tragen, anhand des Flügel-Phänotyps leicht erkannt werden können.

Zunächst wurden histologische Präparate angefertigt, um zu überprüfen, ob die Mutation bezüglich des Ellipsoidkörpers vorhanden ist. Insgesamt zeigten die untersuchten Tiere, dass der Ellipsoidkörper ventral geöffnet ist (vgl. Abb. 21).

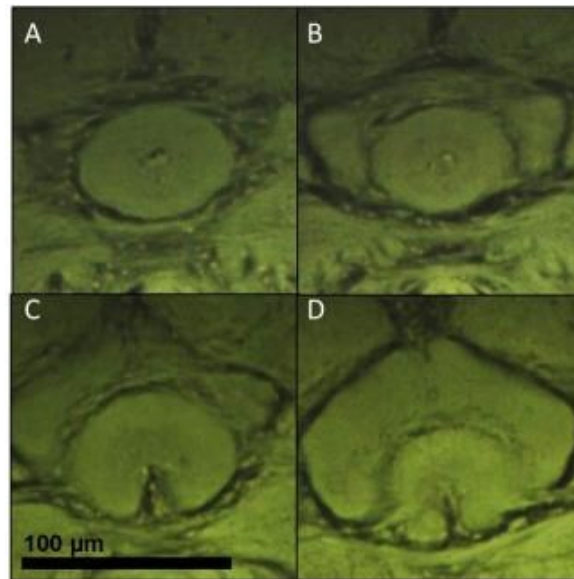


Abb. 21. Neuroanatomie von Männchen des Stammes $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. A) und B) zeigen den anterioren und posterioren Bereich eines wildtypischen Ellipsoidkörpers (CS). C) und D) zeigen exemplarisch den anterioren und posterioren Bereich des Ellipsoidkörpers des Stammes $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$ (Objektträger 31). In den untersuchten Tieren ist der Ellipsoidkörper ventral geöffnet. Weitere histologische Präparate befinden sich im Anhang unter 8.2.

Da die histologischen Präparate der untersuchten Tiere zeigten, dass der Ellipsoidkörper ventral geöffnet ist, wurde für die weiteren Verhaltensanalysen Weibchen des Stammes mit wildtypischen Männchen des Stammes CS gekreuzt. Entsprechende Männchen aus der F1-Generation wurden im Memotaxis-Paradigma untersucht. In Abb. 22 sind exemplarische Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ abgebildet.

Weibliche Fliegen des Stammes $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$ wurden mit Männchen des Stammes CS gekreuzt. Die Fliegen aus der F1-Generation mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ wurden hinsichtlich ihrer memotaktischen Orientierung untersucht. Während die wildtypischen Laufspuren zielgerichtet erscheinen, ist bei den Laufspuren von Fliegen des mutanten Stammes ebo^{678} sowie von Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ zu erkennen, dass die Laufspuren häufiger die Richtung ändern, so dass sie zickzackförmig oder aber schleifenförmig erscheinen (vgl. Abb. 22 B und C). Sowohl bei den Tieren des Stammes ebo^{678} als auch bei Tieren mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ gab es Fliegen, die extreme Laufspuren hinterließen, während das Verhaltensdefizit bei anderen Fliegen weniger stark ausgeprägt war.

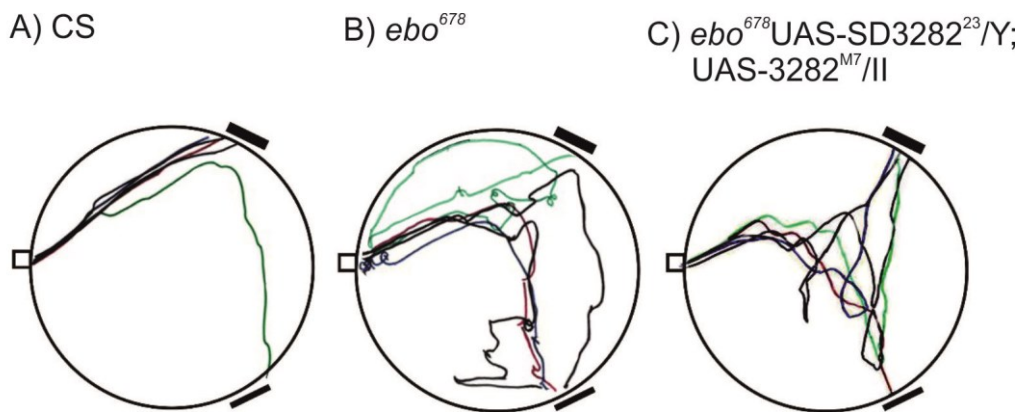


Abb. 22. Exemplarische Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$. In A) sind fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS abgebildet, in B) fünf Laufspuren von Fliegen des Stammes ebo^{678} . In C) sind fünf Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Die statistischen Analysen zeigen, dass die Tiere einen mutanten Verhaltensphänotyp sowohl bezüglich der Landmarkenauswahl als auch der zurückgelegten Strecken besitzen (vgl. Abb. 23 A und B). Die Landmarkenanläufe der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau, der Median liegt bei 6,5. Damit liegt er auf der Höhe des Medians der ebo^{678} -mutanten Tiere (vgl. Abb. 23 A). Der wildtypische Median liegt bei 8. Betrachtet man die zurückgelegten Strecken, so unterscheiden sich die Strecken der Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ nicht signifikant von den Strecken der ebo^{678} -Mutanten und höchst signifikant zu den wildtypischen Strecken (vgl. Abb. 23 B). Der Median der zurückgelegten Strecken liegt bei $m=26,3$ cm, wohingegen der Median der Tiere des Stammes ebo^{678} bei $m=26,06$ cm liegt. Die Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ und die Tiere des Stammes ebo^{678} unterscheiden sich höchst signifikant von den Tieren des Stammes CS, der Median liegt bei $m=22,43$ cm. Da aus der statistischen Analyse hervorgeht, dass bei den Tieren mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ sowohl bezüglich des Landmarkenanlaufs als auch den zurückgelegten Strecken ein mutanter Phänotyp vorliegt, werden in den folgenden zwei Versuchsreihen Rettungsexperimente des ebo^{678} -mutanten Phänotyps durchgeführt.

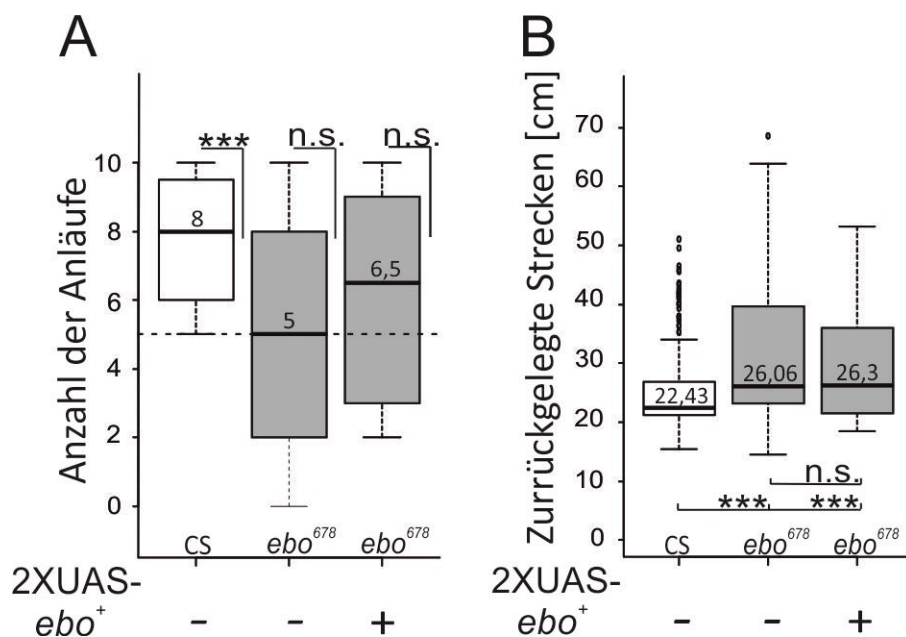


Abb. 23. Verhaltensanalyse der Männchen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ im Memotaxis-Paradigma. A) Die Verteilungsfunktion von CS (n=20) unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau, die Verteilungsfunktionen der *ebo*⁶⁷⁸-Mutanten (n=10) und der Tiere mit dem Genotyp *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*Y*;*UAS-3282*^{M7}/*II* (n=10) unterscheiden sich hingegen nicht. B) Die zurückgelegten Strecken von *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*Y*;*UAS-3282*^{M7}/*II* unterscheiden sich nicht signifikant von den zurückgelegten Strecken des mutanten Stammes *ebo*⁶⁷⁸. Alle Statistiken befinden sich im Anhang unter 8.1.5. Konventionen wie für Abb. 17.

Zunächst werden Weibchen des Stammes *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*FM7a*;*UAS-3282*^{M7}/*CyO* mit Männchen der Treiberlinie 189y-GAL4 verpaart. Die männlichen Fliegen aus der F1-Generation mit dem Genotyp *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*Y*;*UAS-3282*^{M7}/*189y-GAL4* werden im Memotaxis-Paradigma analysiert. Die statistische Analyse bezüglich der Landmarkenanläufe zeigt, dass sich die Anzahl der Anläufe nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, der Median liegt bei m=6,5. Auch die Kontrollgruppe *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*Y*;*UAS-3282*^{M7}/*II* zeigt, dass die Tiere die Landmarke mit Vorlauf nicht präferieren. Der Median liegt bei m=6,5. Beide Datensätze entsprechen dem Datensatz des mutanten Stammes *ebo*⁶⁷⁸. Dessen Median liegt bei m=5, der getestete Stichprobenumfang unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. Nur die 189y-GAL4 Kontrollgruppe läuft die Landmarke mit Vorlauf statistisch betrachtet häufiger an, die Landmarkenanläufe unterscheiden sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. Der Median liegt bei m=8,5 (vgl. Abb. 24 A).

Wird wildtypische cDNA von *ebo*⁺ in den R3-Neuronen in einen *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund exprimiert und die entsprechende Gruppe im Memotaxis-Paradigma untersucht, so zeigt sich, dass sich die Strecken auf dem Niveau der *ebo*⁶⁷⁸-Mutanten befinden. Der Stichprobenumfang mit dem Median m=23,62 cm unterscheidet sich nicht signifikant vom Stichprobenumfang des Stammes *ebo*⁶⁷⁸, dessen Median bei 26,06 cm liegt. Auch zu der Stich-

probe mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$, deren Median bei $m=26,3$ cm liegt, lässt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen. Zu der Kontrollgruppe 189y-GAL4 gibt es einen höchst signifikanten Unterschied. Der Median der Kontrollgruppe liegt bei $m=21,24$ cm (vgl. Abb. 24 B).

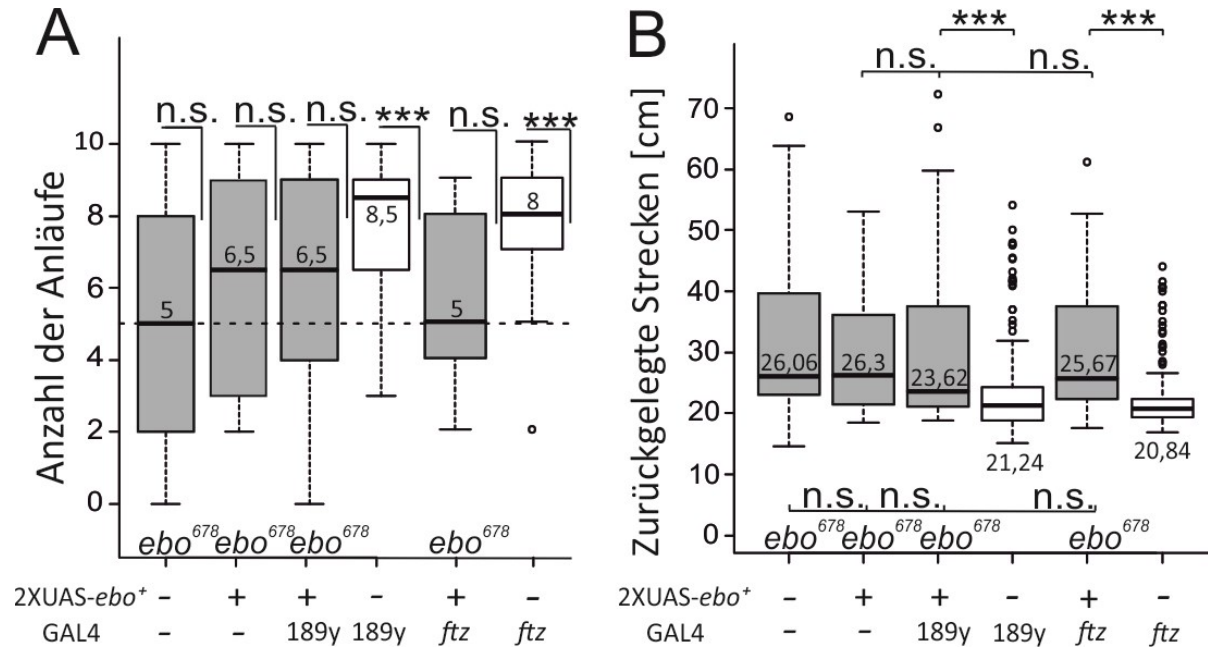


Abb. 24. Memotaxis-Verhalten von Tieren mit Expression wildtypischer cDNA von ebo^+ in einem ebo^{678} -mutanten Hintergrund in den R3- und R4-Neuronen. A) Die Verteilungsfunktion von ebo^{678} unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau, die Verteilungsfunktionen der $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ Kontrolle und der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/189y-GAL4$ unterscheiden sich hingegen nicht. Die Kontrollgruppe 189y-GAL4 zeigt, dass sie die Landmarke mit Vorlauf häufiger auswählt. Wird dagegen die Treiberlinie $ftz-(ng)-GAL4$ verwendet, so gibt es keinen signifikanten Unterschied zum Zufallsniveau. Die Kontrollgruppe mit dem Genotyp $ftz-(ng)-GAL4$ unterscheidet sich hingegen höchst signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken von $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/189y-GAL4$ unterscheiden sich nicht signifikant von den zurückgelegten Strecken des mutanten Stammes ebo^{678} und der Kontrollgruppe $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$. Die Strecken der 189y-GAL4 Kontrolle fallen kürzer aus als die Strecken des Stammes ebo^{678} , der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ und der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/189y-GAL4$. Die zurückgelegten Strecken von $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II;ftz-(ng)-GAL4/III$ unterscheiden sich nicht signifikant von den zurückgelegten Strecken des mutanten Stammes ebo^{678} und der Kontrollgruppe $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$. Nur die Strecken der $ftz-(ng)-GAL4/III$ Kontrolle fallen kürzer aus als die Strecken des Stammes ebo^{678} , der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ und der Tiere mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/ftz-(ng)-GAL4$ (alle Gruppen $n=10$, außer $ftz-(ng)-GAL4$ und 189y-GAL4 $n=20$). Alle Statistiken befinden sich im Anhang unter 8.1.6. Konventionen wie für Abb. 17.

Die statistische Analyse lässt vermuten, dass das memotaktische Gedächtnis der Gruppe mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/189y-GAL4$ im Vergleich zur Kontrollgruppe 189y-GAL4 deutlich herabgesetzt ist. Die Strecken fallen länger aus, wenn die Kurzzeitintegration bezüglich der visuellen Stimuli eingeschränkt ist, da die Tiere häufiger zwischen den konkurrierenden Signalen die Richtung wechseln. Die Länge der zurückgelegten Strecken korreliert häufig mit der Anzahl der Richtungswechsel (Flethe, Diplomarbeit 2013).

Ähnlich wie die Mutanten des Stammes *ebo*⁶⁷⁸ entscheiden sich die Fliegen mit dem Genotyp *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/189y-GAL4 zufällig für eines der visuellen Objekte.

In einem weiteren Versuch wird die wildtypische cDNA von *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund in den R4-Neuronen exprimiert und die Tiere im Memotaxis-Paradigma untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass der Verhaltensphänotyp nicht gerettet werden kann. Auch in diesem Fall entspricht die Auswahl der Landmarke und die Länge der zurückgelegten Strecken eher dem mutanten Phänotyp des Stammes *ebo*⁶⁷⁸ beziehungsweise der Kontrollgruppe *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II (vgl. Abb. 24 A und B).

Die Landmarkenanläufe der Fliegen des mutanten Stammes *ebo*⁶⁷⁸, der Kontrollgruppe *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II sowie der Fliegen mit dem Genotyp *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II;*ftz*-(*ng*)-GAL4/III zeigen, dass sich die entsprechenden Mediane mit m=5, m=6,5 und m=5 nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden. Die Fliegen mit dem heterozygoten Allel *ftz*-(*ng*)-GAL4 zeigen, dass sich die Anzahl der Landmarkenanläufe mit dem Median m=8 höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet (vgl. Abb. 24 A). Auch die Strecken fallen bei der Kontrollgruppe *ftz*-(*ng*)-GAL4 mit dem Median m=20,84 cm höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Fliegen des mutanten Stammes *ebo*⁶⁷⁸ mit dem Median m=26,06 cm (vgl. Abb. 24 B). Auch die Strecken von Fliegen mit dem Genotyp *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II;*ftz*-(*ng*)-GAL4/III mit m=25,67 cm sind höchst signifikant länger als die der Kontrollgruppe *ftz*-(*ng*)-GAL4, während kein signifikanter Unterschied dieser Fliegen zu der Kontrollgruppe *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II mit m=26,3 cm besteht. Die Ergebnisse zeigen, dass das Verhaltensdefizit nicht wiederhergestellt werden kann, wenn die wildtypische cDNA von *ebo*⁺ in R3- oder R4-Neuronen in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund exprimiert wird.

Anhand der Laufspuren ist ersichtlich, dass die Laufspuren der Fliegen des mutanten Stammes *ebo*⁶⁷⁸, Fliegen der Kontrollgruppe *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II sowie Fliegen mit dem Genotyp *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/II;*ftz*-(*ng*)-GAL4/III weniger zielgerichtet erscheinen als die der *ftz*-(*ng*)-GAL4 Kontrollgruppe. Nachfolgend sind je fünf Laufspuren pro getesteten Stichprobenumfang exemplarisch dargestellt.

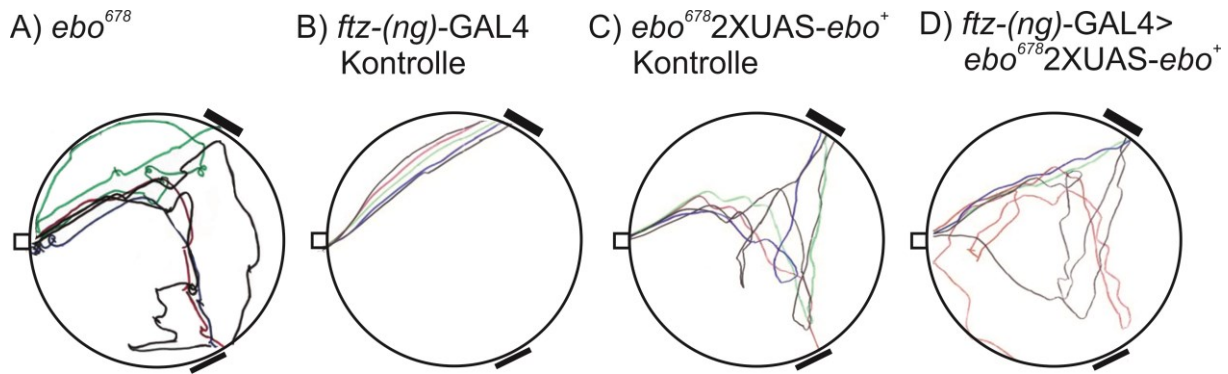


Abb. 25. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, die wildtypische cDNA von ebo^+ in einem ebo^{678} -mutanten Hintergrund in R4m- und R4d-Neuronen exprimieren. A) zeigt fünf Laufspuren von Fliegen des Stammes ebo^{678} , B) zeigt fünf Laufspuren der Fliegen die heterozygot bezüglich des Allels $ftz-(ng)$ -GAL4 sind. In C) werden die Laufspuren der Kontrollfliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}2XUAS-ebo^+$ dargestellt, diese sind heterozygote Träger des Allels $UAS-ebo^+$. Diese Sequenz ist zweifach vorhanden. In D) sind Laufspuren von Fliegen dargestellt, die wildtypische cDNA von ebo^+ in einem ebo^{678} -mutanten Hintergrund unter der Kontrolle der Treiberlinie $ftz-(ng)$ -GAL4 exprimiert. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Die Laufspuren und die statistische Analyse zeigen, dass sich das wildtypische Verhalten nicht wieder herstellen lässt, wenn die wildtypische cDNA von ebo^+ in einem ebo^{678} -mutanten Hintergrund in den R4-Neuronen exprimiert wird.

3.3 Expression von Tetanustoxin im Pilzkörper

Da die Pilzkörper für die Verarbeitung olfaktorischer Signale bekannt sind (Waddell und Quinn, 2001), wurde TNT im Muster der Treiberlinie $mb247$ -GAL4 exprimiert, in der Erwartung, dass dies keinen Effekt auf die visuelle Kurzzeitintegration im Memotaxis-Paradigma ausübt. Dies sollte als geeignete Kontrolle für die Expression von TNT im Ellipsoidkörper dienen. Mit Hilfe des GAL4/UAS-Systems wird gezielt die Freisetzung synaptischer Vesikel mit Hilfe der Expression von TNT in den Neuronen des Pilzkörpers unterbrochen. Die Treiberlinie $mb247$ -GAL4 exprimiert stark in den Neuronen der α/β - und γ -Loben des Pilzkörpers, weniger stark in den α'/β' -Neuronen (Krashes et al., 2007).

In Abb. 26 sind exemplarische Laufspuren dargestellt. An den wildtypischen Laufspuren und an den Laufspuren der Kontrolltiere ist zu erkennen, dass die Fliegen die Landmarke, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war, zielgerichtet anlaufen (vgl. Abb. 26 A und B). Wird die synaptische Signaltansduktion mittels TNT im Muster der Treiberlinie $mb247$ -GAL4 unterbrochen, so zeigen die Fliegen im Memotaxis-Paradigma häufiger zickzackförmige Laufspuren (vgl. Abb. 26 A). Sie weichen häufiger von ihrer ursprünglichen Lauf-

richtung ab als die wildtypischen Tiere und die Kontrolltiere. Dies äußert sich an den höchst signifikant längeren Wegstrecken.

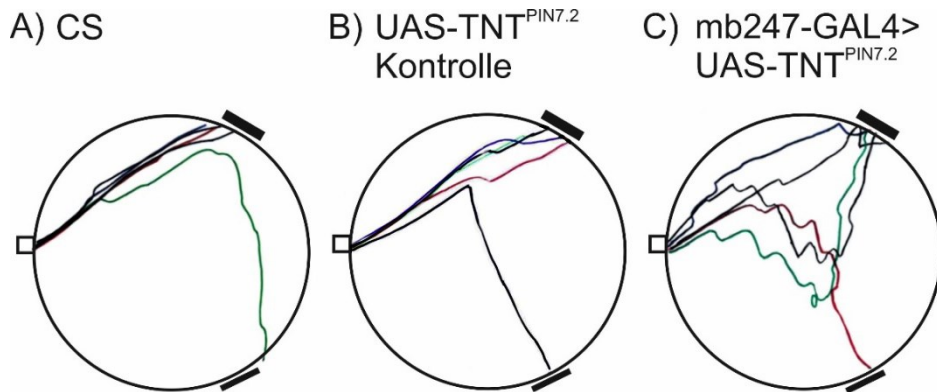


Abb. 26. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, die TNT unter der Kontrolle der Treiberlinie mb247-GAL4 exprimieren. A) Fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS, B) fünf Laufspuren der Fliegen, die heterozygot bezüglich des Allels UAS-TNT^{PIN7.2} sind und C) fünf Laufspuren von Fliegen, die TNT unter der Kontrolle der Treiberlinie mb247-GAL4 exprimieren. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Betrachtet man die Anzahl der Anläufe zur länger sichtbaren Landmarke, so fällt auf, dass Tiere mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf von zwei Sekunden bevorzugt anlaufen (vgl. Abb. 27 A).

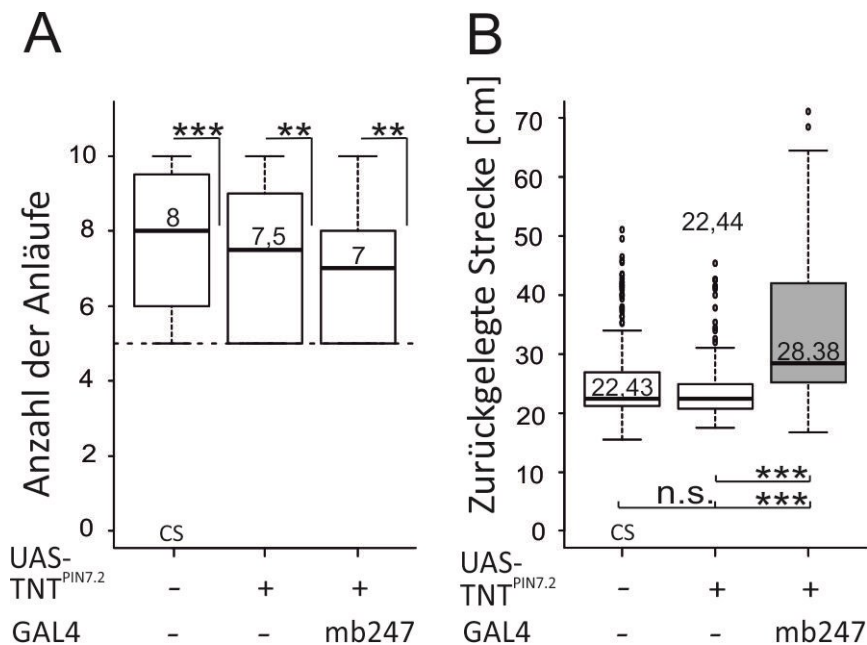


Abb. 27. Memotaxis-Verhalten von Tieren mit Expression von TNT im Pilzkörper. Die Tiere mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} unterscheiden sich hoch signifikant vom Zufallsniveau, genau wie die Kontrolle UAS-TNT^{PIN7.2}. Der wildtypische Stamm CS unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} unterscheiden sich höchst signifikant von den wildtypischen Strecken und der Strecken der Kontrolle (alle Tiere n=10). Statistische Analysen befinden sich im Anhang unter 8.1.3. Konventionen wie für Abb. 17.

Der Median der Landmarkenanläufe liegt mit $m=7$ auf wildtypischen Niveau, wenn TNT im Muster von mb247-GAL4 exprimiert wird. Dies entspricht einerseits der Erwartung, wenn man davon ausgeht, dass nur der Ellipsoidkörper für die Verarbeitung visueller Informationen benötigt wird. Betrachtet man jedoch die zurückgelegten Strecken, so sieht man, dass die Strecken höchst signifikant länger im Vergleich zu den wildtypischen Strecken und der Strecken der heterozygoten Kontrollgruppe UAS-TNT^{PIN7.2} sind (vgl. Abb. 27 B). Der Median der zurückgelegten Strecken liegt bei $m=28,38$ cm und zeigt, dass die memotaktische Orientierung der Tiere mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} deutlich beeinträchtigt ist. Der Median der Strecken von Fliegen des wildtypischen Stammes CS liegt bei 22,43 cm, der Median der Strecken der Kontrollgruppe mit dem heterozygoten Allel UAS-TNT^{PIN7.2} beträgt $m=22,44$ cm.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Funktionsweise des visuellen Kurzzeitintegrators eingeschränkt ist, wenn TNT im Muster von mb247-GAL4 exprimiert wird.

3.4 Das Verhalten der klassischen Lernmutanten *dnc¹*, *Pka-C1^{H2}* und *rut¹* im Memotaxis-Paradigma

Um mögliche biochemischen Komponenten zu identifizieren, fiel der erste Blick auf die klassischen Lernmutanten des cAMP-Signalwegs, da der sekundäre Botenstoff cAMP in der Lage ist, zellexterne Ereignisse in zellinterne zu transformieren. Dies ermöglicht einer Zelle adäquat auf ein Ereignis reagieren zu können. Für das Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis ist die Modulation des cAMP-Spiegels essentiell (Kandel, 2012) und einige Schlüsselenzyme konnten bei *Drosophila* ebenfalls identifiziert werden (vgl. Kap. 1.3). *rut¹* und *dnc¹* sind bekannte Lernmutanten, sie zeigen Defizite in der klassischen olfaktorischen Konditionierung bei *Drosophila melanogaster* (Tully und Quinn, 1985; Armstrong et al., 1998; Tang und Juusola, 2010). Das aversive olfaktorische Lernen ist bei Mutanten des Stammes *dnc* herabgesetzt (Nagarkar-Jaiswal et al., 2015), und sie zeigen auch ein reduziertes olfaktorisches Langzeitgedächtnis (Kanellopoulos et al., 2012). Wie in Kap. 1.3 beschrieben, ist die Modulation des cAMP-Spiegels durch die AC und die PDE auch für die Etablierung des visuellen Arbeitsgedächtnisses essentiell (Kuntz et al., 2017). Ein hoher cAMP-Spiegel aktiviert die PKA (Kandel, 2012). Fliegen mit dem heterozygoten Allel *Pka-C1^{H2}* zeigen zwar keinen Defekt nach der aversiven, olfaktorischen Konditionierung (Tully und Quinn, 1985), jedoch zeigen genetische Interaktionsstudien im Zusammenhang mit einer mutanten Form des Gens *rugose*, welches

für ein Ankerprotein der PKA codiert, und *PKa-C1^{H2}*, dass das olfaktorische Kurzzeitgedächtnis dieser Tiere beeinträchtigt ist (Zhao et al., 2013). Im Detour-Paradigma zeigen Fliegen mit dem heterozygoten Allel *Pka-C1^{H2}* einen Verlust bezüglich des visuellen Arbeitsgedächtnisses (Kuntz et al., 2017). Daher ist davon auszugehen, dass PKA auch für das memotaktische Gedächtnis benötigt wird.

Das Ziel einer weiteren Versuchsreihe war, das memotaktische Orientierungsverhalten auf biochemischer Ebene näher zu charakterisieren. Dazu wurden die klassischen Lernmutanten *dnc¹*, *Pka-C1^{H2}* und *rut¹* im Memotaxis-Paradigma analysiert. Zunächst wurde der genetische Hintergrund des Stammes *dnc¹* mit dem wildtypischen Hintergrund CS kombiniert. Dies sollte einen vergleichbaren genetischen Hintergrund gewährleisten während die Mutation erhalten bleibt. Dazu wurden homozygote *dnc¹*-Weibchen mit wildtypischen CS-Männchen gekreuzt. *dnc¹* ist eine x-chromosomale Mutation, daher sind die Männchen aus der F1-Generation hemizygot bezüglich der Mutation. Das Allel ist hypomorph und besitzt 50% Restaktivität der PDE (Davis und Kiger, 1981). Die hemizygoten *dnc¹*-Männchen aus der F1-Generation wurden im Memotaxis-Paradigma analysiert. *Pka-C1^{H2}* ist ein stark amorphes Allel und heterozygote Tiere zeigen eine um 50% geringere PKA Aktivität (Lane und Kalderon, 1993). Die mRNA besitzt eine Punktmutation im 3. Exon. Diese liegt im Bereich, der die katalytische Untereinheit codiert (Lane und Kalderon, 1993; Zhao et al., 2013). Sie ist ein Tetramer und besteht aus zwei katalytischen und zwei regulatorischen Untereinheiten (Melendez et al., 1995; Bettencourt da Cruz et al., 2008). Die regulatorischen Untereinheiten kontrollieren die Aktivität der katalytischen Untereinheiten, indem sie cAMP binden können. Ist ein bestimmter cAMP-Spiegel vorhanden, so dissoziiert das Tetramer in ein Dimer aus zwei regulatorischen Untereinheiten und die katalytischen Untereinheiten werden als Monomere freigesetzt. Diese können nun ihre Substrate an Serin-/Threoningruppen phosphorylieren (Shemarova, 2009).

Wie aus Abb. 28 A zu entnehmen ist, erfolgt die Auswahl der beiden Landmarken bei den hemizygoten *dnc¹*-Männchen zufällig, da der Median bei 5,5 liegt. Der Stichprobenumfang unterscheidet sich damit nicht signifikant vom Zufallsniveau. Betrachtet man die Anzahl der Anläufe des wildtypischen Stammes CS, so ist eine eindeutige Präferenz der Tiere für die länger sichtbare Landmarke zu sehen, der Median liegt bei 8. Die zurückgelegten Strecken der hemizygoten *dnc¹*-Mutanten unterscheiden sich mit dem Median $m=22,07$ cm nicht signifikant von den zurückgelegten Strecken des wildtypischen Stammes CS mit $m=22,43$ cm.

In einem nächsten Schritt wurden Fliegen mit dem heterozygoten Allel $Pka-C1^{H2}$ im Memotaxis-Paradigma untersucht. Homozygote Tiere des Stammes $Pka-C1^{H2}$ sind letal, so dass der Stamm das Balancerchromosom mit dem Marker CyO trägt. Betroffene Tiere zeigen eine nicht-wildtypische Flügelform, so dass der Balancer leicht erkannt werden kann. Er sorgt dafür, dass die Mutation erhalten bleibt, da während der Tetrade kein Crossing-over stattfinden kann. Um heterozygote Träger des Allels $Pka-C1^{H2}$ ohne Balancer zu erhalten, wurden jungfräuliche Weibchen mit wildtypischen CS-Männchen verpaart. Aus der F1-Generation wurden nur Tiere ausgewählt, die eine wildtypische Flügelform besaßen. Betrachtet man die Anzahl der Anläufe zu den Landmarken, so sieht man, dass sie sich nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden. Jedoch ist auch zu erkennen, dass zwei Ausreißer vorhanden sind, die die statistische Analyse beeinflussen. Tendenziell wird häufiger die Landmarke mit Vorlauf gewählt, der Median liegt bei 8 (vgl. Abb. 28 A). Die zurückgelegten Strecken unterscheiden sich nicht signifikant von den wildtypischen Strecken, der Median liegt bei 21,49 cm (vgl. Abb. 28 B).

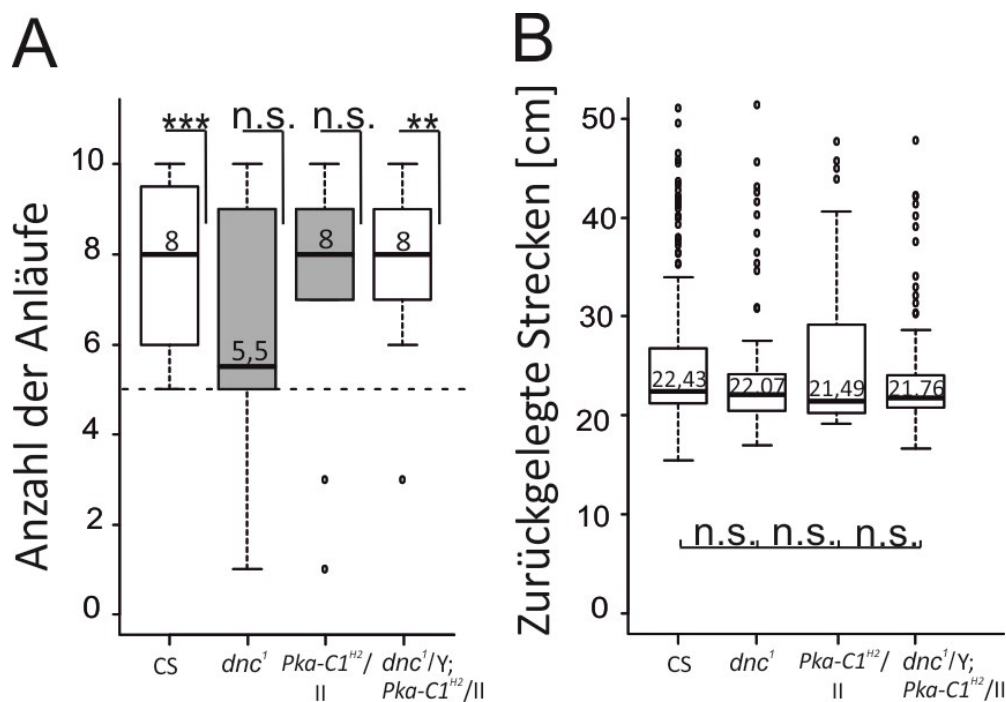


Abb. 28. Memotaxis-Verhalten des mutanten Stammes dnc^1 , des Stammes $Pka-C1^{H2}$ sowie die Kreuzung von homozygoten dnc^1 -Weibchen mit heterozygoten Männchen des Stammes $Pka-C1^{H2}$. A) Während die Daten des wildtypischen Stammes CS ($n=20$) hoch signifikant vom Zufallsniveau abweichen, so weicht der getestete Stichprobenumfang der Tiere des hemizygoten Stammes dnc^1 ($n=10$) nicht signifikant vom Zufallsniveau ab. Die Anläufe der Männchen der heterozygoten $Pka-C1^{H2}$ -Mutanten ($n=10$) und die doppelt heterozygoten Männchen $dnc^1/Y; Pka-C1^{H2}/II$ ($n=10$) unterscheiden sich hoch signifikant vom Zufallsniveau. B) Zwischen allen getesteten Gruppen sind keine statistischen Unterschiede nachweisbar. Die statistische Auswertung wird unter 8.1.7 im Anhang dargestellt. Konventionen wie für Abb. 17.

Um den cAMP-Signalweg stärker zu beeinträchtigen, wurden homozygote *dnc¹*-Weibchen mit heterozygoten *Pka-C1^{H2}*-Männchen gekreuzt. Die doppelt heterozygoten Männchen der F1-Generation wurden auf ihr memotaktisches Verhalten hin untersucht. In Abb. 28 A ist zu sehen, dass die zuerst sichtbare Landmarke ausgewählt wurde, der Median liegt bei 8. Die zurückgelegten Strecken, deren Median bei 21,76 cm liegt, unterscheiden sich nicht signifikant von den wildtypischen Strecken. In einem nächsten Versuch wurden homozygote *dnc¹*-Weibchen getestet.

Wie aus Abb. 29 A zu entnehmen ist, liegt der Median der Landmarkenanläufe bei 8,5 und daher auf wildtypischem Niveau. Die zurückgelegten Strecken unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (vgl. Abb. 29 B). Der Median der zurückgelegten Strecken von den homozygoten Weibchen des Stammes *dnc¹* beträgt 22,01 cm, während der Median der wildtypischen Weibchen 22,57 cm beträgt.

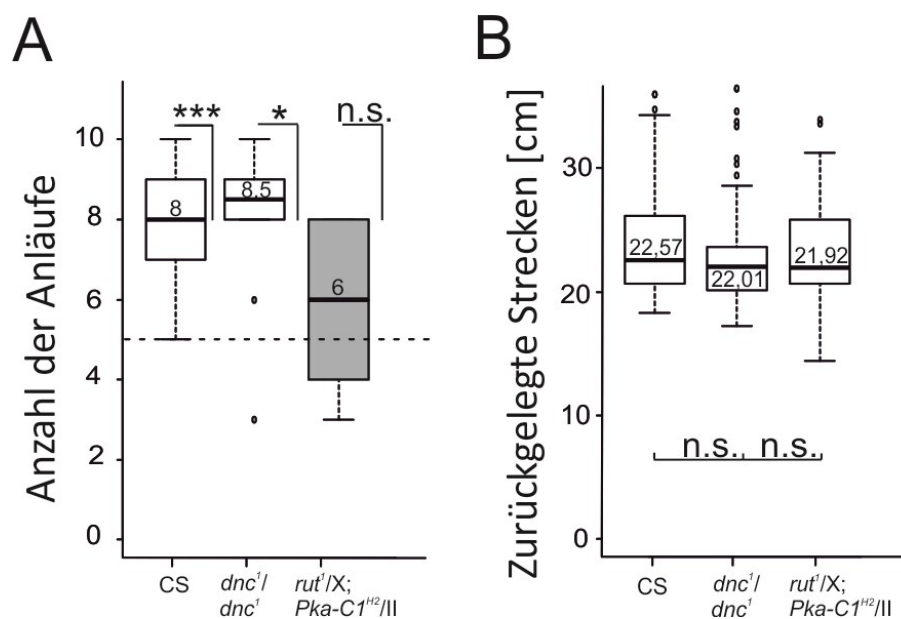


Abb. 29. Memotaxis-Verhalten homozygoter *dnc¹*(PDE4)-Weibchen und doppelt heterozygoter *rut¹/X;Pka-C1^{H2}/II*-Weibchen. A) Während sich die Daten wildtypischer Weibchen des Stammes CS höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden, so unterscheiden sich auch die Daten homozygoter *dnc¹*-Weibchen hoch signifikant vom Zufallsniveau. Doppelt heterozygote *rut¹/X; Pka-C1^{H2}* Weibchen hingegen unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken unterscheiden sich in allen Fällen nicht signifikant voneinander. Alle Genotypen wurden mit n=10 getestet. Die statistische Auswertung wird unter 8.1.8 im Anhang dargestellt. Konventionen wie für Abb. 17.

Für eine weitere Analyse des cAMP-Signalwegs wurden heterozygote *Pka-C1^{H2}/CyO* Weibchen mit hemizygoten *rut¹*-Männchen gekreuzt, da Mutanten des Stammes *rut* alleine keine gezielte Orientierung zur Landmarke zeigen (Neuser et al., 2008). Die AC besitzt eine Bindungsstelle für aktiviertes Calmodulin und der G_α-Untereinheit. Sie gilt deshalb als Koinzidenzdetektor (Kandel, 2012). Bisher sind 36 Allele von *rut* bekannt. *rut¹* ist ein loss-of-

function Allel (Zhong und Wu, 2004). Die Punktmutation wurde durch Ethylmethansulfonat ausgelöst (Feany, 1990; Levin et al., 1992).

Die Kombination der beiden heterozygoten Allele soll gewährleisten, dass die Funktion des cAMP-Signalweges eine höhere Beeinträchtigung besitzt. Die weiblichen Träger der doppelt heterozygoten Allele *rut*¹ und *Pka-C1*^{H2} besitzen eine eingeschränkte Funktion der AC und der PKA. Daher sollte der resultierende modifizierte cAMP-Spiegel die Aktivität der PKA einschränken. Da die PKA in diesen Tieren eine reduzierte Aktivität besitzt, sollte der Defekt im cAMP-Signalweg größer als bei den zuvor analysierten heterozygoten *Pka-C1*^{H2}-Männchen sein. Die doppelt heterozygoten Weibchen zeigen, dass die Auswahl der Landmarken sich nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden, der Median beträgt 6 (vgl. Abb. 29 A). Bezüglich der Strecken unterscheidet sich der Median mit 21,92 cm nicht signifikant vom wildtypischen Median mit 22,57 cm.

Da die doppelt heterozygoten Tiere mit dem Genotyp *rut*¹/X; *Pka-C1*^{H2}/II zeigten, dass sie nicht in der Lage waren, die Landmarke mit Vorlauf zu wählen, stellte sich die Frage, ob der Effekt aus der Beeinträchtigung der Funktion der AC ausgelöst wurde. Daher wurde in einer nächsten Versuchsreihe die Funktion der AC mit Hilfe der RNA-Interferenz herunter reguliert.

3.4.1 *Knockdown von rut in den vier Subtypen der Ringneuronen*

Um die Rolle des Gens *rut* genauer zu betrachten, wurden RNAi-Experimente gegen *rut* durchgeführt. Für diese *Knockdown* Versuche wurden spezifische Treiberlinien gewählt, die die unterschiedlichen Subtypen der Ringneuronen R1-R4 adressieren. Die Fliegen mit den gewünschten Genotypen wurden, wie bereits in Kap. 3.1 beschrieben, erzeugt. In der nachfolgenden Abbildung sind exemplarische Laufspuren von Fliegen dargestellt, in denen die Translation der mRNA des Gens *rut* in den R2-Neuronen mit Hilfe der Treiberlinie VT49921-GAL4 inhibiert wird, so dass keine funktionstüchtige AC exprimiert werden kann. Während Fliegen der heterozygoten Kontrollgruppen zeigen, dass sie die Landmarke mit zeitlichem Vorlauf in den meisten Fällen zielgerichtet anlaufen können (vgl. Abb. 30 A und B), zeigen Fliegen, in denen beide Allele ausgeprägt sind, dass sie häufig die Laufrichtung wechseln und zeitweise auf die zweite Landmarke zulaufen. Häufig ließ sich das in Form von zickzackförmigen Laufspuren beobachten (vgl. Abb. 30 C). Weiterhin zeigten manche Tiere, dass sie in

verschiedene Richtungen sprangen; dies ist an den unterbrochenen Laufspuren veranschaulicht.

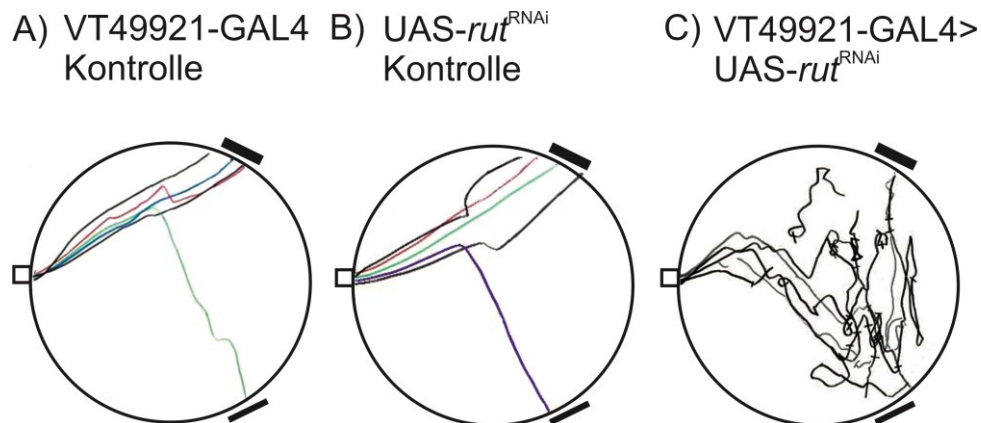


Abb. 30. Exemplarische Laufspuren von Fliegen mit der genetischen Konstellation VT49921-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi}. In A) sind fünf Laufspuren von Fliegen der Kontrollgruppe VT49921-GAL4 abgebildet. B) zeigt fünf Laufspuren von Fliegen, die heterozygote Träger des Allels UAS-*rut*^{RNAi} sind. In C) sind Laufspuren von Fliegen abgebildet, die sowohl Träger des heterozygoten Allels VT49921-GAL4 als auch des heterozygoten Allels UAS-*rut*^{RNAi} sind. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Auch wenn die mRNA von *rut* in den anderen Ringneuronen-Subtypen des Ellipsoidkörpers degradiert wird, zeigte sich bei den betroffenen Tieren, dass die Laufspuren weniger zielgerichtet erschienen als bei den Kontrollgruppen. Zwar gab es auch Fliegen, die zielgerichtet auf die Landmarken zulaufen konnten, jedoch zeigten andere wiederum eine stark beeinträchtigte Fähigkeit eine der Landmarken ohne Kursabweichung anzulaufen. Auch hier ist dieses Phänomen nicht unbekannt, da die Degradierung der mRNA mittels kleiner RNAi-Einheiten und der anschließende Abbau individuell erfolgen kann und die phänotypischen Ausprägungen unterschiedlich stark auftreten können (mündliche Mitteilung, B. Poeck). Die im nachfolgenden dargestellten statistischen Analysen zeigen, dass die Strecken der Laufspuren länger ausfallen als die der Kontrollgruppen.

Um die AC in den R1-Neuronen herunterzuregulieren, wurde der Treiber 198y-GAL4 verwendet. Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} wurden im Memotaxis-Paradigma getestet und statistisch analysiert (vgl. Abb. 31). Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind alle Mediane auf S. 63 in Tab. 3 dargestellt. Als geeignete Kontrollen wurde der Effektorstamm UAS-*rut*^{RNAi} mit wildtypischen Männchen des Stammes CS gekreuzt, die heterozygoten Tiere wurden parallel zu den Tieren mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} getestet. Als weitere Kontrolle wurden wildtypische Weibchen des Stammes CS mit Männchen des Stammes 198y-GAL4 gekreuzt, die heterozygoten Tiere aus der F1-Generation wurden ebenfalls getes-

tet. Mit den Treibern für die R2-, R3- und R4-Neuronen wurde genauso verfahren. Betrachtet man in Abb. 31 A die Anzahl der Anläufe zu den Landmarken, so unterscheiden sich beide Kontrollgruppen signifikant vom Zufallsniveau. Der Median der Landmarkenanläufe liegt bei $m=7,5$ für 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} und $m=7,5$ für die GAL4- bzw. $m=7$ für die UAS-Kontrolle (vgl. Tab. 3). Die zurückgelegten Strecken der Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} fallen signifikant und höchst signifikant länger aus als die zurückgelegten Strecken der beiden Kontrollgruppen. Der Median der Tiere mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} liegt bei $m=24,44$ cm.

Betrachtet man die Statistik der zurückgelegten Strecken mit der Treiberlinie VT49921-GAL4 (R2-Neuronen), so fällt der Median mit $m=30,66$ cm deutlich höher aus als die der beiden Kontrollen (vgl. Abb. 31). Die statistischen Unterschiede zu der GAL4-Kontrolle sind mit $m=21,61$ cm und zu der UAS-Kontrolle $m=22,77$ cm höchst signifikant. Die Tiere mit dem Genotyp VT49921-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} unterscheiden sich mit $m=4,5$ nicht signifikant vom Zufallsniveau. Beide Kontrollgruppen weichen mit $m=7,5$ und $m=7$ signifikant und höchst signifikant vom Zufallsniveau ab. Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die Funktion des Kurzzeitintegrators unterbrochen ist, wenn *rut* in R2-Neuronen herunterreguliert wird.

Wird *rut* im Muster von 189y-GAL4 herunterreguliert, so fallen die zurückgelegten Strecken der experimentellen Tiere mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} höchst signifikant länger aus als die Strecken der GAL4- und UAS-Kontrolle (vgl. Abb. 31 B). Für Fliegen mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} liegt der Median bei 25,72 cm, der Median der 189y-GAL4 (vgl. Tab. 3). Die Anzahl der Landmarkenanläufe unterscheidet sich bei Tieren mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} signifikant vom Zufallsniveau, der Median liegt bei $m=6,5$. Auch der Datensatz der UAS-Kontrolle unterscheidet sich mit $m=7$ signifikant vom Zufallsniveau. Der Datensatz der GAL4-Kontrolle unterscheidet sich mit $m=8$ höchst signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 31 A und Tab. 3).

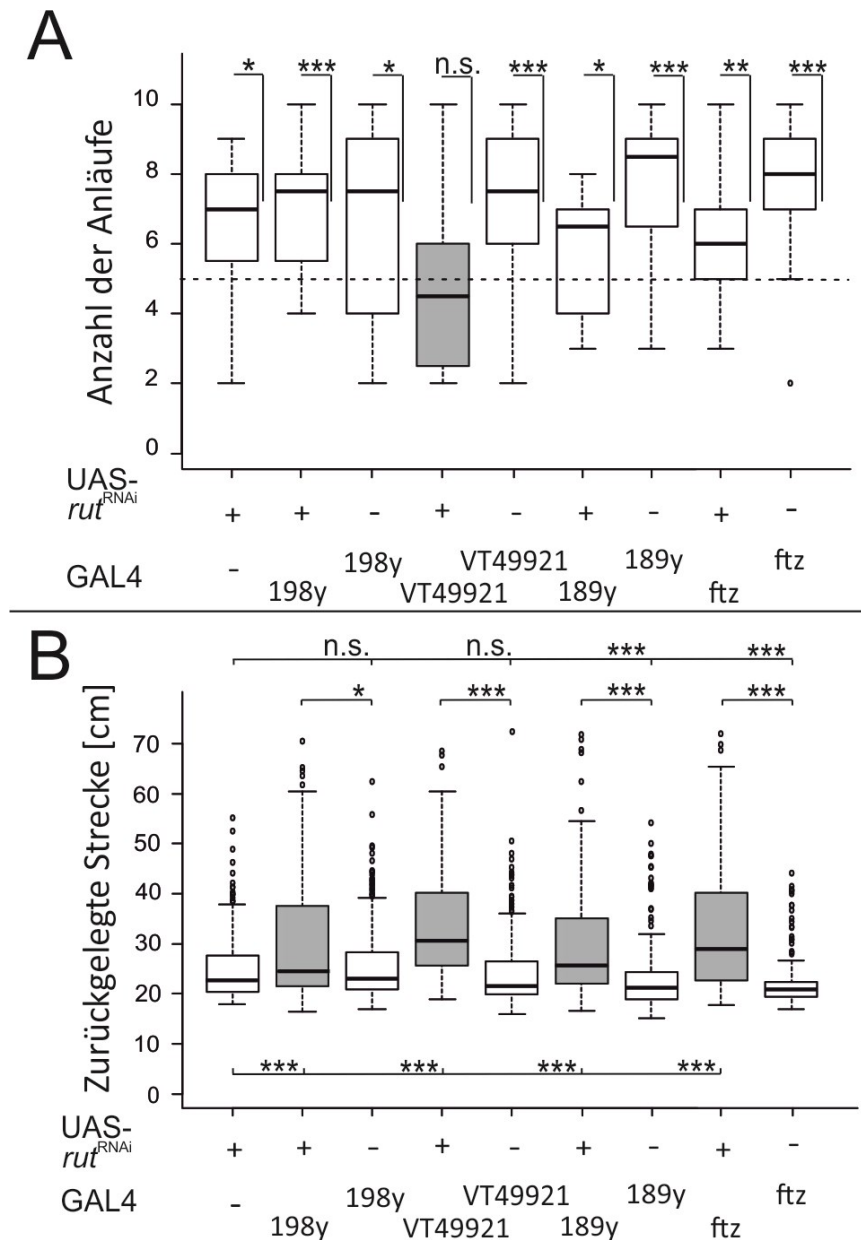


Abb. 31. Knockdown der mRNA von *rut* in Ringneuronen des Ellipsoidkörpers. Die Anzahl der Landmarkenanläufe der Kontrollgruppe UAS-*rut*^{RNAi} unterscheidet sich signifikant vom Zufallsniveau. Auch die Anzahl der Anläufe aller GAL4-Kontrollgruppen unterscheiden sich signifikant bis höchst signifikant vom Zufallsniveau. Der Median der Landmarkenanläufe der Tiere mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi}, dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} und *ftz*-(ng)-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} unterscheiden sich hoch bis höchst signifikant vom Zufallsniveau, die Gruppe mit dem Genotyp VT49921-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} hingegen unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken der Kontrollgruppe UAS-*rut*^{RNAi} fallen höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Gruppen mit den Genotypen 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi}, VT49921-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi}, 189y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} und *ftz*-(ng)-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi}. Auch die Strecken der GAL4-Kontrollgruppen fallen hoch bis höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Gruppen, in denen die mRNA in R1-, R2-, R3- oder R4-Neuronen degradiert wurde. Die Kontrollgruppe UAS-*rut*^{RNAi} unterscheidet sich bezüglich der zurückgelegten Strecken nicht signifikant von den Strecken der 198y-GAL4 und der VT49921-GAL4 Kontrollgruppe. Die zurückgelegten Strecken der 189y-GAL4 und der *ftz*-(ng)-GAL4 Kontrollgruppe fallen höchst signifikant kürzer aus als die der UAS-*rut*^{RNAi} Kontrollgruppe. (Alle Genotypen wurden mit n=20 getestet). Die Mediane sind in Tab. 3 dargestellt. Alle Statistiken befinden sich im Anhang unter 8.1.9. Konventionen wie für Abb. 17.

Im Anschluss wurde die mRNA des Gens *rut* im Muster von *ftz*-(ng)-GAL4 (R4-Neuronen) degradiert. Der Median der zurückgelegten Strecken beträgt m=28,89 cm. Die Daten unter-

scheiden sich damit höchst signifikant von den Daten der *ftz-(ng)*-GAL4 und der UAS-*rut*^{RNAi} Kontrolle. Der Median der zurückgelegten Strecke der *ftz-(ng)*-GAL4 Kontrolle liegt bei 20,84 cm, der Median der UAS-*rut*^{RNAi} Kontrolle bei m=22,77 cm (vgl. Abb. 31 B und Tab. 3). Betrachtet man die Anläufe zur Landmarke, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war, so sieht man, dass der Median mit m=6 sich hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, wenn die AC mit Hilfe der *ftz-(ng)*-GAL4 Treiberlinie herunterreguliert wird. Die Anläufe von Fliegen der heterozygoten *ftz-(ng)*-GAL4 Kontrolle besitzen einen Median von m=8, der Median der heterozygoten Kontrollgruppe UAS-*rut*^{RNAi} liegt bei m=7. Die getesteten Stichproben unterscheiden sich höchst signifikant und signifikant vom Zufallsniveau.

Zusammenfassend ist zu erkennen, dass alle Tiere, in denen die mRNA des Gens *rut* degradiert wurde, deutlich längere Wegstrecken bis zum Erreichen der Landmarke zurücklegen als die Kontrollen. Wird die Anzahl der Anläufe zu den Landmarken betrachtet, so fällt auf, dass die Auswahl der Landmarken nur bei den Fliegen mit der genetischen Konstellation VT49921-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} zufällig erfolgt. 198y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi}, 189y-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} und *ftz-(ng)*-GAL4>UAS-*rut*^{RNAi} unterscheiden sich hoch bis höchst signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 31 A).

Tab. 3. Tabellarische Darstellung der Mediane der Anläufe und der zurückgelegten Strecken des *Knockdowns* von *rut*. Die Degradierung der mRNA von *rut* erfolgte in Abhängigkeit der entsprechenden Treiberlinie in einem der vier Subtypen von Ringneuronen. Für den Ringneuronen-Subtyp R1 wurde die Treiberlinie 198y-GAL4 verwendet, für die R2-Neuronen VT49921-GAL4, für R3-Neuronen 189y-GAL4 und für die R4-Neuronen *ftz-(ng)*-GAL4.

Genotyp	A) Mediane Anzahl der Anläufe	B) Mediane der zurückgelegten Strecken [cm]
UAS- <i>rut</i> ^{RNAi}	7	22,77
198y-GAL4> UAS- <i>rut</i> ^{RNAi}	7,5	24,44
198y-GAL4	7,5	23,06
VT49921-GAL4> UAS- <i>rut</i> ^{RNAi}	4,5	30,66
VT49921-GAL4	7,5	21,61
189y-GAL4> UAS- <i>rut</i> ^{RNAi}	6,5	25,72
189y-GAL4	8,5	21,24
<i>ftz-(ng)</i> -GAL4> UAS- <i>rut</i> ^{RNAi}	6	28,89
<i>ftz-(ng)</i> -GAL4	8	20,84

In der nächsten Versuchsreihe wurde überprüft, ob der cGMP-Signalweg, wie im Kap. 1.3 erläutert, auch für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma notwendig ist. Zu-

nächst wurden die wildtypischen Stämme *for^R* und *for^S*, dann der mutante Stamm *ign^{58/1}* und anschließend die heterozygoten *dCREB*-Mutanten im Memotaxis-Paradigma analysiert.

3.4.2 Die Beteiligung der Proteinkinase G an der Etablierung eines Kurzzeitintegrators

In einem nächsten Schritt wurden die wildtypischen Stämme *for^R* und *for^S* im Memotaxis-Paradigma untersucht. Getestet wurden die homozygoten Allele *for^R* und *for^S*. Es wurde überprüft, ob die zeitliche Integration der Landmarke beeinträchtigt ist, und ob es Unterschiede im Verhalten der Fliegen zwischen den jeweiligen homozygoten Allelen gibt.

Anhand von Larven von *Drosophila melanogaster* konnte gezeigt werden, dass Larven mit dem Allel *for^R* bei der Futtersuche signifikant längere und gerade Strecken zurücklegen als Larven mit dem Allel *for^S*. *for^S*-Larven zeigen kurze, kreisförmige Spuren bei der Futtersuche (Sokolowski et al., 1997; Sokolowski und Riedl, 1999; Scheiner et al., 2004). Fliegen mit dem homozygoten Allel *for^S* können kein visuelles Arbeitsgedächtnis ausbilden, wohingegen Tiere mit dem homozygoten Allel *for^R* ein wildtypisches Arbeitsgedächtnis besitzen. In den R3-Neuronen wird die Aktivität der PKG benötigt, um ein visuelles Arbeitsgedächtnis zu etablieren (Kuntz et al., 2012; 2017). Zwei Gene, *dg1* und *dg2*, codieren bei *Drosophila melanogaster* für die cGMP-abhängige PKG (Kalderon und Rubin, 1989). Es gibt zwei natürlich vorkommende Allele des Gens *dg2*, welches auch als *foraging (for)* bezeichnet wird (Osborne et al. 1997). Das Gen *for* ist auf dem zweiten Chromosom an der Position 2L:3,620,074..3,658,953 positioniert (flybase). Das Allel *for^R* ist gegenüber dem Allel *for^S* dominant.

Die Tiere mit dem homozygoten Allel *for^R* und dem Median $m=24,35$ cm zeigen, dass sie hoch signifikant längere Strecken zurücklegen als die wildtypischen Tiere CS (vgl. Abb. 32 B). Bei den Anläufen zur Landmarke zeigt sich, dass sie sich nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden. Der Median liegt bei $m=7$ Anläufen zu der zuerst gezeigten Landmarke (vgl. Abb. 32 A). Der wildtypische Median liegt bei $m=8$. Die zurückgelegten Strecken der homozygoten Fliegen des Stammes *for^S* mit $m=23,76$ cm unterscheiden sich nicht signifikant von den Strecken des wildtypischen Stammes CS mit $m=22,43$ cm (vgl. Abb. 32 B). Der Stamm *for^S* zeigt auch, dass sich die Anzahl der Anläufe signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet (vgl. Abb. 32 A).

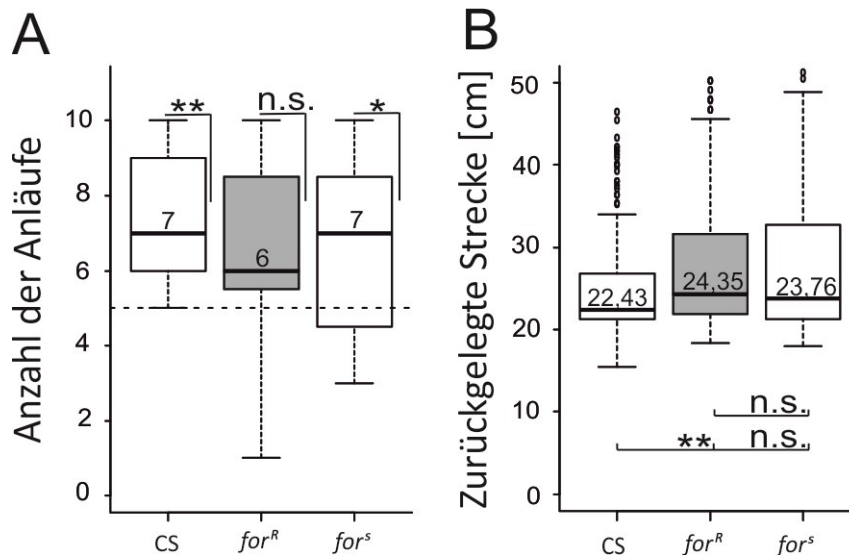


Abb. 32. Memotaxis-Verhalten der Fliegen mit den homozygoten Allelen for^R und for^S . A) Während sich die Daten des Wildtyps CS höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden, so unterscheiden sich die homozygoten for^R -Fliegen nicht vom Zufallsniveau. Die homozygoten for^S -Fliegen unterscheiden sich signifikant vom Zufallsniveau. B) Während sich die Laufspuren des Wildtypen CS hoch signifikant von den Laufspuren der homozygoten for^R -Fliegen unterscheiden, so gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen CS und den homozygoten Fliegen des Stammes for^S . Beide mutanten Stämme unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Alle Genotypen wurden mit $n=15$ getestet. Die statistische Auswertung ist im Kap. 8.1.10 im Anhang dargestellt. Konventionen wie für Abb. 17.

In Abb. 33 sind die Laufspuren von Fliegen der Stämme for^R und for^S exemplarisch dargestellt.

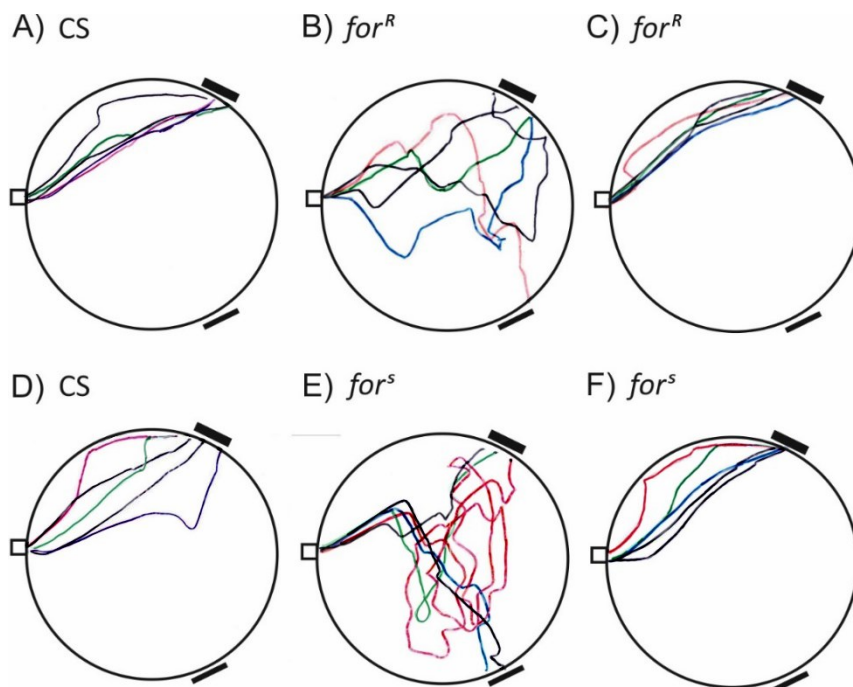


Abb. 33. Exemplarische Laufspuren der Stämme for^R und for^S . A) Fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS. B) und C) zeigen je fünf Laufspuren von Fliegen des Stammes for^R . D) Fünf wildtypische Laufspuren des Stammes CS. E) und F) zeigen je fünf Laufspuren von Fliegen des Stammes for^S . Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Während die Laufspuren des wildtypischen Stammes CS zeigen, dass die Fliegen zielgerichtet die Landmarke anliefen, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war, waren bei den Stämmen *for^R* und *for^S* zwei verschiedene Verhaltensweisen beobachtbar. Zum einen zeigten beide wildtypischen Stämme ein völlig orientierungsloses Verhalten und liefen die Landmarken nicht zielgerichtet (vgl. Abb. 33 B und E) und zum anderen gab es Fliegen, die sich ähnlich wie die wildtypischen Fliegen des Stammes CS verhielten und die Landmarke zielgerichtet anlaufen konnten (vgl. Abb. 33 C und F). Dies äußert sich an der relativ breiten Streuung innerhalb der Datensätze. Die Anzahl der Tiere mit wildtypischen Verhaltensweisen war beim Stamm *for^S* höher als beim Stamm *for^R*, so dass es mehr Tiere gab, die die länger sichtbare Landmarke anliefen.

3.4.3 Der Einfluss von *ign^{58/1}* und *crebB^{S162}* auf die visuelle Orientierung

In den nächsten Versuchsreihen werden nachgeschaltete (*downstream*) Komponenten des cGMP-Signalwegs im Memotaxis-Paradigma untersucht. Wie dem Kap. 1.3 zu entnehmen ist, aktiviert die PKG die RSKII, die wiederum dCREB phosphoryliert um das Detour-Gedächtnis zu etablieren (Kuntz et al., 2017). Deshalb wird die Funktionsweise des visuellen Kurzzeitintegrators von Fliegen des Stammes *ign^{58/1}* und dominant-negativen Weibchen mit dem Genotyp *CrebB^{S162}/X* analysiert. Die Cantonisierung wurde, wie bereits im Kap. 2.1 beschrieben, durchgeführt.

Wie aus Abb. 34 B zu entnehmen ist, zeigen die Mutanten des Stammes *ign^{58/1}*, dass die Fliegen im Vergleich zum wildtypischen Stamm höchst signifikant längere Wegstrecken zurücklegen. Der Median des getesteten Stichprobenumfangs liegt bei $m=26,4$ cm, der Median des wildtypischen Stammes liegt bei $m=22,43$ cm. Der Median der Anzahl der Anläufe liegt bei 5 und unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 34 A). Betrachtet man die Anzahl der Anläufe des wildtypischen Stammes, so sieht man, dass sich die Daten mit dem Median 8 hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden. Dieses Ergebnis zeigt, dass die memotaktische Orientierung bei den Mutanten des Stammes *ign^{58/1}* deutlich herabgesetzt ist und die Tiere aus diesem Grund eine längere Strecke zurücklegen.

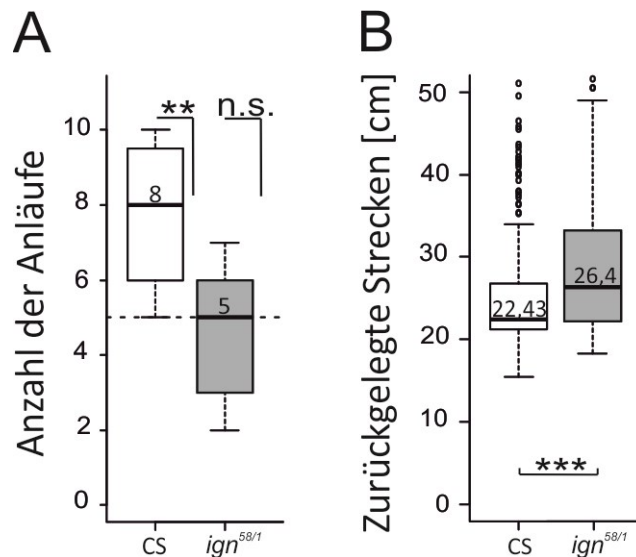


Abb. 34. Memotaxis-Verhalten des Stammes *ign^{58/1}*. A) Während sich die Anzahl der Anläufe des wildtypischen Stammes CS (n=20) hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, so unterscheiden sich die Anläufe der hemizygoten Männchen des Stammes *ign^{58/1}* (n= 10) nicht signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken unterscheiden sich höchst signifikant voneinander. Die statistische Auswertung ist unter 8.1.11 im Anhang dargestellt. Konventionen wie für Abb. 17.

An den Laufspuren war zu beobachten, dass die Mutanten des Stammes *ign^{58/1}* häufiger die Richtung wechselten und die andere Landmarke anliefen. Die Laufspuren waren weniger gerade in ihrem Verlauf, hier zeigte sich häufiger das „Zickzack“ Verhalten wie es auch bei den mutanten Stämmen *ebo⁶⁷⁸* und *ebo^{KS263}* sichtbar war (Flethe, Diplomarbeit 2013).

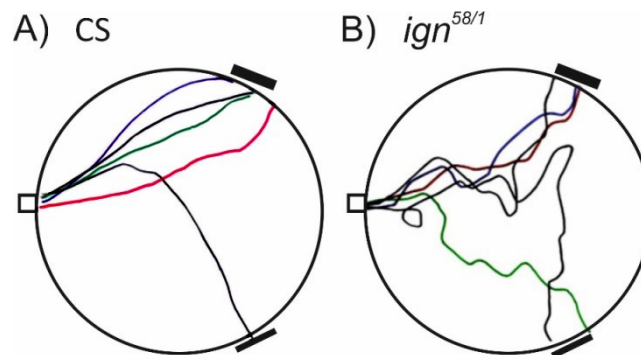


Abb. 35. Exemplarische Laufspuren von Fliegen des Stammes *ign^{58/1}*. A) Fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS. In B) sind fünf Laufspuren des Stammes *ign^{58/1}* dargestellt. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Da im vorherigen Versuch gezeigt werden konnte, dass die RSKII benötigt wird, damit die visuelle Information kurzzeitig in einem Gedächtnis hinterlegt wird, wird in einem weiteren Schritt ein mögliches Substrat der RSKII untersucht. Daher stellt dCREB auch für die Steuerung des memotaktischen Verhaltens einen interessanten Kandidaten dar.

CREB induziert die Spätphase der Langzeitpotenzierung bzw. die Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses durch Aktivierung der Gentranskription, um zusätzliche synaptische Ver-

bindungen zu etablieren oder die Anzahl von bestimmten Membrankanälen zu modifizieren. Dies wurde ausführlich am Modellorganismus *Aplysia* untersucht (Kandel, 2012). Damit ermöglicht CREB eine langanhaltende, strukturelle Modifikation und reguliert die Aktivität von Neuronen (Davis et al., 1996; Chen et al., 2012). Auch bei höheren Säugetieren ist der Transkriptionsfaktor CREB ebenfalls in die Etablierung eines Langzeitgedächtnisses involviert. So zeigten Mäuse, deren Expression der alpha- und delta-Isoformen von CREB unterbrochen wurde, dass sie kein Angstgedächtnis ausbilden konnten. Im Morris-Water-Maze zeigten die Tiere Defizite bezüglich ihres Langzeitgedächtnisses, während das Kurzzeitgedächtnis nach 30 und 60 Minuten jedoch nicht beeinträchtigt war (Bourtchuladze et al., 1994). Auch bei *Drosophila melanogaster* konnte nachgewiesen werden, dass der Transkriptionsfaktor dCREB (*Drosophila* CREB) für die Etablierung eines Langzeitgedächtnisses benötigt wird und die Steuerung der Gentranskription übernimmt (Yin et al., 1995). Darüber hinaus zeigen heterozygote Träger des Allels *CrebB*^{S162} eine Einschränkung bezüglich des visuellen Arbeitsgedächtnisses im Detour-Paradigma (Kuntz et al., 2017). Da sich der *Knockdown* von dCREB mit Hilfe von RNAi in den R3-Neuronen nicht negativ auf das visuelle Arbeitsgedächtnis auswirkt (Kuntz et al., 2017) und hemizygoten *CrebB*^{S162} letal sind, wurden heterozygote Weibchen, die den Balancer FM6 besitzen, mit Männchen des wildtypischen Stammes CS gekreuzt. Die Weibchen mit dem dominant-negativen Genotyp *CrebB*^{S162}/X aus der F1-Generation wurden im Memotaxis-Paradigma untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Median der wildtypischen Weibchen bezüglich der Anzahl der Anläufe bei 8 liegt, der Median der dominant-negativen heterozygoten *CrebB*^{S162}/X bei 7,5. Dies entspricht dem wildtypischen Niveau (vgl. Abb. 36 A). Die zurückgelegten Strecken mit den Medianen $m=22,75$ cm und $m=22,05$ cm unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (vgl. Abb. 36 B). Somit liegt kein Beleg vor, dass dCREB ebenfalls ein *downstream*-Target der RSKII ist und die Regulierung von Kompetenzfaktoren, wie es beim Detour-Gedächtnis der Fall ist, übernimmt. Die Reduzierung des Genprodukts hat anscheinend, anders als im Detour-Paradigma, keinen Effekt auf das memotaktische Verhalten.

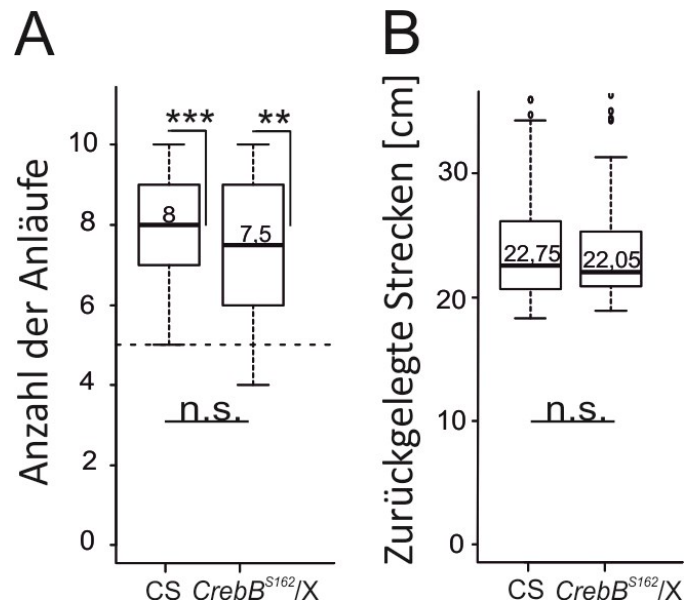


Abb. 36. Memotaxis-Verhalten der dominant-negativ heterozygoten Tiere *CrebB^{S162}/IX*. A) Die Anläufe der Weibchen des Wildtyps CS (n=10) und die der heterozygoten Weibchen des Stammes *CrebB^{S162}/IX* (n= 10) unterscheiden sich hoch signifikant vom Zufallsniveau. B) Die zurückgelegten Strecken unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die statistische Auswertung ist unter 8.1.11 im Anhang einsehbar. Konventionen wie für Abb. 17.

Da die Mutanten des Stammes *ign^{58/1}* zeigen, dass die Funktionsweise des Kurzzeintegrators sich höchst signifikant von der Funktionsweise wildtypischer Fliegen unterscheidet (vgl. Abb. 34), wird in einem nächsten Schritt die Funktion der wildtypischen RSKII auf einen der vier Subtypen der Ringneuronen beschränkt. Für die im Folgenden durchgeführten Rettungsversuche wurde eine Rekombinante des mutanten Allels *ign^{58/1}* und des Transgens *UAS-ign²⁻¹* verwendet (Rintelen et al., 2001; Kuntz et al., 2017).

Da Fliegen des Stammes *UAS-ign²⁻¹ign^{58/1}* im Verlauf der Zeit ihren Verhaltensphänotyp verlieren können, wurde der Stamm vor der Versuchsdurchführung 10mal cantonisiert. Das Chromosom mit dem Allel *ign^{58/1}* soll dabei erhalten bleiben (vgl. Kap. 2.1; mündliche Mitteilung, Kuntz). Im Anschluss der Cantonisierung wird die wildtypische cDNA von *ign²⁻¹* in einem *ign^{58/1}*-mutanten Hintergrund in einem der vier Subtypen der Ringneuronen exprimiert. Um zu überprüfen, ob die F1-Generationen der Kreuzungen des Stammes *UAS-ign²⁻¹ign^{58/1}* mit den jeweiligen Treiberlinien ihren entsprechenden Verhaltensphänotyp besitzen, wurden die Fliegen zunächst im Detour-Paradigma bezüglich ihres visuellen Arbeitsgedächtnisses untersucht (vgl. Abb. 37).

Wie zu erwarten, konnte das visuelle Arbeitsgedächtnis auf das wildtypische Niveau angehoben werden, wenn in einem *ign^{58/1}*-mutanten Hintergrund die wildtypische cDNA von *ign²⁻¹* in R3-Neuronen exprimiert wird. Während der Median der wildtypischen Fliegen bei

m=80% liegt, und sich höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, liegt der Median von Fliegen, in denen die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in R3-Neuronen exprimiert wird, bei m=75%.

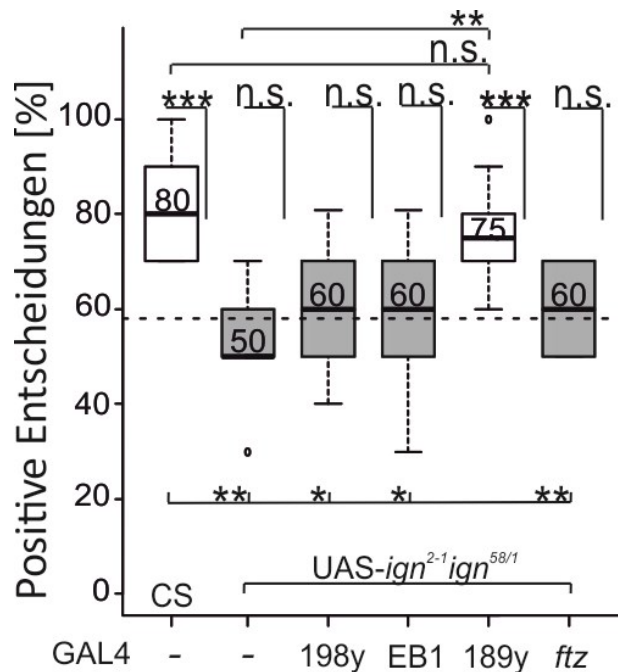


Abb. 37. Expression wildtypischer cDNA von *ign*²⁻¹ in den R3-Neuronen in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund rettet das visuelle Arbeitsgedächtnis. A) Die Expression der cDNA von *ign*²⁻¹ in den R1-Neuronen (198y-GAL4), R2-Neuronen (EB1-GAL4) und den R4-Neuronen (*ftz-(ng)*-GAL4) bewirkt hingegen keine Verbesserung des mutanten Phänotyps. Wird die wildtypische cDNA in den R3-Neuronen exprimiert, so befindet sich die Leistung des Arbeitsgedächtnisses auf wildtypischen Niveau (alle Gruppen n=10). Die statistische Auswertung ist unter 8.1.12 im Anhang dargestellt. Konventionen wie für Abb. 17.

Auch diese Gruppe unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. Der statistische Vergleich der beiden Stichprobenumfänge zeigt, dass die Unterschiede nicht signifikant sind. Betrachtet man den statistischen Vergleich zwischen der Gruppe von Fliegen, die das wildtypische Gen *ign*²⁻¹ in R3-Neuronen mit Hilfe der 189y-GAL4 Sequenz exprimieren mit den Fliegen der Kontrollgruppe, die die 189y-GAL4 Sequenz nicht besitzen, so sieht man hingegen einen hoch signifikanten Unterschied. Die Fliegen, die die Mutation *ign*^{58/1} und die UAS-*ign*²⁻¹ Sequenz besitzen, unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau, der Median liegt bei m=50%. Daraus lässt sich schließen, dass diese Tiere kein visuelles Arbeitsgedächtnis besitzen. Die Expression in R1-Neuronen (198y-GAL4), R2-Neuronen (EB1-GAL4) und R4-Neuronen (*ftz-(ng)*-GAL4) verursacht hingegen keine Verbesserung des visuellen Arbeitsgedächtnisses im Rahmen des Detour-Paradigmas. Die Mediane aller drei Kontrollgruppen liegt bei m=60% und unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau.

Um zu überprüfen, ob die Expression der wildtypischen cDNA von *ign*²⁻¹ in einem der vier Subtypen der Ringneuronen in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund auch das wildtypische Verhalten im Rahmen des Memotaxis-Paradigmas wiederherstellen kann, wurden die Gruppen auf die Funktionsweise des visuellen Kurzzeitintegrators hin untersucht. In der folgenden Abbildung sind Laufspuren von Fliegen dargestellt, die die cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund in R1-Neuronen exprimieren. Die Laufspuren zeigen, dass die Fliegen häufig die Landmarken zielgerichtet anlaufen können. Sie wählen dabei häufiger die Landmarke aus, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war (vgl. Abb. 38 D).

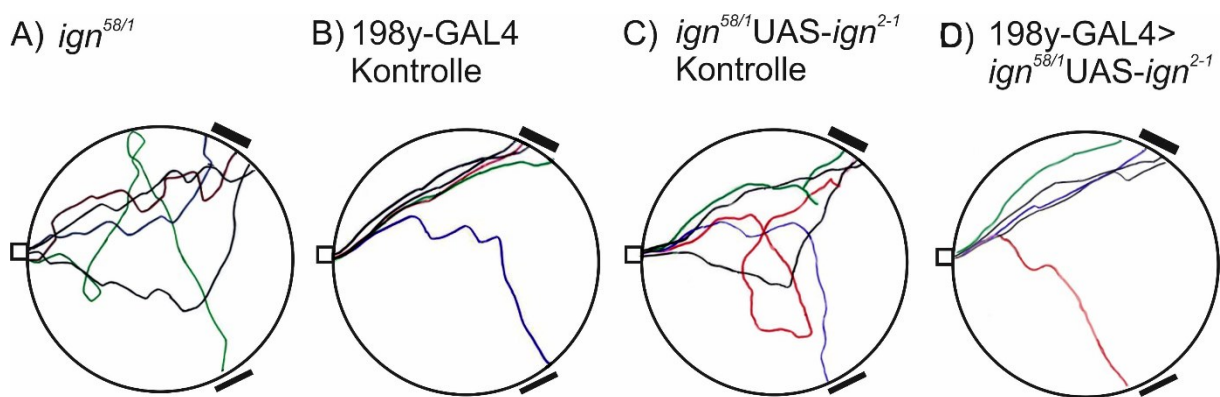


Abb. 38. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, die die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund in R1-Neuronen exprimieren. In A) sind fünf Laufspuren von Fliegen des Stammes *ign*^{58/1} veranschaulicht. In B) sieht man fünf Laufspuren von Fliegen, die heterozygot bezüglich des 198y-GAL4 Allels waren, während in C) fünf Laufspuren von Fliegen zu sehen sind, die sowohl die Mutation *ign*^{58/1} besaßen, als auch heterozygot in Bezug der UAS-*ign*²⁻¹ Sequenz waren. D) zeigt fünf Laufspuren von Fliegen, die in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund die wildtypische cDNA *ign*²⁻¹ im Muster der 198y-GAL4 Treiberlinie exprimieren. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Die Laufspuren von Fliegen des Stammes *ign*^{58/1} hingegen zeigen, dass die Laufspuren weniger zielgerichtet erscheinen und die Fliegen häufiger die Richtung wechselten. Dies ist auch an den zickzack-förmigen Laufspuren zu erkennen (vgl. Abb. 38 A). Dadurch erscheinen die Strecken der Laufspuren länger als bei Fliegen der Kontrollgruppe, die heterozygot bezüglich des Allels 198y-GAL4 waren (vgl. Abb. 38 B) und der Gruppe, die die mRNA des Gens *ign*²⁻¹ in R1-Neuronen mit Hilfe des 198y-GAL4 Kontruktes translatieren konnten, während in den anderen Bereichen keine funktionelle RSKII zur Verfügung stand (vgl. Abb. 38 D). Betrachtet man die Laufspuren von Fliegen, die die Mutation *ign*^{58/1} und die UAS-*ign*²⁻¹ Sequenz ohne GAL4-Treiber besaßen, so fallen die Laufspuren auch länger aus, da die Fliegen weniger zielgerichtet auf die Landmarken zulaufen (vgl. Abb. 38 C). Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, dass es auch in dieser Gruppe Fliegen mit Laufspuren gab, die wildtypisch erschienen, zugleich aber auch Fliegen, die weniger zielgerichtet die Landmarken anliefen.

Wird die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in R2-, R3- oder R4-Neuronen exprimiert, während der Hintergrund die Mutation *ign*^{58/1} besitzt, so kann auch in diesen Fliegen ein zielgerichtetes Verhalten beobachtet werden, welches statistisch ermittelt werden kann. Im Folgenden wird die statistische Analyse der Memotaxis-Versuche dargestellt.

Wird die cDNA von *ign*²⁻¹ in den R1-Neuronen (198y-GAL4) exprimiert, so sind die Tiere wieder in der Lage, die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf von zwei Sekunden auszuwählen. Die Landmarkenanläufe unterscheiden sich höchst signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 39 A). Der Median der Landmarkenanläufe liegt bei 7 (vgl. Tab. 4., 74). Dies entspricht dem Niveau der 198y-GAL4 Kontrolle. Die Fliegen mit diesem Genotyp unterscheiden sich mit dem Median von 7,5 signifikant vom Zufallsniveau. Die Strecken der Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} unterscheiden sich mit dem Median m=22,75 cm nicht signifikant von dem Median m=23,06 cm der 198y-GAL4 Kontrolle. Der Median der Fliegen mit dem Genotyp UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} liegt bei 25,9 cm und ist höchst signifikant verschieden von den Strecken der Tiere mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1}.

Wird die cDNA von *ign*²⁻¹ in den R2-Neuronen (EB1-GAL4) exprimiert, so ergibt sich, dass der Median der Anläufe zur länger sichtbaren Landmarke sich mit m=8 höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet (vgl. Abb. 39 A). Der Median der EB1-GAL4 Kontrolle liegt bei 8. Auch hier bewegen sich die Tiere auf dem wildtypischen Niveau, wenn die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund exprimiert wird. Betrachtet man die zurückgelegten Strecken, so fallen die Strecken der Fliegen mit der genetischen Konstellation EB1-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} mit dem Median m=21,15 cm höchst signifikant kürzer aus im Vergleich zu den Strecken der Kontrollgruppe UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} mit dem Median 25,9 cm (vgl. Abb. 39 B). Die Strecken der EB1-GAL4 Kontrollgruppe mit dem Median m=20,13 cm unterscheiden sich nicht signifikant von den Strecken der Fliegen mit dem Genotyp EB1-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1}. Die Strecken der UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} Fliegen ist höchst signifikant länger als die Strecken der Fliegen der EB1-GAL4 Kontrollgruppe.

Wird die cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund in den R3-Neuronen exprimiert, so unterscheidet sich die Anzahl der Anläufe zur länger sichtbaren Landmarke höchst signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 39 A). Der Median liegt bei 7. Dies entspricht auch den Anläufen der 189y-GAL4 Kontrollgruppe, der Median liegt hier bei 8,5. Die Strecken der Fliegen mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} besitzen den Median m=22,56 cm.

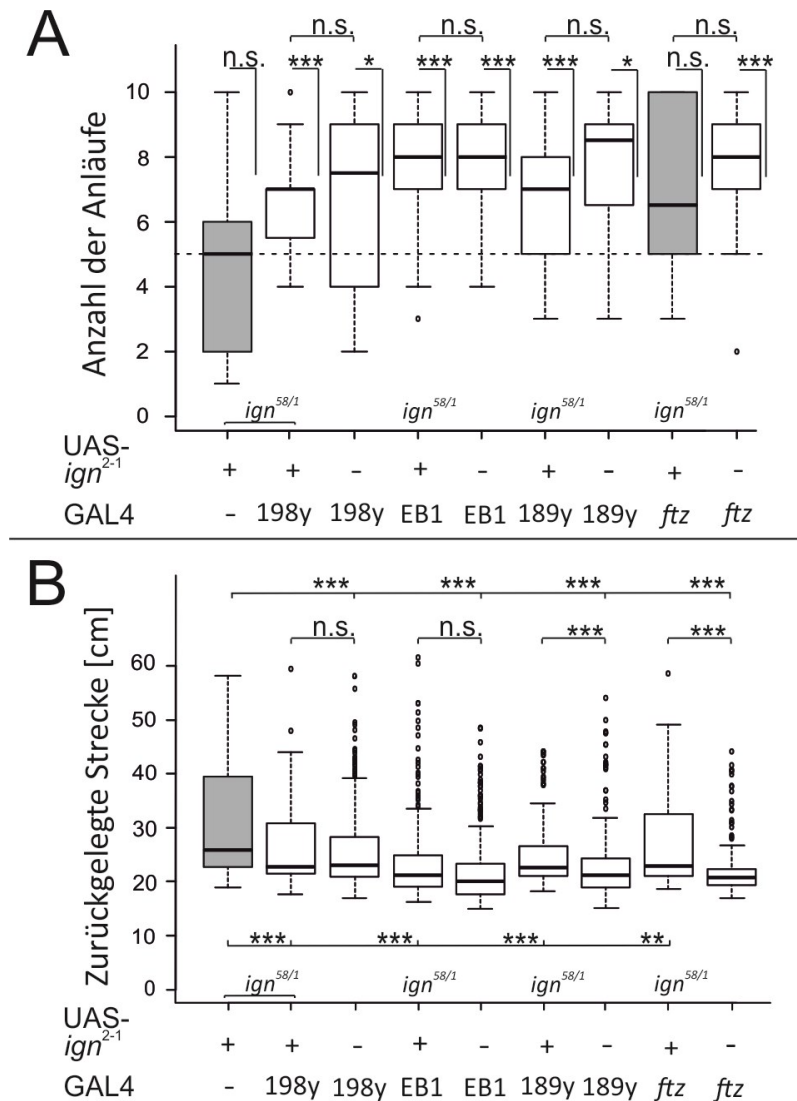


Abb. 39. Memotaxis-Verhalten nach Expression der wildtypischen cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund. A) Die Landmarkenanläufe der Kontrollgruppe UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} (n=10) unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. Die Landmarkenanläufe der Tiere des Genotyps 198y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} (n=20) befinden sich auf dem Niveau der entsprechenden Kontrolle 198y-GAL4 (n=20) und unterscheiden sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. Die Landmarkenanläufe unterscheiden sich bei Fliegen mit dem Genotyp EB1-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} (n=20) höchst signifikant vom Zufallsniveau. Dies trifft auch auf die Anläufe der Kontrollgruppe EB1-GAL4 (n=20) zu. Wird die wildtypische cDNA *ign*²⁻¹ in Fliegen mit der genetischen Konstellation 189y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} (n=10) in R3-Neuronen exprimiert, so unterscheiden sich die Landmarkenanläufe höchst signifikant vom Zufallsniveau, die Tiere der 189y-GAL4 Kontrollgruppe (n=20) unterscheiden sich signifikant vom Zufallsniveau. Die Landmarkenanläufe der Gruppe *ftz*-(ng)-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} (n=10) unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau, die Kontrollgruppe *ftz*-(ng)-GAL4 (n=20) hingegen unterscheiden sich höchst signifikant von diesem. B) Die zurückgelegten Strecken aller Genotypen fallen höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Kontrollgruppe UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1}. Wird die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in R1-Neuronen exprimiert, so unterscheidet sich die zurückgelegte Strecke der getesteten Stichprobe nicht signifikant von den Strecken der 198y-GAL4 Kontrollgruppe. Auch wenn die wildtypische cDNA in R2-Neuronen exprimiert wird, unterscheidet sich die getestete Gruppe nicht signifikant von der EB1-GAL4 Kontrollgruppe. Die Strecken der 189y-GAL4 und *ftz*-(ng)-GAL4 Kontrollgruppe sind jedoch signifikant kürzer als die Strecken der Gruppen mit den Genotypen 189y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} und *ftz*-(ng)-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1}. Die Mediane werden in Tab. 4 auf S. 74 dargestellt. Die statistische Auswertung ist unter 8.1.13 im Anhang einsehbar. Konventionen wie für Abb. 17.

Der Unterschied zu den Strecken der UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} Kontrollgruppe ist nicht signifikant, der Median liegt bei m=25,9 cm. Die Strecken der 189y-GAL4 Kontrollgruppe mit dem Medi-

an $m=21,24$ cm fällt jedoch höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Fliegen, in denen die wildtypische cDNA von ign^{2-1} in R3-Neuronen exprimiert wird (vgl. Abb. 39 B).

Erfolgt die Expression in den R4-Neuronen ($ftz-(ng)$ -GAL4>UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$), so gibt es bezüglich der Anläufe zur Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf von zwei Sekunden keinen signifikanten Unterschied zum Zufallsniveau. Der Median des getesteten Stichprobenumfangs liegt bei $m=6,5$ (vgl. Abb. 39 A). Die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp $ftz-(ng)$ -GAL4>UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$ fallen höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Kontrollgruppe UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$, die Mediane liegen bei $m=22,87$ cm und $m=25,9$ cm. Der statistische Vergleich der Strecken von den Tieren, in denen die wildtypische cDNA von ign^{2-1} unter dem Einfluss des $ftz-(ng)$ -GAL4 Treibers exprimiert wird, zu den Strecken der Tiere die ausschließlich das $ftz-(ng)$ -GAL4 Konstrukt besitzen, ergibt, dass die Strecken der $ftz-(ng)$ -GAL4 Kontrollgruppe höchst signifikant kürzer ausfallen.

Tab. 4. Tabellarische Darstellung der Mediane der Anläufe und der zurückgelegten Strecken nach Expression von ign^{2-1} in einem $ign^{58/1}$ -mutanten Hintergrund. Die Expression der wildtypischen cDNA von ign^{2-1} in einem $ign^{58/1}$ -mutanten Hintergrund erfolgte in Abhängigkeit der entsprechenden Treiberlinie in einem der vier Subtypen von Ringneuronen. Für den Ringneuronen-Subtyp R1 wurde die Treiberlinie 198y-GAL4 verwendet, für die Expression in R2-Neuronen EB1-GAL4, in R3-Neuronen 189y-GAL4 und für die Expression in R4-Neuronen $ftz-(ng)$ -GAL4.

Genotyp	A) Mediane Anzahl der Anläufe	B) Mediane der zurückgelegten Strecken [cm]
UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$	5	25,9
198y-GAL4> UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$	7	22,75
198y-GAL4	7,5	23,06
EB1-GAL4> UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$	8	21,15
EB1-GAL4	8	20,13
189y-GAL4> UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$	7	22,56
189y-GAL4	8,5	21,24
$ftz-(ng)$ -GAL4> UAS- $ign^{2-1};ign^{58/1}$	6,5	22,87
$ftz-(ng)$ -GAL4	8	20,84

Zusammenfassend lässt sich erkennen, dass sich die Landmarkenanläufe auf die anfänglich länger gezeigte Landmarke höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden, wenn die cDNA in den R1-, R2- oder R3-Neuronen exprimiert wird. Anders verhält es sich, wenn die cDNA in R4-Neuronen exprimiert wird. Die Anläufe unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. Betrachtet man jedoch den statistischen Vergleich zu der $ftz-(ng)$ -GAL4 Kontrolle, so unterscheiden sich die Gruppen nicht signifikant voneinander. Dies entspricht auch

den Ergebnissen der statistischen Analysen zwischen 198y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} und der 198y-GAL4 Kontrolle, EB1-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} und der EB1-GAL4 Kontrolle, sowie 189y-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} und der 189y-GAL4 Kontrolle (vgl. Abb. 39). Daher kann davon ausgegangen werden, dass tendenziell auch das Verhalten der Gruppe mit dem Genotyp *ftz-(ng)*-GAL4>UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1} gerettet werden kann.

Wird die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in einem der vier Subtypen der Ringneuronen exprimiert, so fallen die Strecken in allen vier Fällen deutlich kürzer aus als die Strecken der Kontrolle UAS-*ign*²⁻¹*ign*^{58/1}. Dies lässt sich auch an den entsprechenden Medianen in Tab. 4 erkennen. Auch hier zeigt sich eine deutlich bessere Leistung bezüglich der zeitlichen Integration der Landmarke, wenn in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in einem der vier Subtypen der Ringneuronen exprimiert wird.

3.5 Die Beteiligung der Nitritoxid-Synthase an der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma

Wie im Kapitel 1.3 erwähnt, spielt NOS für die Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses eine entscheidende Rolle. Daher soll in der vorliegenden Studie überprüft werden, ob NOS auch die Funktion des Kurzzeitintegrators regulieren kann.

In dem folgenden Versuch wird der *Knockdown* von NOS mit Hilfe von RNAi in den R3-Neuronen durchgeführt. Für das visuelle Arbeitsgedächtnis wird NOS in den R3-Neuronen benötigt (Kuntz et al., 2017). Da unspezifische Bindungen der RNAi-Moleküle an anderen mRNA-Moleküle („*Off-Target* Effekt“) ausgeschlossen werden können (Kuntz, Dissertation 2015), wurde auf die Analyse eines weiteren RNAi-Stammes von NOS verzichtet. Um zu zeigen, dass der mutante Phänotyp vorhanden ist, werden die entsprechenden Tiere zunächst im Detour-Paradigma auf ihr visuelles Arbeitsgedächtnis hin untersucht. Wie aus Abb. 40 hervorgeht, zeigen die Tiere im Detour-Paradigma den vollständigen Verlust des Arbeitsgedächtnisses. Der Median mit m=55% unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau, wenn die mRNA von NOS in den R3-Neuronen degradiert wird. Der Median des wildtypischen Stammes CS liegt bei m=70%, der Unterschied zum Zufallsniveau ist höchst signifikant.

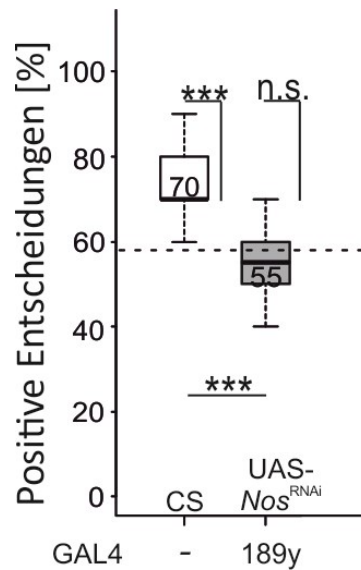


Abb. 40. Verhalten im Detour-Paradigma. Knockdown von NOS in R3-Neuronen. Wird die mRNA von NOS in den R3-Neuronen abgebaut, zeigen die Tiere den vollständigen Verlust ihres visuellen Arbeitsgedächtnisses. Alle Genotypen n=10. Statistische Analysen befinden sich unter 8.1.14. Konventionen wie für Abb. 17.

In einem weiteren Versuch wurde überprüft, ob die *Knockdown*-Tiere auch eine eingeschränkte Funktion bezüglich des Kurzzeitintegrators besitzen.

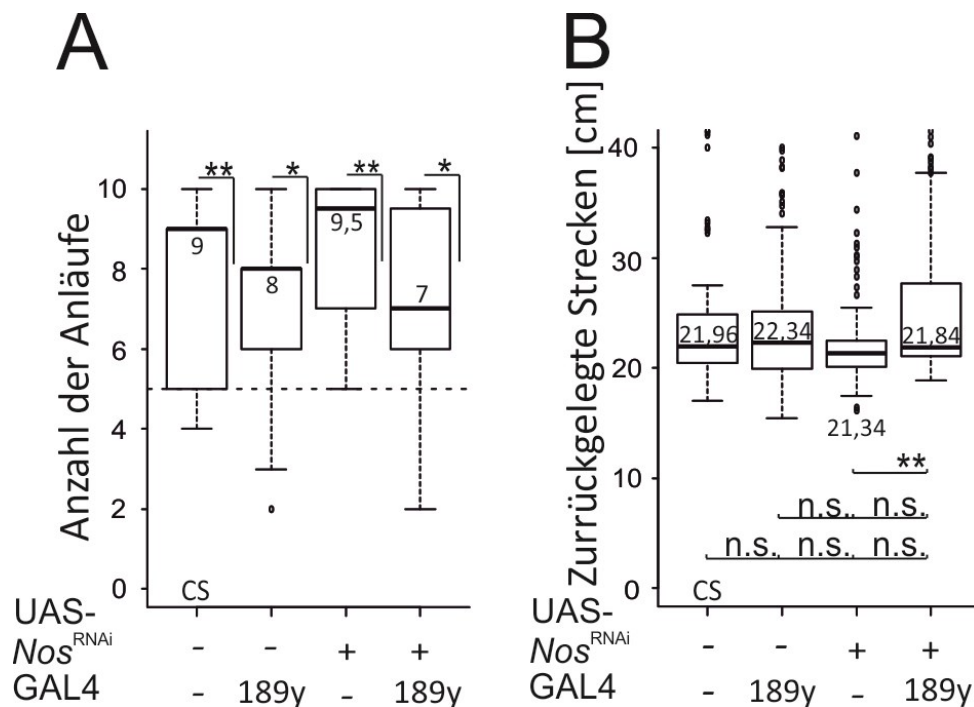


Abb. 41. Verhalten im Memotaxis-Paradigma. Knockdown von NOS in R3-Neuronen. A) Wird die mRNA von NOS in den R3-Neuronen degradiert, so sind die Fliegen (n=12) trotzdem in der Lage, die Landmarke mit Vorlauf zielgerichtet anzulaufen. Dies trifft auch für den wildtypischen Stamm CS (n=10) sowie die beiden Kontrollgruppen 189y-GAL4 (n=12) bzw. UAS-Nos^{RNAi} (n=10) zu. B) Der Median der zurückgelegten Strecken befindet sich auf der Höhe des wildtypischen Niveaus, wenn die Translation der NOS mRNA in den R3-Neuronen verhindert wird, genau wie das Niveau der beiden Kontrollgruppen. Statistische Analysen befinden sich im Anhang unter 8.1.15. Konventionen wie für Abb. 17.

Es zeigte sich, dass die Fliegen die Landmarke mit Vorlauf zielgerichtet anlaufen, genau wie die Fliegen des wildtypischen Stamm CS und die beiden Kontrollen (vgl. Abb. 41 A). Die getestete Stichprobe besitzt einen Median von $m=7$, wenn die Expression von NOS in den R3-Neuronen verhindert wird und unterscheidet sich signifikant vom Zufallsniveau. Der Median des wildtypischen Stammes liegt bei $m=9$, während der Median der 189y-GAL4 Kontrollgruppe und der UAS-Nos^{RNAi} Kontrollgruppe bei $m=8$ und $m=9,5$ liegt. Die Stichproben des wildtypischen Stammes CS und der Kontrollgruppen unterscheiden sich damit signifikant bzw. hoch signifikant vom Zufallsniveau.

Betrachtet man die Strecken der Fliegen, in denen die Expression von NOS in den R3-Neuronen verhindert wird, liegt der Median mit $m=21,84$ cm etwa auf dem gleichen Niveau wie der Median des wildtypischen Stammes CS mit $m=21,96$ cm und die der beiden Kontrollen mit $m=22,34$ cm und $m=21,34$ cm. Die Streuung innerhalb der Daten des Genotyps ist jedoch etwas höher, so dass die Stichprobe sich hoch signifikant von der UAS-Nos^{RNAi} Kontrollgruppe unterscheidet. Die Kontrolle UAS-Nos^{RNAi} unterscheidet sich jedoch nicht von der 189y-GAL4 Kontrolle und dem Wildtyp CS. Da sich die Tiere, deren mRNA von NOS in den R3-Neuronen degradiert wird, ebenfalls nicht signifikant von der Kontrolle 189y-GAL4 und dem Wildtyp CS unterscheiden, ist davon auszugehen, dass die Herunterregulierung NOS keine Beeinträchtigung bezüglich der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma verursacht.

Um dies in einem weiteren Versuch zu verifizieren, wurde eine zusätzliche, konstitutiv aktive Form von NOS in das Genom von *Drosophila melanogaster* induziert. Das P-Element mit der Sequenz UAS-Nos-Mac ist zusätzlich zur normalen Expression von NOS, in Kombination mit einem GAL4-Treiber, in einem ausgewählten Gewebe konstitutiv aktiv. Das integrierte P-Element besitzt eine cDNA für konstitutiv aktive NOS aus Makrophagen. Im durchgeführten Versuch wurde diese cDNA in Kombination mit der Treiberlinie 189y-GAL4 in den R3-Neuronen zusätzlich zur wildtypischen Expression von NOS aktiviert, so dass in diesen Neuronen das Gen von NOS übermäßig exprimiert wurde.

Betrachtet man die Anzahl der Anläufe, so sieht man, dass der Median bei 8 liegt, wenn NOS in den R3-Neuronen überexprimiert wird (vgl. Abb. 42 A). Der wildtypische Median von Fliegen des Stammes CS liegt bei $m=9$. Beide Datensätze unterscheiden sich damit hoch signifikant vom Zufallsniveau. Der Median von Fliegen der 189y-GAL4 Kontrolle liegt bei 8, der Unterschied zum Zufallsniveau ist signifikant. Betrachtet man die Strecken, so ist zu erkennen, dass der Median bei $m=21,83$ cm liegt, wenn das Gen von NOS in den R3-Neuronen überexprimiert wird (vgl. Abb. 42 B). Zum wildtypischen Datensatz, dessen Median

m=22,1 cm beträgt, gibt es keinen signifikanten Unterschied. Dies gilt auch für den statistischen Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen, deren Mediane bei m=22,34 cm und 21,51 cm liegen. Die anderen Ringsysteme wurden nicht getestet, weil NOS nur in R3-Neuronen detektiert werden konnte (Kuntz et al., 2017).

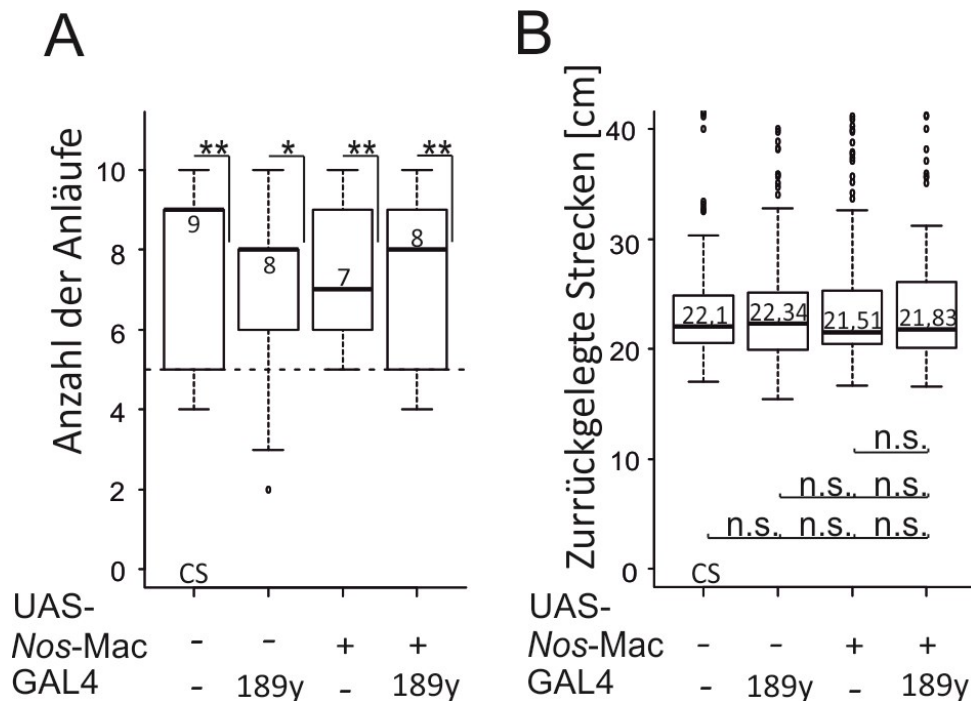


Abb. 42. Memotaxis-Verhalten nach Überexpression von NOS in R3-Neuronen. A) Wird NOS durch UAS-Nos-Mac in den R3-Neuronen in Kombination mit 189y-GAL4 zusätzlich aktiviert (n=11), so unterscheiden sich die Anläufe hoch signifikant vom Zufallsniveau. Dies trifft auch auf den wildtypischen Stamm CS (A: n=13; B: n=10) sowie der UAS-Nos-Mac Kontrollgruppe (n=10) zu. Die Kontrollgruppen 189y-GAL4 (n=12) unterscheiden sich signifikant vom Zufallsniveau. B) Der Median der zurückgelegten Strecken befindet sich auf der Höhe des wildtypischen Niveaus, sowie auf dem Niveau der beiden Kontrollgruppen, wenn NOS zusätzlich in den R3-Neuronen konstitutiv exprimiert wird. Statistische Analysen befinden sich im Anhang unter 8.1.16. Konventionen wie für Abb. 17.

Der *Knockdown* und die Überexpression von NOS in den R3-Neuronen zeigen, dass die Tiere in ihrem zielgerichteten Verhalten nicht beeinträchtigt sind. Die Tiere laufen die länger sichtbare Landmarke gezielt an und legen, im Vergleich zum Wildtyp CS und den Kontrollgruppen, kurze Strecken zurück.

3.6 Analyse der Rolle der NMDA-Rezeptoren im Memotaxis-Verhalten

Ein Mechanismus, um die neuronale Aktivität für einige hundert Millisekunden aufrecht zu erhalten, bietet die Eigenschaft der NMDA-Rezeptoren (Dzubay und Jahr, 1997). Spannungsabhängig erhöht sich die Leitfähigkeit der Rezeptoren für Ca^{2+} in die postsynaptische Zelle und kann damit die neuronale Aktivität verstärken. Daher wurde in einer weiteren Versuchsreihe die Eigenschaft von NMDA-Rezeptoren im Zusammenhang mit dem memotaktischen Verhalten näher analysiert. NMDA-Rezeptoren bilden eine tetramere Struktur und setzen sich aus zwei dNR1- und zwei dNR2-Untereinheiten zusammen. Für die Funktion des Rezeptors werden beide Untereinheiten benötigt (Xia et al., 2005).

In der folgenden Versuchsreihe wird die mRNA der dNR1-Untereinheit in den verschiedenen Ringneuronen degradiert. Entsprechende Fliegen werden im Detour- und Memotaxis-Paradigma analysiert. Die P-Element-Insertion des Effektorstammes $\text{UAS-dNR1}^{\text{RNAi}}$ mit der Bloomington Stock-Nr. 25941 befindet sich an der Position 3L auf dem dritten Chromosom (Flybase). Jungfräuliche Weibchen des Stammes 25941 wurden mit Männchen des Stammes VT25526-GAL4 verpaart. Diese Wiener Linie exprimiert vor allem im Bereich der R4m-Neuronen des Ellipsoidkörpers. Neben den R4m-Neuronen sind schwache Färbungen im corticalen Bereich sichtbar. Auch der fächerförmige Körper, die Noduli und die Pilzkörper zeigen geringe Anteile des GFP Proteins (Flybrain). Antikörperfärbungen nach Wu et al., 2007, zeigen, dass dNR1 im gesamten Ellipsoidkörper lokalisiert werden kann, darüber hinaus auch im Pilzkörper. Bezüglich der dNR2-Untereinheit lässt sich das gleiche Muster feststellen. In Abhängigkeit des verwendeten Antikörpers lässt sich aber auch die dNR2-Untereinheit besonders stark in den R4m-Neuronen nachweisen (Wu et al., 2007). Da die Antikörperfärbungen bezüglich der dNR2-Untereinheit besonders stark in R4m-Neuronen nachweisbar sind und dort auch die dNR1-Untereinheit lokalisiert werden konnte, wurden Fliegen des Effektorstammes zunächst mit Fliegen der Treiberlinie R4m gekreuzt. Außerdem wurde auf die Verwendung der Treiberlinie *ftz-(ng)*-GAL4 verzichtet, da sich zeigte, dass die Nachkommen von Kreuzungen mit diesen Treiber letal sein können. Dies war bei den Kreuzungen mit dem Stamm $\text{UAS-TNT}^{\text{PIN7.2}}$ der Fall. Die Kreuzungen wurden nach dem bereits beschriebenen Schema angesetzt.

In Abb. 43 sind exemplarische Laufspuren von Fliegen abgebildet, bei denen das funktionelle Gen *dNR1* nicht exprimiert werden konnte, sowie Laufspuren des wildtypischen Stam-

mes CS und der heterozygoten Kontrollgruppe VT25526-GAL4 und UAS-*dNR1*^{RNAi}. Die wildtypischen Laufspuren (vgl. Abb. 43 A) und die Laufspuren beider Kontrollgruppen (vgl. Abb. 43 A und B) zeigen, dass sich die Fliegen zielgerichtet der Landmarke nähern, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war. Auch wenn diese verschwand und die zweite Landmarke erschien, konnten die Fliegen meistens den Kurs beibehalten. Bei den Fliegen, bei denen das funktionelle dNR1-Protein in den R4m-Neuronen nicht zur Verfügung stand, kann man an den Laufspuren erkennen, dass diese Tiere Schwierigkeiten hatten, den Kurs beizubehalten. Dies äußerte sich im häufigen Wechseln der Laufrichtung, so dass insgesamt längere Wegstrecken zurückgelegt wurden (vgl. Abb. 43 D).

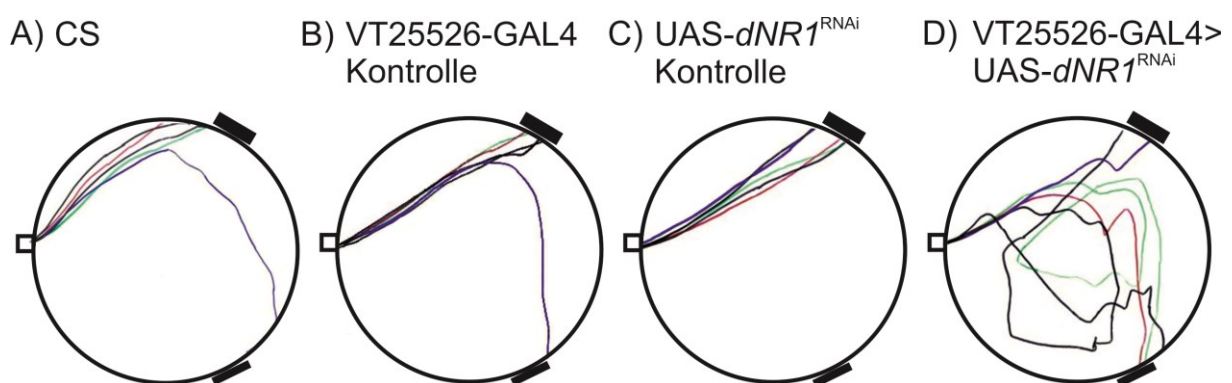


Abb. 43. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, in denen die Translation der dNR1-Untereinheit in R4m-Neuronen inhibiert wird (Stamm 25941). In A) sind fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS dargestellt, während in B) und C) die Laufspuren heterozygoter Fliegen der VT25526-GAL4 (R4m-Neuronen) Kontrollgruppe und der heterozygoten Kontrollgruppe UAS-*dNR1*^{RNAi} abgebildet sind. In D) sind fünf Laufspuren von Fliegen zu sehen, in denen die mRNA der dNR1-Untereinheit im Muster der VT25526-GAL4 Treiberlinie degradiert wird. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

In einer weiteren Versuchsreihe erfolgte die Validierung des UAS-*dNR1*^{RNAi} Stammes. Da bei dem *Knockdown* unspezifische Bindungen der RNAi Moleküle zu anderen mRNA Molekülen auftreten und das Verhalten beeinflussen können (sogenannter „Off-Target Effekt“), wurde ein weiterer UAS-*dNR1*^{RNAi} Stamm (Bloomington Stock-Nr. 41666) für die Validierung der Ergebnisse verwendet. Wenn der zweite Stamm eine andere Sequenz aus dem Gen *dNR1* für das Inverted Repeat benutzt und die Ergebnisse nicht im Widerspruch zueinander stehen, ist davon auszugehen, dass es keine unspezifischen Bindungen gibt (mündliche Mitteilung, Poeck).

Die P-Element-Insertion des Stammes mit der Stock-Nr. 41666 befindet sich auch hier an der Position 3L des dritten Chromosoms (Flybase). Jungfräuliche Weibchen des Stammes 41666 wurden mit Männchen des Stammes VT25526-GAL4 verpaart. Die Kontrollgruppen wurden nach dem gleichen Schema etabliert. Die heterozygoten Männchen aus der F1-

Generation wurden im Memotaxis-Paradigma analysiert. In Abb. 44 sind exemplarische Laufspuren des wildtypischen Stammes CS sowie exemplarische Laufspuren beider Kontrollgruppen zu sehen. Auch hier zeigt sich, dass die Fliegen aller drei Gruppen die Landmarke, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war, zielgerichtet anlaufen und nur hin und wieder die zweite Landmarke als Ziel auswählen (vgl. Abb. 44 A, B und C).

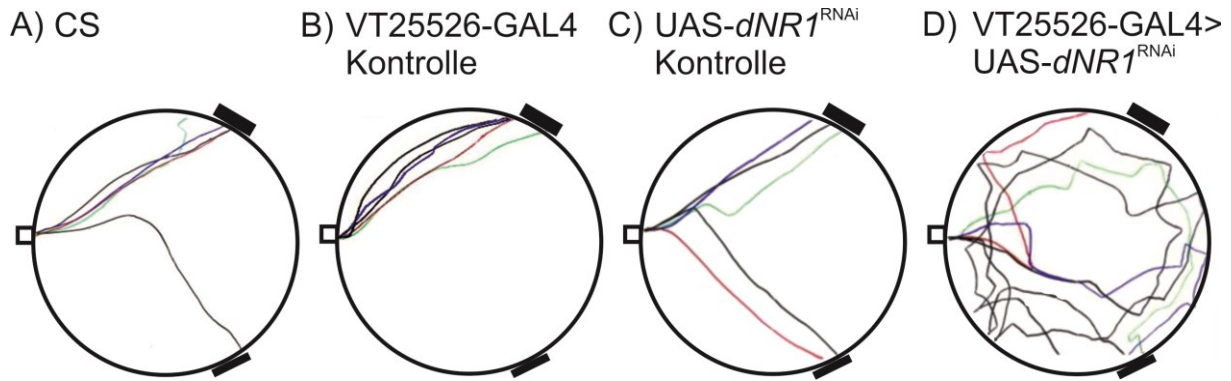


Abb. 44. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, in denen die Translation der dNR1-Untereinheit inhibiert wird (Stamm 41666). In A) sind fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes CS dargestellt, während in B) und C) die Laufspuren heterozygoter Fliegen der VT25526-GAL4 (R4m-Neuronen) Kontrollgruppe und der heterozygoten Kontrollgruppe UAS-dNR1^{RNAi} abgebildet sind. In D) sind fünf Laufspuren von Fliegen zu sehen, in denen die dNR1-Untereinheit im Muster der VT25526-GAL4 Treiberlinie herunterreguliert wird. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Betrachtet man jedoch die Laufspuren von Fliegen, in denen dNR1 herunterreguliert war, so sieht man kein zielgerichtetes Verhalten. Die Laufspuren zeigen, dass die Fliegen häufiger die Richtung wechselten und zweitweise in andere Richtungen liefen (vgl. Abb. 44 D).

Die statistische Analyse zeigt, dass der *Knockdown* der dNR1-Untereinheit mit dem Stamm 25941 in den R4m-Neuronen dazu führt, dass die Tiere die Landmarke mit Vorlauf nicht zielgerichtet anlaufen (vgl. Abb. 45 A). Der Median der Landmarkenanläufe liegt bei 4 und unterscheidet sich damit nicht signifikant vom Zufallsniveau. Anders verhält es sich bei den Kontrollgruppen VT25526-GAL4 und UAS-dNR1^{RNAi}. Die Mediane liegen bei 8 und 9 und damit auf dem wildtypischen Niveau. Betrachtet man die zurückgelegten Strecken, so liegt der Median der zurückgelegten Strecken bei 29,09 cm, wenn die dNR1-Untereinheit in den R4m-Neuronen herunterreguliert wird. Die zurückgelegten Strecken der getesteten Stichprobe fällt damit höchst signifikant länger aus als die der beiden Kontrollen, deren Mediane bei m=20,78 cm und 21,57 cm liegen. Die zurückgelegten Strecken des wildtypischen Stammes CS fallen mit dem Median von m=22,1 cm höchst signifikant kürzer aus als die Strecken der Fliegen ohne dNR1-Untereinheit in den R4m-Neuronen.

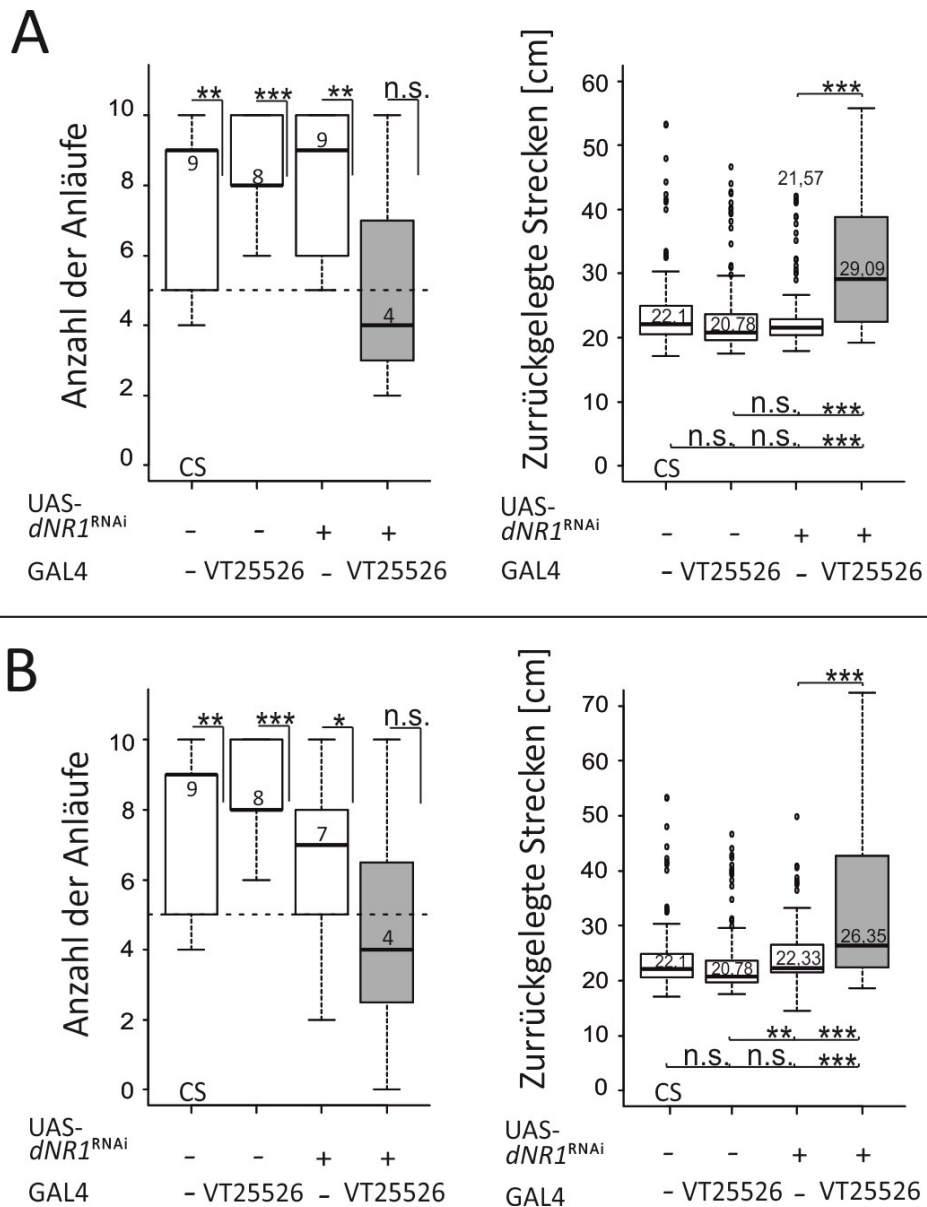


Abb. 45. Memotaxis-Verhalten nach dem *Knockdown* der mRNA der dNR1-Untereinheit in den R4m-Neuronen des Ellipsoidkörpers mit den Effektorstämmen 25941 und 41666. A) *Knockdown* mit dem Effektorstamm 25941. Tiere mit dem Genotyp VT25526>UAS-dNR1^{RNAi} zeigen, im Gegensatz zu CS und den beiden Kontrollgruppen, keine Präferenz für die Landmarke mit Vorlauf. Die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp VT25526-GAL4>UAS-dNR1^{RNAi} fallen höchst signifikant länger aus als die Strecken des wildtypischen Stammes CS und den Strecken der beiden Kontrollen. B) *Knockdown* mit dem Effektorstamm 41666. Die Anzahl der Anläufe der Gruppe mit dem Genotyp VT25526>UAS-dNR1^{RNAi} (n=11) unterscheiden sich nicht signifikant vom Zufallsniveau. Die zurückgelegten Strecken dieser Tiere fallen auch in diesem Fall hoch bis höchst signifikant länger aus als die Strecken der Kontrollen und die Strecken des wildtypischen Stammes CS. (Alle weiteren Genotypen wurden mit n=10 getestet, außer CS mit n=13 für die Landmarkenanläufe). Die statistische Auswertung befindet sich im Anhang unter 8.1.17. Konventionen wie für Abb. 17.

In Abb. 45 B sind die Ergebnisse des *Knockdowns* mit dem Stamm 41666 dargestellt. Auch in diesem Fall präferieren die Fliegen mit dem Genotyp VT25526-GAL4>UAS-dNR1^{RNAi} nicht die Landmarke, die zu Beginn für drei Sekunden sichtbar ist. Der Median liegt bei 4 und unterscheidet sich damit nicht signifikant vom Zufallsniveau. Die Kontrollgruppen und der wildtypische Stamm CS wählen häufiger die Landmarke, die beim Betreten der Laufplattform für

drei Sekunden sichtbar gewesen ist. Die Landmarkenanläufe unterscheiden sich signifikant bis höchst signifikant vom Zufallsniveau. Die statistische Analyse der zurückgelegten Strecken zeigt, dass sich die Strecken der Fliegen mit dem Genotyp VT25526-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} höchst signifikant von den Strecken der Kontrollgruppen und den wildtypischen Strecken unterscheiden (vgl. Abb. 45 B). Für den folgenden Versuch wird die Expression der *dNR1*-Untereinheit mit Hilfe von RNAi in den weiteren Subtypen der Ringneuronen inhibiert. Für diese *Knockdown* Versuche wird der RNAi-Effektor Stamm 25941 verwendet. Alle Mediane befinden sich in Tab. 5 auf S. 86.

Um die R1-Ringneuronen des Ellipsoidkörpers zu adressieren, wurden Männchen der Treiberlinie 198y-GAL4 mit jungfräulichen Weibchen des Stammes UAS-*dNR1*^{RNAi} gekreuzt. Die Kontrollgruppen wurden nach dem bereits in diesem Kapitel beschriebenen Schema erstellt und ebenfalls im Memotaxis-Paradigma analysiert. Die nachfolgende Abbildung zeigt je fünf exemplarische Laufspuren von wildtypischen Männchen des Stammes CS, den heterozygoten Männchen der Kontrollgruppen und den Männchen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} (vgl. Abb. 46).

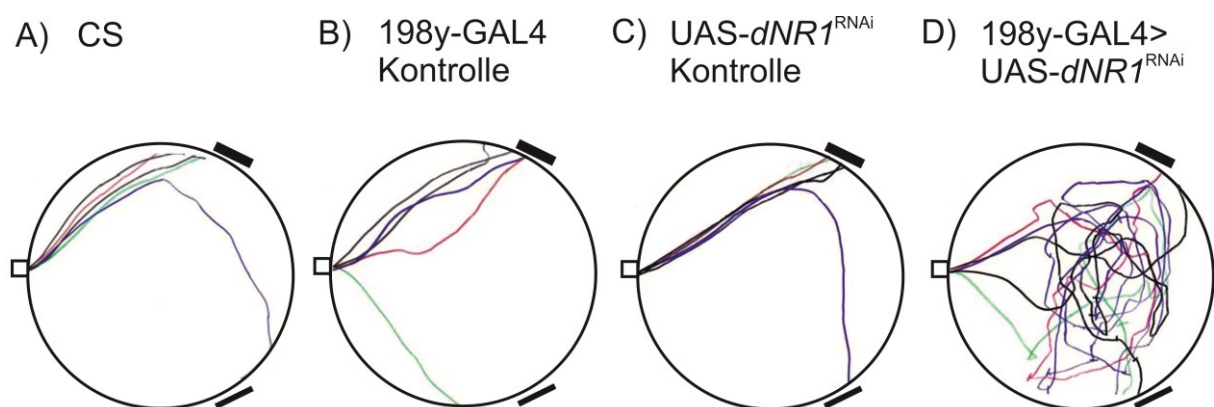


Abb. 46. Exemplarische Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi}. A) Fünf Laufspuren des wildtypischen Stammes. B) und C) zeigen je fünf Laufspuren von Fliegen der heterozygoten Kontrollgruppe 198y-GAL4 und UAS-*dNR1*^{RNAi}. In D) sind fünf Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} dargestellt. Der dick gedruckte Balken symbolisiert die Landmarke, die zu Beginn der Aufnahmen für drei Sekunden sichtbar war.

Die wildtypischen Laufspuren zeigen, dass die Fliegen die Landmarke, die zu Beginn der Messung drei Sekunden sichtbar war, zielgerichtet anlaufen. Nur ab und zu kam es vor, dass die Fliegen die Richtung wechselten und die zweite Landmarke anlaufen. Entschieden sie sich für eine Laufrichtung, so behielten sie diese auch bei (vgl. Abb. 46 A). Das gleiche war bei den Fliegen der beiden Kontrollgruppen zu beobachten (vgl. Abb. 46 B und C). Wird die Genexpression des Gens *dNR1* im Muster der Treiberlinie 198y-GAL4 mit Hilfe kleiner RNAi-

Einheiten unterbrochen, so zeigen die entsprechenden Fliegen kein zielgerichtetes Verhalten. Diese Fliegen wechselten häufiger die Richtung und liefen zeitweise abwechselnd die beiden Landmarken an, je nachdem welche sichtbar war.

Einige Laufspuren verliefen kreisförmig, so dass insgesamt die Laufstrecken deutlich länger ausfielen als bei den wildtypischen Fliegen und den Fliegen der Kontrollgruppen (vgl. Abb. 46 D). Während einige Tiere völlig orientierungslos erschienen, gab es auch jedoch auch Tiere, die zielgerichtet Landmarken anlaufen konnten. Aufgrund der zwei verschiedenen Verhaltensweisen kommt es zu einer breiten Streuung innerhalb des Datensatzes. Die Streuung innerhalb der Daten von RNAi-Linien ist nicht untypisch und hängt individuell von der Inhibition der Translation der nachgeschalteten UAS-Sequenz ab (mündliche Mitteilung, B. Poeck).

Wird die Translation der dNR1-Untereinheit der NMDA-Rezeptoren im Muster von 198y-GAL4 inhibiert, so zeigt die statistische Analyse des Verhaltens der Tiere mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi}, dass die Anzahl der Anläufe zu der Landmarke mit Vorlauf sich nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet (vgl. Abb. 47 A). Der Median der Landmarkenanläufe liegt bei $m=5,5$. Beide Kontrollgruppen mit den heterozygoten Allelen UAS-*dNR1*^{RNAi} und 198y-GAL4 unterscheiden sich signifikant bis hoch signifikant vom Zufallsniveau und besitzen einen Median von $m=9$ (vgl. Abb. 47 A). Dies entspricht dem wildtypischen Niveau, die Landmarkenanläufe mit dem Median von $m=8,5$ unterscheiden sich hoch signifikant vom Zufallsniveau. Die zurückgelegten Strecken des wildtypischen Stammes unterscheiden sich nicht signifikant von den Strecken der Fliegen mit dem Genotyp UAS-*dNR1*^{RNAi} (vgl. Abb. 47 B). Vergleicht man die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} und dem Median $m=27,62$ cm mit den Kontrollgruppen UAS-*dNR1*^{RNAi} und 198y-GAL4, deren Mediane $m=21,57$ cm und $m=21,84$ cm sind, so unterscheiden sich diese höchst signifikant von beiden Kontrollgruppen.

Um die Translation der mRNA der dNR1-Untereinheit in den R2-Neuronen zu blockieren, wurde der Treiber VT49921-GAL4 verwendet. Die statistische Analyse ergibt, dass Fliegen mit dem Genotyp VT49921-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} die Landmarke mit Vorlauf nicht präferieren, der Median $m=5,5$ unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 47 A). Dies steht im Gegensatz zu den beiden Kontrollgruppen UAS-*dNR1*^{RNAi} ($m=9$) und VT49921-GAL4 ($m=6$) und den Tieren des wildtypischen Stammes CS ($m=8,5$). Alle drei getesteten Gruppen unterscheiden sich signifikant bis hoch signifikant vom Zufallsniveau. Die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp VT49921-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} mit dem Median

m=36,95 cm fallen höchst signifikant länger aus als die zurückgelegten Strecken der Kontrollgruppen UAS-*dNR1*^{RNAi} mit dem Median m=21,57 cm und VT49921-GAL4 mit dem Median m=22,69 cm (vgl. Abb. 47 B).

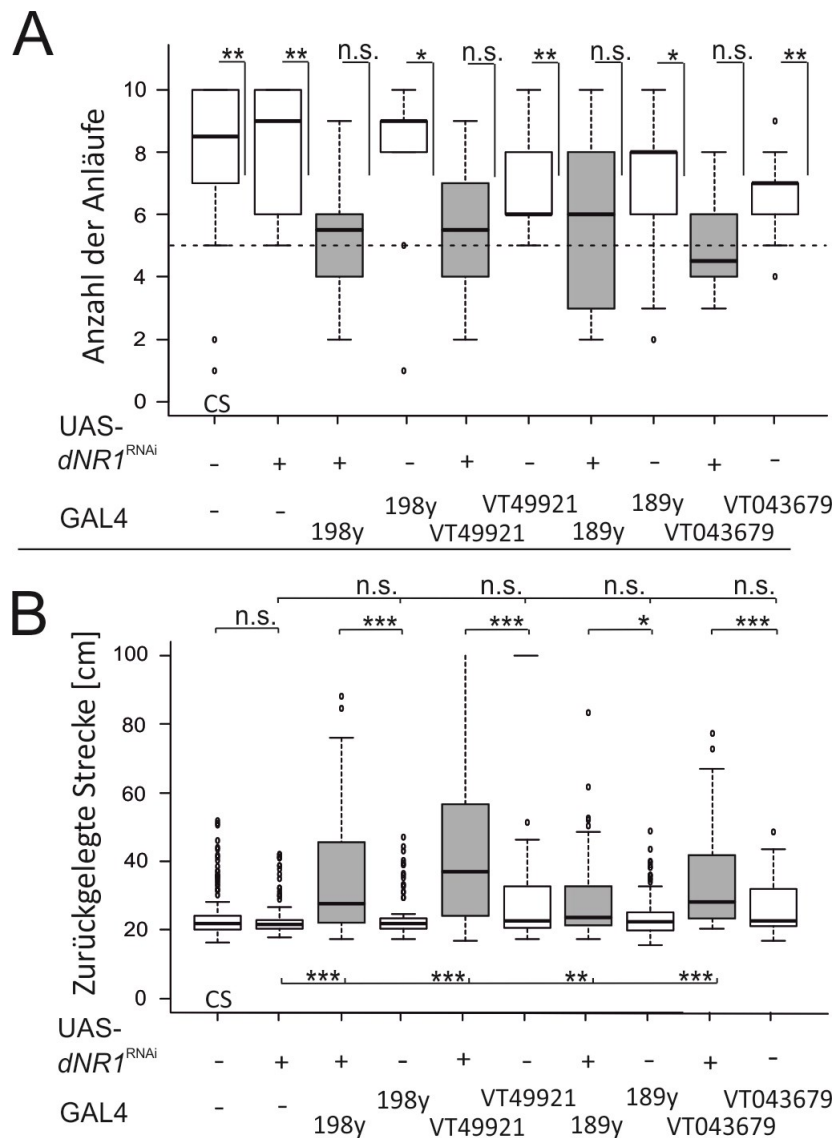


Abb. 47. Verhalten im Memotaxis-Paradigma nach dem *Knockdown* der mRNA der *dNR1*-Untereinheit. A) Während sich die Anzahlen der Anläufe des wildtypischen Stammes CS (n=20) und der Kontrollgruppen mit den Genotypen UAS-*dNR1*^{RNAi} (n=10), 198y-GAL4 (n=10), VT49921-GAL4 (n=10), 189y-GAL4 (n=12) und VT043679-GAL4 (n=10) signifikant bis hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden, unterscheiden sich die Anzahlen der Anläufe der Gruppen mit den Genotypen 198y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} (n=10), VT49921-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} (n=10), 189y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} (n=13) und VT043679>UAS-*dNR1*^{RNAi} (n=10) nicht signifikant vom Zufallsniveau. B) Die Länge der zurückgelegten Strecken des wildtypischen Stammes CS und die der Kontrollgruppe mit dem Genotyp UAS-*dNR1*^{RNAi} unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Die zurückgelegten Strecken der Kontrollgruppe UAS-*dNR1*^{RNAi} hingegen fallen höchst signifikant kürzer aus als die zurückgelegten Strecken der Tiere, in denen die mRNA der *dNR1*-Untereinheit im Muster von 198y-GAL4, VT49921-GAL4, 189y-GAL4 (n=11) oder VT043679-GAL4 degradiert wurde. Betrachtet man die zurückgelegten Strecken der Tiere mit dem Genotyp UAS-*dNR1*^{RNAi} so ist ersichtlich, dass die Strecken sich nicht signifikant von den Strecken der Kontrollgruppen 198y-GAL4, VT49921-GAL4 und 189y-GAL4 (n=12) unterscheiden. Die zurückgelegten Strecken der VT043679-GAL4 Kontrollgruppe fallen signifikant länger aus als die der UAS-*dNR1*^{RNAi} Kontrollgruppe. Die Mediane sind tabellarisch auf S. 86 dargestellt. Die statistische Auswertung ist unter 8.1.18 einsehbar. Konventionen wie für Abb. 17.

Wird die mRNA der Untereinheit dNR1 der NMDA-Rezeptoren in den R3-Neuronen im Muster der Treiberlinie 189y-GAL4 degradiert, so unterscheidet sich die Anzahl der Anläufe zur Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf von zwei Sekunden nicht signifikant vom Zufallsniveau (vgl. Abb. 47 A). Die Landmarkenanläufe der Tiere mit dem heterozygoten Allel 189y-GAL4 unterscheiden sich hingegen signifikant vom Zufallsniveau. Die zurückgelegten Strecken der Tiere mit der genetischen Konstellation 189y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} sind signifikant und hoch signifikant länger als die Strecken der Kontrollen mit den heterozygoten Allelen UAS-*dNR1*^{RNAi} und 189y-GAL4 (vgl. Abb. 47 B).

Da bereits gezeigt werden konnte, dass der *Knockdown* der dNR1-Untereinheit in den R4m-Neuronen zu Beeinträchtigungen des Kurzzeitspeichers führt (vgl. Abb. 45 A), wurde in einem weiteren Versuch die dNR1-Untereinheit in den R4d-Neuronen herunterreguliert. Tiere mit dem Genotyp VT043679-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} zeigen, dass die Auswahl der Landmarken zufällig erfolgt, der Median liegt bei m=4,5 (vgl. Abb. 47 A). Auch die Strecken mit dem Median m=28,09 cm sind höchst signifikant länger als die Strecken der VT043679-GAL4 (m=22,69 cm) und der UAS-*dNR1*^{RNAi} Kontrollgruppe.

Tab. 5. Tabellarische Darstellung der Mediane. *Knockdown* der dNR1-Untereinheit und Memotaxis-Paradigma Für den Ringneuronen-Subtyp R1 wurde die Treiberlinie 198y-GAL4 verwendet, für den Subtyp der R2-Neuronen VT49921-GAL4, für den der R3-Neuronen 189y-GAL4 und für den Ringneuronen-Subtyp R4d VT043679-GAL4.

Genotyp	A) Mediane Anzahl der Anläufe	B) Mediane der zurückgelegten Strecken [cm]
CS	8,5	21,94
UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	9	21,57
198y-GAL4> UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	5,5	27,62
198y-GAL4	9	21,84
VT49921-GAL4> UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	5,5	36,95
VT49921-GAL4	6	22,69
189y-GAL4> UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	6	23,69
189y-GAL4	8	22,34
VT043679-GAL4> UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	4,5	28,09
VT043679-GAL4	7	22,69

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die zurückgelegten Strecken deutlich länger ausfallen wenn die mRNA der dNR1-Untereinheit in einem der vier Subtypen der Ringneuronen degradiert wird als die Strecken der entsprechenden Kontrollen und die Strecken des wildtypi-

schen Stammes CS (vgl. Abb. 47 B und Tab. 5). Die Auswahl der Landmarken erfolgt in allen getesteten Fällen, statistisch betrachtet, zufällig, wenn die mRNA der dNR1-Untereinheit in einen der vier Subtypen degradiert wird (vgl. Abb. 47 A).

3.6.1 Die Rolle des spannungsabhängigen Ca^{2+} -Einstroms durch die NMDA-Rezeptoren

Für die Pfadintegration ist der Ca^{2+} -Spiegel in den Neuronen des Ellipsoidkörpers essentiell (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015). Daher wurde in einem weiteren Schritt die Notwendigkeit des Mg^{2+} -Blocks und die spannungsabhängige Aktivierung des Ca^{2+} -Einstroms im Zusammenhang mit der memotaktischen Orientierung und dem Arbeitsgedächtnis untersucht.

Die dNR1-Untereinheit besitzt an der Transmembran-Domäne TM2 an der Stelle N631 die drei Aminosäuren Asparagin. Diese Aminosäuren ermöglichen es, Mg^{2+} zu binden und erlauben damit dem Rezeptor die spannungsabhängige Kontrolle des Ca^{2+} -Einstroms (Xia et al., 2005). In Kombination mit der Treiberlinie 189y-GAL4 wird in dem Stamm UAS-*dNR1*(N631Q) eine dNR1-Untereinheit exprimiert, die an der Stelle N631Q kein Asparagin besitzt (Miyashita et al., 2012). Diese mutante dNR1-Untereinheit wird zufällig an Stelle der wildtypischen dNR1-Untereinheit in die NMDA-Rezeptoren eingebaut. Durch das fehlende Asparagin kann die dNR1-Untereinheit kein Mg^{2+} binden (Miyashita et al., 2012). Dies wiederum bewirkt, dass die betroffenen NMDA-Rezeptoren von Grund auf einen höheren Ca^{2+} -Einstrom besitzen.

Um zu überprüfen, ob der erhöhte Ca^{2+} -Einstrom die visuelle Kurzzeitintegration negativ beeinträchtigt, wurden die Tiere im Memotaxis-Paradigma getestet (vgl. Abb. 48). Die statistischen Analysen zeigen, dass der zufällige Einbau der mutanten dNR1-Untereinheit in NMDA-Rezeptoren der R3-Neuronen sich nicht negativ auf das Verhalten auswirkt. Die Tiere mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*dNR1*(N631Q) wählen häufiger die Landmarke mit Vorlauf aus. Der Median der Anzahl der Anläufe befindet sich mit $m=8$ auf wildtypischem Niveau (vgl. Abb. 48 A). Auch die Mediane beider Kontrollen liegen bei $m=8$. Die zurückgelegte Strecke mit dem Median von 22,06 cm fällt ähnlich wie die Strecke des wildtypischen Stammes und die Strecken der beiden Kontrollgruppen aus. Der Median der 189y-GAL4 Kontrolle liegt bei 22,17 cm, der Median der UAS-*dNR1*(N631Q) Kontrolle bei $m=21,5$ cm. Zwischen allen getesteten Gruppen gibt es keinen signifikanten Unterschied (vgl. Abb. 48 B).

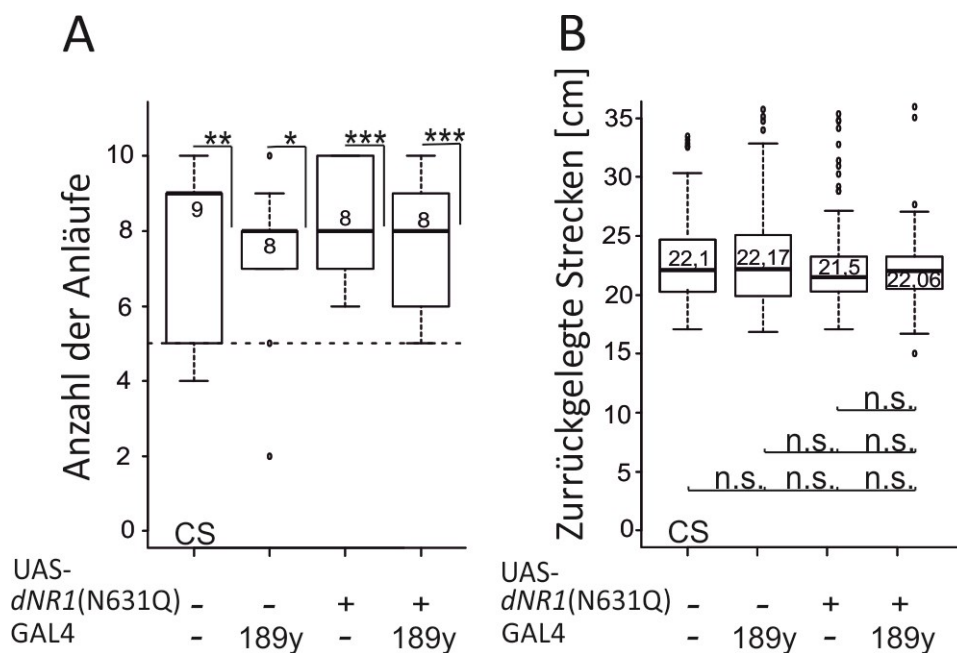


Abb. 48. Memotaxis-Verhalten von Fliegen mit Expression der mutanten dNR1-Untereinheit in R3-Neuronen. A) Fliegen mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*dNR1(N631Q)* (n=10) zeigen, dass sie, wie der wildtypische Stichprobenumfang CS (n=13) und die beiden Kontrollgruppen (n=10), die Landmarke mit Vorlauf präferieren. B) Auch die zurückgelegten Strecken unterscheiden sich nicht signifikant zu den zurückgelegten Strecken des Stammes CS und den Strecken der beiden Kontrollgruppen. Alle Statistiken sind im Anhang unter 8.1.19 dargestellt. Konventionen wie für Abb. 17.

3.7 NMDA-Rezeptoren sind an der Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses beteiligt

Bei Vertebraten steuert der Ca^{2+} -Einstrom durch NMDA-Rezeptoren über Zwischenschritte wie NOS und CREB die Expression von Genen für das Langzeitgedächtnis (Dzubay und Jahr, 1996). Bei *Drosophila melanogaster* ist dCREB bereits im Vorfeld für die Expression von Kompetenzfaktoren notwendig, die dann akut für das Arbeitsgedächtnis benötigt werden. NOS übt für das vier Sekunden andauernde Arbeitsgedächtnis eine direkte Funktion durch die Synthese des Gasotransmitters NO aus. Da beide Faktoren somit auf verschiedenen Zeitskalen benötigt werden, stellte sich die Frage, ob der Ca^{2+} -Einstrom durch NMDA-Rezeptoren auch in Invertebraten die Regulation von NOS und dCREB übernehmen und damit in die Funktionsweise eines Arbeitsgedächtnisses involviert sind. In der vorliegenden Studie wird zum ersten Mal überprüft, ob NMDA-Rezeptoren möglicherweise eine duale Funktion ausüben, indem sie zum einen das Memotaxis-Gedächtnis durch die Integration sensorischer Signale regulieren, und zum anderen für die Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses durch die Regulation der Expression von NOS und dCREB sorgen.

Für den *Knockdown* der dNR1-Untereinheit wurde der Stamm mit der Bloomington Stock-Nr. 25941 verwendet. Die Kontrollgruppen wurden nach dem bereits beschriebenen Prinzip gekreuzt und im Detour-Paradigma analysiert. Die statistischen Analysen zeigen, dass die Tiere ihr visuelles Arbeitsgedächtnis verloren haben, wenn die dNR1-Untereinheit in einem der vier Subtypen von Ringneuronen herunterreguliert wird (vgl. Abb. 49). Während das wildtypische Niveau im Median bei 70% liegt und der Datensatz sich hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, zeigen die Tiere mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-dNR1^{RNAi}, dass sie sich mit dem Median von 50% signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden. Hier liegt der Median jedoch unterhalb des Zufallsniveaus von 58%. Damit ist deutlich zu erkennen, dass die Tiere nicht in der Lage sind, sich an ihr ursprüngliches Ziel zu erinnern.

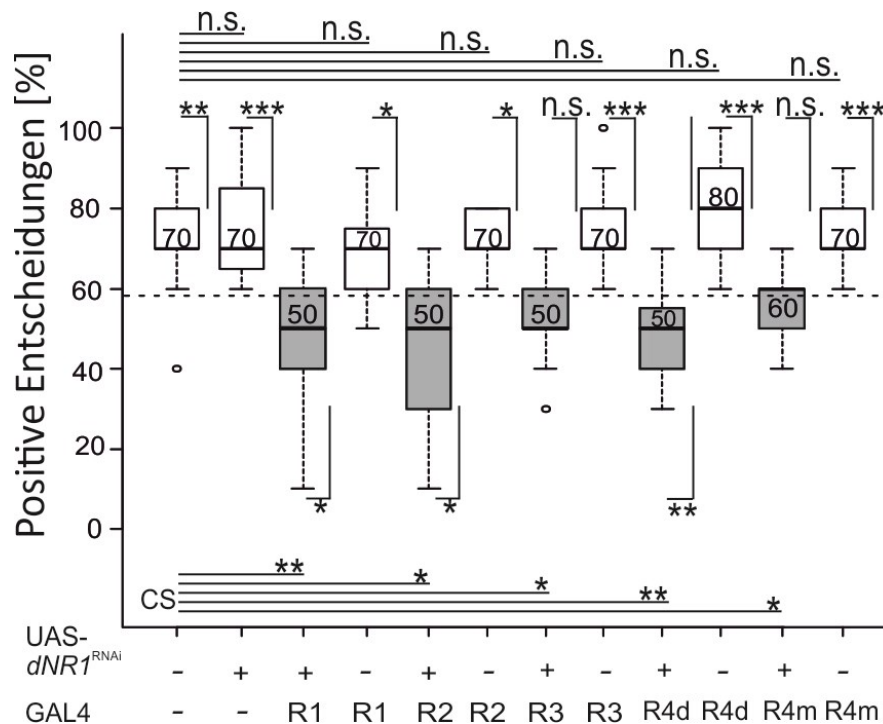


Abb. 49. Visuelles Arbeitsgedächtnis im Detour-Paradigma von Fliegen, in denen die mRNA der dNR1-Untereinheit in den verschiedenen Subtypen der Ringneuronen degradiert wird. Um den R1-Neuronen-Subtyp zu adressieren, wurde die Treiberlinie 198y-GAL4 verwendet, für den Ringneuronen-Subtyp R2 VT49921-GAL4, für R3 die Treiberlinie 189y-GAL4, für R4d die Treiberlinie VT043679-GAL4 und für den Subtyp R4m VT25526-GAL4. Wird die mRNA der dNR1-Untereinheit im Muster der Treiberlinie 198y-GAL4 degradiert, so zeigen die Tiere einen vollständigen Verlust ihres Arbeitsgedächtnisses. Die Tiere mit dem Genotyp VT49921-GAL4>UAS-dNR1^{RNAi} unterscheiden sich signifikant vom Zufallsniveau von 58%. Wird die dNR1-mRNA im Muster von 189y-GAL4 degradiert, so zeigen die Tiere ebenfalls einen Verlust ihres Arbeitsgedächtnisses. Wird UAS-dNR1^{RNAi} unter der Kontrolle von VT25526-GAL4 exprimiert, so zeigen die Tiere, dass sie bezüglich der Landmarken kein visuelles Arbeitsgedächtnis mehr ausbilden können. Auch die Fliegen mit dem Genotyp VT043679-GAL4>UAS-dNR1^{RNAi} zeigen, dass die Funktion des Arbeitsgedächtnisses deutlich eingeschränkt ist (alle Gruppen n=15). Die Statistiken befinden sich im Anhang unter 8.1.20. Konventionen wie für Abb. 17.

Wird dNR1 in den R2-Neuronen herunterreguliert, so zeigt der getestete Stichprobenumfang ebenfalls, dass die Fliegen sich nicht mehr an ihr ursprüngliches Ziel erinnern. Der Me-

dian liegt bei 50% und unterscheidet sich signifikant vom Zufallsniveau und signifikant von der wildtypischen Leistung des Arbeitsgedächtnisses. Auch die Tiere mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} zeigen, dass sie kein visuelles Arbeitsgedächtnis ausbilden können. Der getestete Stichprobenumfang mit dem Median von m=50% zeigt, dass sich der Datensatz nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet, der Median der 189y-GAL4 Kontrollgruppe liegt bei m=70% und unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau.

Als Treiberlinien für die R4-Neuronen wurden die Linien VT25526-GAL4 (R4m) und VT043679-GAL4 (R4d) verwendet. Wird die Translation der *dNR1*-Untereinheit in diesen Neuronen inhibiert, so verlieren auch diese Tiere ihr visuelles Arbeitsgedächtnis. Die Mediane der Fliegen mit dem Genotyp VT043679-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} und VT25526-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} liegen bei m=50% und m=60%. Der Median m=50% der Fliegen VT043679-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} befindet sich unterhalb des Zufallsniveaus und unterscheidet sich höchst signifikant von diesem. Der Median m=60% der Fliegen mit der genetischen Konstellation VT043679-GAL4>UAS-*dNR1*^{RNAi} unterscheidet sich nicht signifikant vom Zufallsniveau.

Alle getesteten Kontrollen hingegen zeigen, dass sich der getestete Stichprobenumfang signifikant bis höchst signifikant vom Zufallsniveau unterscheidet. Die Mediane der Kontrollgruppen befindet sich oberhalb des Zufallsniveaus von 58%. Vergleicht man den Stichprobenumfang, in dem der *Knockdown* in den unterschiedlichen Ringneuronen durchgeführt wurde, mit dem wildtypischen Stichprobenumfang, so sieht man, dass sich diese Datensätze signifikant bis hoch signifikant von den Datensatz des wildtypischen Stammes CS unterscheiden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass funktionell intakte NMDA-Rezeptoren in den Ringneuronen für die Etablierung eines Arbeitsgedächtnisses essentiell sind.

3.7.1 Die Rolle des Ca²⁺-Einstroms im Detour-Paradigma

In einem weiteren Versuch wurde untersucht, ob der Mg²⁺-Block und dessen Kontrolle des Ca²⁺-Einstroms Einfluss auf die Etablierung des visuellen Arbeitsgedächtnisses ausübt. Die Pfadintegration, die für die visuelle Orientierung bei *Drosophila* sorgt, ist Ca²⁺ abhängig (Seelig und Jayaraman, 2013, 2015). Daher stellt die Analyse des durch NMDA-Rezeptoren regulierten Ca²⁺-Einstroms einen interessanten Versuchsansatz dar. Der Stamm UAS-*dNR1*(N631Q) besitzt, wie in Kap. 3.2.2. bereits beschrieben, an der Stelle N631Q kein Asparagin. Das Asparagin übernimmt normalerweise die Bindung des Mg²⁺-Blocks, welcher spannungsabhängig den Ca²⁺-Einstrom der NMDA-Rezeptoren kontrolliert (Miyashita et al., 2012;

Xia et al., 2005). Die Kreuzungen wurden nach dem bereits beschriebenen Schema durchgeführt. Die Männchen des wildtypischen Stammes CS sowie die Männchen der heterozygoten Kontrollgruppen aus den F1-Generationen wurden zusammen mit Fliegen getestet, in denen die dNR1-Untereinheit in den R3-Neuronen kein Asparagin an der Stelle N631Q in die Primärstruktur einbauen konnte.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich der Einbau der mutanten dNR1-Untereinheit in den NMDA-Rezeptoren innerhalb der R3-Neuronen auf die Leistungen im Zusammenhang mit dem visuellen Arbeitsgedächtnis auswirkt. Die statistischen Analysen zeigen, dass die Tiere kein visuelles Arbeitsgedächtnis ausbilden können (vgl. Abb. 50). Der Median des getesteten Stichprobenumfangs der Fliegen mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-dNR1(N631Q) liegt bei 60% und unterscheidet sich damit nicht signifikant zum Zufallsniveau, welches bei 58% liegt. Die Mediane der wildtypischen Gruppe CS und der 189y-GAL4 Kontrolle liegen bei 70%. Beide Gruppen unterscheiden sich hoch und höchst signifikant vom Zufallsniveau.

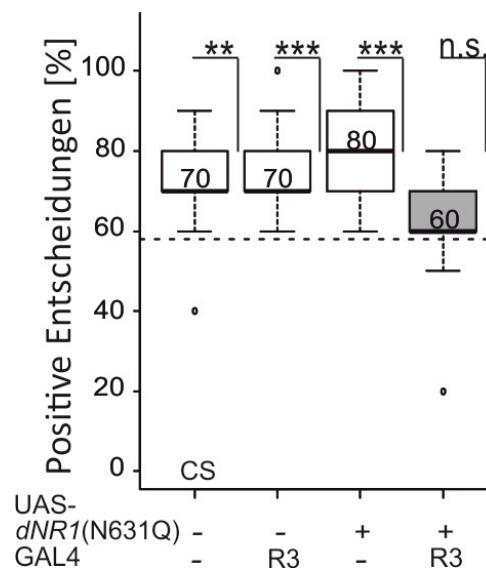


Abb. 50. Visuelles Arbeitsgedächtnis im Detour-Paradigma nach Expression der mutanten dNR1-Untereinheit in R3-Neuronen. Fliegen mit dem Genotyp 189y-GAL4>UAS-dNR1(N631Q) zeigen, dass die Leistung bezüglich des visuellen Arbeitsgedächtnisses herabgesetzt ist (alle Tiere n=15). Statistiken befinden sich im Anhang unter 8.1.21. Konventionen wie für Abb. 17.

Im wildtypischen Fall und in den den Fällen der beiden Kontrollgruppen hängt das Öffnen des Kanals zum einen von dem Transmitter Glutamat und zum anderen von der postsynaptischen Depolarisation auf 0 mV ab. Wenn diese beiden Bedingungen erfüllt sind, sind die Fliegen in der Lage, ein funktionierendes Arbeitsgedächtnis auszubilden. Die Modifikation der dNR1-Untereinheit hat zur Folge, dass der NMDA-Rezeptor in der postsynaptischen

Membran nur durch die Bindung von Glutamat aktiviert wird und Ca^{2+} -unabhängig eines Schwellenwertes bezüglich des Membranpotenzials in die Zelle gelangt.

4. Diskussion

Der Begriff „Memotaxis“ beschreibt die zeitliche Integration einer visuellen Information. Je länger eine Landmarke an einer bestimmten Stelle gesehen wird, desto länger wird sie trotz Alternativen beachtet. „Chemotaxis“ heißt in diesem Zusammenhang, dass das Tier sich stets nach dem aktuellen sensorischen Eingang richtet ohne Nachwirkung eines vorherigen Stimulus. Das Konzept Memotaxis stammt ursprünglich aus der Robotik. In einer künstlichen Umwelt wurden Landmarken alternierend präsentiert, und eine Landmarke war für eine kurze Zeit länger präsent als die andere (vgl. Kap. 1.4). War der Roboter „memotaktisch“ programmiert, so erreichte er zuerst die Landmarke, die für eine kurze Zeit länger erschien als die andere und die Wegstrecke fiel kurz aus. Der „chemotaktisch“ programmierte Roboter hingegen wechselte häufig die Richtung und orientierte sich stets nach dem aktuell detektierbaren, visuellen Stimulus. Zufällig erreichte er eine der beiden Landmarken und die Strecken fielen vergleichsweise lang aus (Castellanos et al., 2008; Strauss et al., 2014). Im Rahmen eigener Vorarbeiten wurde das Memotaxis-Paradigma entwickelt, um das Modell „Memotaxis“ am lebendigen Organismus *Drosophila melanogaster* zu untersuchen.

Gegenstand der Untersuchungen war ein visuelles Kurzzeitgedächtnis mit den Eigenschaften eines Integrators (Flethe, 2013). Wird eine Landmarke länger als eine gleich aussehende, alternative Landmarke gezeigt, so entscheiden sich wildtypische Fliegen für diese Landmarke und bleiben bei ihrer Wahl, wenn die beiden Landmarken danach immer abwechselnd gezeigt werden. Ein Verlust dieses Integrators führt dazu, dass die Fliegen immer auf die gerade sichtbare Landmarke zulaufen, also zickzack laufen. Im Gegensatz dazu war ein visuelles Kurzzeitgedächtnis, auch visuelles Arbeitsgedächtnis genannt, bereits bekannt, das den Fliegen erlaubt, noch ca. vier Sekunden auf eine Landmarke zuzulaufen, die nicht mehr sichtbar ist. Selbst nach einer Ablenkung aus der Landmarkenrichtung können sie in 80% der Fälle wieder auf die ursprüngliche Richtung einschwenken. Die Biochemie und die Lokalisation des sogenannten Detour-Gedächtnisses waren bekannt (Kuntz et al., 2017), so dass Gemeinsamkeiten und Unterschiede untersucht werden konnten.

4.1 Die Rolle des Ellipsoidkörpers bei der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma

Innerhalb des Ellipsoidkörpers ist das visuelle Arbeitsgedächtnis in den R3-Neuronen lokalisiert (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; 2017). Defekte im Gen *ebo*, das für Exportin 6 (Exp6) kodiert (Thran et al., 2013), führen zu einem Verlust des visuellen Arbeitsgedächtnisses und seine Restauration in Ellipsoidkörper-Ringneuronen rettet das Gedächtnis. Exp6 ist ein Transportrezeptor-Protein, welches Profilin-Aktin-Komplexe durch die Kernpore transportiert. Bei *Drosophila melanogaster* können sich Mutationen des Gens *ebo* strukturell unterschiedlich auswirken. In Abhängigkeit des Allels resultiert der strukturelle Defekt in einem ventral geöffneten Ellipsoidkörper (*ebo*^{KS263}) oder in einem nierenförmigen Ellipsoidkörper (*ebo*⁶⁷⁸), der häufig zusätzlich einen zweigeteilten Ellipsoidkörper besitzt. In einigen Fällen konnte auch gezeigt werden, dass der fächerförmige Körper ebenfalls zweigeteilt ist (Hanesch et al., 1989; Strauss und Heisenberg, 1993; Ilius et al., 1994).

In dieser Doktorarbeit wurde der Versuch unternommen, die Gedächtnisbildung in Form des visuellen Kurzzeitintegrators in einem der Subtypen der Ringneuronen des Ellipsoidkörpers zu lokalisieren.

Wird TNT in einem der vier von fünf Ringneuronen R1–R4 exprimiert und ihre chemischen Synapsen inaktiviert, so waren die Laufspuren deutlich weniger zielgerichtet, als bei den Kontrollgruppen. Die Unterbrechung der synaptischen Informationsübertragung mittels TNT zeigt, dass die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma in allen vier Fällen deutlich herabgesetzt ist (vgl. Abb. 19). Für die Expression von TNT in den vier Subtypen der Ringneuronen wurde der R1-Treiber 198y-GAL4, der R2-Treiber VT49921-GAL4, der R3-Treiber 189y-GAL4 und der R4d-Treiber VT043679-GAL4 verwendet. Im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen fällt die zurückgelegte Strecke in allen vier Kreuzungen deutlich länger aus als die der Kontrollen. Betrachtet man jedoch die Auswahl der Landmarken, so erfolgt die Auswahl nur zielgerichtet zugunsten der Landmarke, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war, wenn die synaptische Informationsübertragung in den R4d-Neuronen unterbrochen wird. Steht UAS-TNT^{PIN7.2} unter der Kontrolle des *ftz-(ng)*-Treibers oder des R4m-Treibers VT25526-GAL4, so ist die F1-Generation letal (Diplomarbeit S. Flethe, 2013).

Die Treiberlinie 198y-GAL4 exprimiert in den R1-Neuronen des Ellipsoidkörpers (Renn et al., 1999). Dieser Neuronentyp verläuft durch die Bulbi, hat dort aber weniger dendritische Verzweigungen als die R3- und R4-Neuronen. Anders als die R2-, R3- und R4-

Neuronen verzweigen sich R1-Neuronen im posterioren Bereich des Ellipsoidkörpers (Hanesch et al., 1989; Renn et al., 1999; Wolff et al., 2015). Weiterhin unklar bleibt, wo genau die synaptischen Verbindungen zu den zugehörigen Präsynapsen gebildet werden. Als Eingangsstationen werden die Bulbi in Erwägung gezogen (Hanesch et al., 1989). Aber auch das posteriore Ringsystem wird als Eingangs-Domäne bezeichnet, die von kolumnären EB.t-Neuronen kontaktiert wird, während kolumnäre EB.w-Neuronen als Ausgangsstationen betrachtet werden (vgl. Abb. 7) (Wolff et al., 2015). Die E-PG-Neuronen (EB.w-Neuronen) und P-EN-Neuronen (EB.t-Neuronen) bilden eine Rückkopplungsschleife, die zum einen die Information bezüglich der Drehbewegungen der Fliege während der Fortbewegung, und zum anderen Informationen bezüglich des Kurses enthält. Davon führen 54 E-PG-Neuronen vom Ellipsoidkörper zu der Protocerebralbrücke und bilden dort ihre Postsynapsen. Je drei der E-PG-Neuronen sind mit den Postsynapsen eines P-EN-Neurons von einem Glomeruli gekoppelt. Bei einer Drehung der Fliege im Uhrzeigersinn wird das sektorförmige Signal der E-PG-Neuronen gegen den Uhrzeigersinn verschoben und umgekehrt (Turner-Evans et al., 2017). Da das Signal in den E-PG-Neuronen eine sektorförmige Ca^{2+} -Aktivität zeigt, wenn die Fliege in eine Richtung läuft (Turner-Evans et al., 2017) und die Ringneuronen kreisförmig im Ellipsoidkörper angeordnet sind (Renn et al., 1999), ist zu vermuten, dass auch die Ringneuronen bezüglich ihrer synaptischen Aktivität sektorförmig im Bereich ihrer Postsynapsen aktiviert werden können. Wenn der Ellipsoidkörper lediglich als Durchgangsstation für die visuelle Information dient, ist es für die Kartierung des gesamten Netzwerkes bezüglich des memotaktischen Verhaltens notwendig, sowohl die Funktion der P-EN- als auch die der E-PG-Neuronen näher zu untersuchen.

Um den Subneuronentyp des Ellipsoidkörpers zu identifizieren, der die visuelle Information in einem memotaktischen Gedächtnis hinterlegt, wurde die wildtypische cDNA von *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund in einem der vier Ringneuronen exprimiert. Anhand der Ergebnisse lassen sich damit Aussagen bezüglich der Funktion des Neuronentyps nach der Verhaltensanalyse treffen. Im Detour-Paradigma konnte gezeigt werden, dass das Gen *ebo* eine nicht-zellautonome Funktion steuert. Wenn das intakte Gen in einem der vier Ringneuronensysteme der Mutante exprimiert wird, zeigten die Tiere wildtypisches Verhalten, obwohl die Funktion des Gens in den anderen Subtypen nicht vorhanden ist. Auf diesen Erkenntnissen basierend wurde davon ausgegangen, dass das Detour-Gedächtnis von Gasotransmittern reguliert wird (Thran et al., 2013), was von Kuntz et al. (2017) bestätigt werden konnte.

Zunächst wurde für die weiteren Verhaltensanalysen im Memotaxis-Paradigma die Effektorlinie $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/FM7a$ in Betracht gezogen. Die zurückgelegte Strecken der Männchen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ unterscheiden sich nicht signifikant von den Strecken der wildtypischen Fliegen, jedoch erfolgt die Landmarkenauswahl zufällig (vgl. Abb. 20). Aufgrund dessen eignete sich diese Linie für weitere Rettungsversuche nicht. Die Mutanten der Stämme ebo^{678} und ebo^{KS263} zeigen in Kombination mit einer längeren Wegstrecke zugleich eine zufällige Auswahl der Landmarke (Flethe, Diplomarbeit 2013, vgl. Abb. 15 und Abb. 16). Daher wäre zu erwarten gewesen, dass Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y$ längere Strecken zurücklegen und dies statistisch nachweisbar ist.

Die wildtypische Verhaltensweise bezüglich der Strecken könnte auf die sogenannte Leckexpression zurückzuführen sein. Diese kann auftreten, wenn die Insertionsstelle in der Nähe eines Promotors integriert wurde. Eine geringe Expressionsrate der wildtypischen cDNA könnte ausreichen und es den Fliegen ermöglichen, die Landmarke zu erreichen und eine geringere Distanz zurückzulegen. Eine weitere Möglichkeit wäre, dass neben EXP6 weitere Proteine existieren, die zur Importin- β -Superfamilie gehören und mit der Zeit den Transport von G-Aktin aus dem Nukleus in das Cytosol übernehmen und damit den Verlust der Funktion von EXP6 kompensieren können.

In einem nächsten Schritt wurde die visuelle Orientierung von Fliegen mit dem Genotyp $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/II$ im Memotaxis-Paradigma untersucht. Um zu überprüfen, ob die Männchen der Linie einen deformierten Ellipsoidkörper besitzen, wurden zuvor histologische Präparate angefertigt. Die untersuchten männlichen Fliegen zeigten eine deutliche Deformation im Bereich des Ellipsoidkörpers (vgl. Abb. 21). Da die Männchen, ähnlich wie die Männchen des Stammes ebo^{678} , deutlich längere Wegstrecken im Vergleich zum wildtypischen Stamm zurücklegen und die Auswahl der Landmarken ebenfalls zufällig erfolgt (vgl. Abb. 23), wurde dieser Stamm für die Expression der wildtypischen cDNA von ebo^+ verwendet. Weibchen des Stammes wurden mit Männchen des Stammes 189y-GAL4 und $ftz-(ng)$ -GAL4 verpaart.

Die entsprechenden Tiere aus der F1-Generation beider Kreuzungen zeigten, dass sie nicht in der Lage waren, die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf zielgerichtet anzulaufen. Sie wechselten häufiger die Richtung und liefen zeitweise auch die andere Landmarke an, so dass die Strecken bis zum Erreichen einer Landmarke länger ausfielen, als die Strecken der Kontrollgruppen (vgl. Abb. 24). Die deutlich längeren Wegstrecken lassen darauf schließen, dass die Fliegen ein eingeschränktes memotaktisches Gedächtnis besitzen und sich damit auf

dem Niveau der *ebo*⁶⁷⁸-Mutanten befinden (vgl. Abb. 24). Bezüglich des memotaktischen Verhaltens kann daher nicht auf eine nicht-zellautonome Funktion geschlossen werden, die von *ebo* reguliert würde. Dies steht im Gegensatz zur Regulation einer nicht-zellautonomen Funktion von *ebo* für das visuelle Arbeitsgedächtnis. Dort führt die Expression wildtypischer cDNA von *ebo*⁺ in einem der vier Ringneuronen zu einer Wiederherstellung des Arbeitsgedächtnisses (Thran et al., 2013). Die regulierte, nicht-zellautonome Funktion von *ebo* in allen vier Ringsystemen zeigt, dass ein diffusibler Faktor an der Etablierung des visuellen Arbeitsgedächtnisses beteiligt ist. Studien zur Folge soll die Regulation des Enzyms, welches diesen diffusiblen Faktor produziert, unter der Kontrolle des Transkriptionskomplexes dSRF/dMRTF stehen (Thran et al., 2013; Kuntz et al., 2017). Dies wurde von Kuntz et al. (2017) bestätigt, da sowohl NO als auch H₂S in der wildtypischen Signalkaskade des Arbeitsgedächtnisses gefunden wurden. Thran et al. (2013) hat aber gezeigt, dass der strukturelle Defekt des Ellipsoidkörpers in *ebo*-Mutanten nicht gerettet wird, wenn nur eines der Ringneuronen-Systeme mit der wildtypischen *ebo*-cDNA gerettet wird. Memotaxis könnte also eine intakte Struktur des Ellipsoidkörpers erfordern, was durch den Treiber *Poxn*-GAL4 (Boll und Noll, 2002) möglich wäre.

Es kristallisiert sich heraus, dass das memotaktische Verhalten auf biochemischer Ebene eine andere Verarbeitung benötigt als die Prozesse, die das visuelle Arbeitsgedächtnis regulieren. Im Memotaxis-Paradigma könnte es sein, dass der Fokus der Fliege auf eines von zwei Objekten beschränkt werden muss, während die Wahrnehmung des anderen Objektes inhibiert wird. Markus Mronz (Dissertation, 2004) hat allerdings eine alternative Erklärung: Er nahm in seinem Modell eine Gewichtungsfunktion bezüglich des Sehfeldes der Fliege an. Im frontalen Sehfeld bei 0° hat eine Landmarke für die Fliege eine höhere Wertigkeit. Diese Wertigkeit nimmt im Bereich des lateralen Sehfeldes bis plus/minus 100° ab. Ab 110° wird dann von dem Objekt weggelaufen, im Modell nimmt er eine negative Wertigkeit an (Mronz, M., Dissertation 2004). Nach diesem Modell von Markus Mronz würde die Fliege auf die zuerst sichtbare Landmarke zulaufen und dadurch die andere Landmarke automatisch in eine ungünstigere Position auf dem Komplexauge kommen.

Eine Expressionsanalyse von NOS zeigt, dass NOS bei *Drosophila* vermutlich präsynaptisch in R3-Neuronen und vielleicht in R2-Neuronen lokalisiert ist, aber nicht in den lateralen Triangeln bzw. den Bulbi (Kuntz et al., 2017), den Eingangsstationen des Ellipsoidkörpers (Omoto et al., 2017). Wenn in einem *ebo*-mutanten Hintergrund die wildtypische cDNA von *ebo*⁺ in R1-Neuronen exprimiert wird, so kann das visuelle Arbeitsgedächtnis aber dennoch

auf das wildtypische Niveau angehoben werden. Dies geschieht durch die Cystathionin- γ -Lyase (CSE) und Cystathionin- β -Synthase (CBS), die dann den Gasotransmitter H_2S produzieren. H_2S inhibiert die PDE6, so dass cGMP nicht abgebaut werden kann (Kuntz et al., 2017).

Für die Verarbeitung visueller Informationen werden aber alle vier Subtypen der Ringneuronen im Ellipsoidkörper benötigt (Neuser et al., 2008; Dewar et al., 2015). Dies gilt auch für das Detour-Paradigma. Wird TNT in einem der vier Subtypen der Ringneuronen exprimiert, so fällt das visuelle Arbeitsgedächtnis aus (Neuser et al., 2008). R1-Neuronen werden für das Ortsgedächtnis im Cold-Spot-Paradigma, benötigt. Im Cold-Spot-Paradigma zeigte sich, dass Fliegen sich anhand von visuellen Mustern im Raum orientieren können, und dass dazu die R1-Neuronen benötigt werden (Ofstad et al., 2011). Das Ortsgedächtnis, welches Fliegen in der Hitzebox ausbilden, steht unter der Kontrolle des serotonergen Systems. In der Hitzebox, die aus zwei Kammern besteht, wird eine der Kammern auf eine für Fliegen unangenehme Temperatur aufgeheizt. Wird wildtypischen Fliegen der Serotonin-Inhibitor α -Methyl-Tryptophan verabreicht, so bilden sie kein Ortsgedächtnis mehr aus (Sitaraman et al., 2008; Sitaraman und Zars, 2010;). R2- und R4d-Neuronen reagieren mit einem erhöhten Ca^{2+} -Spiegel in Abhängigkeit visueller Landmarken (Seelig und Jayaraman, 2013, 2015). Es wäre möglich, dass der Organismus die visuelle Aufmerksamkeit zunächst auf die Landmarke richtet, um die eigene Position in Kombination mit der externen Umwelt (hier die Landmarke) zu integrieren. Ein anderer Gedanke wäre, dass in diesem Fall auch die Gewichtungsfunktion nach M. Mronz (2004) greift: Erscheint ein visuelles Objekt im frontalen Sehfeld, so hat dies eine höhere Gewichtung als ein visuelles Objekt im lateralen Sehfeld.

Wie in Kap. 4.7 näher erläutert wird, deutet die vorliegende Arbeit darauf hin, dass die synchrone Aktivität der vier Ringneuronen-Subtypen innerhalb des Ellipsoidkörpers für die Regulierung des memotaktischen Verhaltens benötigt werden könnte.

4.2 Pilzkörper und die visuelle Kurzzeitintegration

Die Treiberlinie 189Y-GAL4 sorgt, in Kombination mit dem UAS-TNT Konstrukt, für eine Expression von TNT innerhalb der R3-Neuronen, aber auch innerhalb der α/β -Loben der Pilzkörper. Außerdem kann eine schwache Expression innerhalb der γ -Loben gezeigt werden (Zars et al., 2000). Der Effekt, der durch die Verwendung des Treibers mit UAS-TNT ausgelöst wird, könnte auch auf die Neuronen der α/β -Loben der Pilzkörper zurückzuführen sein. Um dies zu überprüfen, wurde TNT im Bereich des Pilzkörpers exprimiert. Die Treiberlinie

mb247-GAL4 exprimiert stark in den α/β - und γ -Loben der Pilzkörper, weniger stark in den $\alpha'\beta'$ -Neuronen (Krashes et al., 2007). Es lässt sich aber auch eine schwächere Expression im Ellipsoidkörper nachweisen (Poeck et al., 2008). Wenn der Pilzkörper für das memotaktische Verhalten keine Rolle spielt, sollte sich die entsprechende Kreuzung wildtypisch verhalten. Wie aus Abb. 27 hervor geht, ist dies jedoch nicht der Fall, da die zurückgelegten Strecken deutlich länger ausfallen. Hier wäre eine zeit- und gewebeabhängige Expression von TNT hilfreich, genauere Aussagen über die Funktion der Pilzkörper zu treffen bzw. um entwicklungspezifische Effekte auszuschließen. Temperaturabhängige Versuche zeigten jedoch, dass wildtypische männliche Fliegen des Stammes CS nicht in der Lage waren, sich im Memotaxis-Paradigma zu orientieren, wenn sie bei 18° aufwuchsen (F2-Praktikum J. Diehl; Daten unveröffentlicht). Daher wäre ein anderes System zur Kontrolle der raum- und zeitspezifischen Expression, wie z.B. das hormonabhängige GeneSwitch-System (Nicholson et al., 2008), für zukünftige Studien besser geeignet.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Expression von TNT unter der Kontrolle von mb247-GAL4 eine Einschränkung in der Etablierung des memotaktischen Gedächtnisses nach sich zieht (vgl. Kap. 3.3). Da die Expression von TNT hauptsächlich in den α/β - und γ -Loben der Pilzkörper und in einem geringeren Umfang in den $\alpha'\beta'$ -Neuronen und dem Ellipsoidkörper erfolgt (Poeck et al. 2008), besteht die Möglichkeit, dass entweder alle diese Neuronentypen oder mindestens ein Neuronentyp an der Verhaltenssteuerung im Memotaxis-Paradigma beteiligt ist. Da die geringe Expression während der Entwicklung im Ellipsoidkörper nur sehr schwach auftritt (Poeck et al., 2008), wurde zunächst angenommen, dass männliche Fliegen mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} eine geeignete Kontrollgruppe für die in Kap. 3.1 beschriebenen TNT-Versuche darstellen. Bezüglich des Verhaltens der Fliegen mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} zeigte sich jedoch, dass die Fliegen häufiger die Richtung wechselten, woraus die längeren Strecken resultieren (Flethe, Diplomarbeit 2013). Bemerkenswert ist, dass die mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf bevorzugt auswählen, die Anzahl der Anläufe unterscheidet sich höchst signifikant vom Zufallsniveau. Bei der chemotaktischen Programmierung eines Roboters innerhalb einer Arena mit zwei unterschiedlich lang gezeigten, alternierenden Landmarken zeigte sich, dass die Anzahl der Schritte und die Richtungswechsel deutlich höher bis zum Erreichen der mit einer höheren Wahrscheinlichkeit sichtbaren Landmarke waren (Berg, Dissertation 2013; Strauss et al., 2014).

Eine Beteiligung der Neuronen des Pilzkörpers an der visuellen Kurzzeitintegration kann mit der vorliegenden Studie nicht eindeutig ausgeschlossen werden, andererseits zeigt die Treiberlinie mb247-GAL4 eine schwache Expression im Ellipsoidkörper (Poeck et al., 2008). Um zu überprüfen, ob das Verhaltensdefizit von Fliegen mit dem Genotyp mb247-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} auf die geringe Expression innerhalb des Ellipsoidkörpers zurückzuführen ist, könnte man einen weiteren Treiber verwenden, der ausschließlich im Pilzkörper die Expression von TNT steuert.

Es gibt Studien, die den Pilzkörpern Funktionen bei der Unterscheidung sensorischer Eingänge und deren Integration in anderen Bereichen, der Kontrolle eines komplexen Verhaltensrepertoires und der räumlichen Orientierung zuschreiben (Strausfeld et al., 1998). Der Pilzkörper zeigt weiterhin höher geordnete Gehirnfunktionen, ähnlich wie der Hippocampus der Vertebraten, so dass von einem hoch organisierten Netzwerk mit stark differenzierten Neuronen ausgegangen werden kann (Ito et al., 1997). Auch bei den Vertebraten sind Ortszellen, Rasterzellen und Geschwindigkeitszellen zur Ausbildung eines Ortsgedächtnisses im Hippocampus erforderlich (O'Keefe et al., 1998; Abbot und Callaway, 2014; Kropff et al., 2015).

Genetische Manipulationen konnten im Zusammenhang mit Verhaltensstudien zeigen, dass die Pilzkörper multisensorisches Lernen vermitteln und auch komplexere Phänomene wie die Aufmerksamkeit steuern können (Waddel und Quinn, 2001; Van Swinderen, 2011; Koenig et al., 2016a; 2016b). Ablationen des Pilzkörpers konnten zeigen, dass das Lernen von Objekten im visuellen Kontext unterbrochen ist, Fliegen konnten Objekte nur noch im Zusammenhang mit der Farbe des Hintergrunds erlernen (Liu et al., 1999). Die Pilzkörper übernehmen auch eine Rolle beim Lernen von Zusammenhängen im visuellen Kontext im Flugsimulator (Zars et al., 2000) und der kontextabhängigen Assoziation bzw. beim Lernen von visuellen Zusammenhängen (Renn et al., 1999). Damit ist der Pilzkörper in komplizierte visuelle Verarbeitungsstrategien involviert, wie auch bei der Ausbildung einer Präferenz im Zusammenhang von Farben oder Mustern und bei der Verarbeitung gegensätzlicher Umgebungsreize (Tang und Guo, 2001; Zars et al., 2010).

Untersuchungen bezüglich der visuellen Aufmerksamkeit im Flugsimulator zeigten, dass sich die Fliege für eine von zwei visuellen Landmarken entscheidet, wenn eine der Landmarken durch ein Flickern interessanter gemacht wird. Da die Fliege hier aber stationär fliegt, befindet sich in diesem Fall die Landmarken auf spiegelsymmetrischen Retinapositionen, jeweils eine auf einem der beiden Komplexaugen. Besonders das dopaminerge System und

die Pilzkörper üben Einfluss auf das visuelle Entscheidungsverhalten bzw. die visuelle Aufmerksamkeit aus. So zeigten Fliegen, in denen der Dopamintransporter dDAT in den rund 90 dopaminergen $\alpha\beta_{\text{posterior}}$ -Kenyonzellen der Pilzkörper mittels RNAi degradiert wurde, dass sie eine reduzierte, visuelle Aufmerksamkeit besitzen. Die visuelle Aufmerksamkeit auf die blinkende Landmarke verschwindet nach ca. vier Sekunden, der sogenannten Aufmerksamkeitsspanne der Fliege. Auch dieses Verhalten könnte eine Art von visuellen Arbeitsgedächtnis umfassen (Koenig et al., 2016a; 2016b). Innerhalb von vier Sekunden kann sich die freilaufende Fliege im Memotaxis-Paradigma problemlos auf die andere blinkende Landmarke zugedreht haben, so dass ab der Drehung die von Mronz (2004) postulierte Gewichtsfunktion greifen könnte. In den meisten Fällen jedoch drehen sich wildtypische Fliegen nicht in Richtung der anderen Landmarke, sondern sind in der Lage, ihren Kurs beizubehalten. Aktuelle Annahmen gehen deswegen davon aus, dass die Information über die Landmarke in einer sehr kurzlebigen Form des Gedächtnisses, dem Integrator, hinterlegt wird.

Der Pilzkörper scheint einen Schwellenwert zu modulieren, ab dem ein visueller Stimulus wahrgenommen werden kann (Xi et al., 2008; van Swinderen, 2011). Basierend auf diesen Studien besteht die Hypothese, dass die Pilzkörper die selektive visuelle Aufmerksamkeit und die visuelle Orientierung steuern könnten. Die vorliegende Studie unterstützt diese Hypothese, da die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma deutlich herabgesetzt ist, wenn TNT im Muster von mb247-GAL4 exprimiert wird. Allerdings wird während der Entwicklung TNT auch leicht innerhalb des Ellipsoidkörpers exprimiert (Poeck et al., 2008).

Die Pilzkörper könnten an der Suppression der motorischen Aktivität beteiligt sein und damit die Funktion eines Tormechanismus für die visuelle Wahrnehmung übernehmen (van Swinderen, 2011). Dies würde das mangelnde, zielgerichtete Verhalten erklären, welches Fliegen zeigen, wenn TNT im Muster der Treiberlinie mb247-GAL4 exprimiert wird. An den Laufspuren betroffener Fliegen ließ sich erkennen, dass die Tiere häufiger die Richtung wechselten, die Laufspuren erschienen häufig zickzackförmig. Zeitweise liefen sie auch in die Richtung der anderen Landmarke, wechselten erneut die Laufrichtung bevor sie sie nochmals wechselten (Abb. 26). Statistisch zeigt sich, dass die Wegstrecken dadurch deutlich länger ausfallen im Vergleich zu den wildtypischen Strecken (vgl. Abb. 27). In Zukunft sollten Treiberlinien verwendet werden, die ausschließlich im Pilzkörper exprimieren, um exaktere Aussagen treffen zu können.

Bei Bienen und auch bei anderen Insekten konnte festgestellt werden, dass die Axone der Retinulazellen mit der Lamina oder der Medulla verschaltet sind. Von dort und von der Lobu-

la aus führen Interneuronen in das Protocerebrum, die Pilzkörper und in die visuellen Loben der kontralateralen Hälfte des Gehirns. Auch den Pilzkörpern der Bienen wird eine multisensorische Integration zugeschrieben (Niggebrügge, Dissertation 2008). Dabei stellen die Calices den Haupteingang dar, der sowohl olfaktorische als auch visuelle Informationen erhält. Bei den Bienen ist jedoch auch zu berücksichtigen, dass sie zwei Calices pro Hemisphäre besitzen (Rybak, 1994; Niggebrügge, 2008). Die Kenyon-Zellen liegen bei *Drosophila melanogaster* dorso-posterior im Cortex des Protocerebrums. Die Fasern, die ins Innere der Pilzkörper führen, bilden die Calices. Sie erhalten dort Informationen von den Interneuronen der Antennalloben und auch Informationen von anderen Interneuronen verschiedener, anderer sensorischer Eingänge (Power, 1943; Strausfeld, 1976; Stocker et al., 1990; Ito et al., 1997). Von den Calices aus verlaufen die Axone durch die Pedunculi in Richtung des anterioren Protocerebrums, wo sie die α/β -, α'/β' - und γ -Loben bilden (Ito et al., 1997). Mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie und der GRASP-Technik konnten bei *Drosophila melanogaster* Belege identifiziert werden, die eine Verbindung zwischen dem RF-Trakt des Ellipsoidkörpers und den Loben der Pilzkörper vermuten lassen (Zhang et al., 2013).

Weiterhin verursacht das Allel *ebo*⁶⁷⁸ nicht nur die Deformation des Ellipsoidkörpers und die Zweiteilung des fächerförmigen Körpers, sondern auch Entwicklungsdefekte der Pilzkörper. Missbildungen im Bereich der Loben und Calices konnten beobachtet werden (de Belle und Heisenberg, 1996). Auch hier stellt sich die Frage, ob das Verhaltensdefizit im Memotaxis-Paradigma auf die Deformation des Ellipsoidkörpers oder der Pilzkörper zurückzuführen ist.

Insgesamt häufen sich die Studien, die eine Beteiligung der Pilzkörper an der Verarbeitung visueller Informationen annehmen. Die Pilzkörper regulieren nicht nur die lokomotorische Aktivität und sind am motorischen Lernen beteiligt (Martin et al., 1998; Serway et al., 2009), sie haben auch an komplexen Formen des visuellen Lernens und an der Bildung eines Ortsgedächtnisses teil (Tanaka et al., 2008). Die vorliegende Studie zeigt, dass α/β - und γ -Loben der Pilzkörper auch die Regulation des memotaktischen Verhaltens und die Kurzzeitintegration übernehmen könnten.

4.3 Die Rolle des cAMP-Signalwegs für die Aktivierung eines visuellen Kurzzeitintegrators

Mit Hilfe des sekundären Botenstoffs cAMP sind Zellen in der Lage, Signale, die extern auf die Zelle einwirken, intern in ein biochemisches Signal zu transformieren, um entsprechend darauf reagieren zu können (Kandel, 2012, vgl. Kap. 1.2). Die AC, die bei *Drosophila* durch das Gen *rut* codiert wird, spaltet ATP in Pyrophosphat und cAMP. Ein hoher cAMP-Spiegel im intrazellulären Raum kann weitere Proteine, wie z.B. die PKA aktivieren (Colledge and Scott, 1999; Rubin, 1994; Kandel et al., 2012).

Bei der Meeresschnecke *Aplysia* ist bekannt, dass der cAMP-Signalweg sowohl für die Etablierung des Langzeit- als auch des Kurzzeitgedächtnisses im Zusammenhang mit der Sensitivierung bezüglich des Kiemen-Rückzugreflexes benötigt wird (Hättig, 2009; Kandel, 2012). In *Aplysia* (klassische Konditionierung des Kiemenrückzugreflexes) und in *Drosophila* (olfaktorische klassische Konditionierung) aktiviert ein hoher cAMP-Spiegel die PKA, die wiederum Membrankanäle phosphoryliert, so dass diese ihre Permeabilität bezüglich bestimmter geladener Ionen verändern. Dadurch wird innerhalb der Postsynapse erreicht, dass das exzitatorische postsynaptische Potenzial leichter ausgelöst werden kann (Kandel, 2012). Die Hydrolyase PDE, die durch das Gen *dnc* codiert wird, baut den cAMP-Spiegel wieder ab und wirkt der AC entgegen.

Die Verkettung dieser Proteine ist im Tierreich weit verbreitet und konnte auch bei *Drosophila* bei der olfaktorischen klassischen Konditionierung nachgewiesen werden (Waddel und Quinn, 2001). Die posttranslationale Modifikation von Proteinen wird besonders für die Etablierung eines Kurzzeitgedächtnisses benötigt. Sie spielt aber auch bei der LTP eine entscheidende Rolle. Exzitatorische Synapsen können nach der Aktivierung durch einen Stimulus ihre Erregbarkeit verändern und diese Änderung für viele Stunden beibehalten. Im Gegensatz zur Konsolidierung ist in diesem Fall keine Genexpression notwendig. Für das Langzeitgedächtnis bei Invertebraten wie *Aplysia* oder *Drosophila* ist eine dauerhafte, strukturelle Modifikation von Neuronen erforderlich, die durch die Regulation der Genexpression erreicht werden kann. Dies geschieht, sobald die PKA über einen längeren Zeitraum oder aber mehrfach aktiviert wird (vgl. Abb. 1) (Hättig, 2009; Waddel und Quinn, 2001; Kandel, 2012) und unterscheidet sich damit von der LTP im Hippocampus der Vertebraten. *rut*¹ und *dnc*¹ sind die klassischen Lernmutanten. Sie zeigen Defizite in der olfaktorischen Konditionierung bei *Drosophila melanogaster* (Tully und Quinn, 1985; Armstrong et al, 1998). Die AC sowie

die PDE regulieren bei *Drosophila melanogaster* das cAMP-Signal im Pilzkörper. Im Zusammenhang mit dem visuellen Arbeitsgedächtnis ist der aktuelle Forschungsstand, dass die PKA den Transkriptionsfaktor dCREB phosphoryliert, und dieser die Transkription bestimmter Kompetenzfaktoren einleitet (Kuntz et al., 2017). Während für die AC bisher sieben Polypeptide bekannt sind (Flybase), gibt es bei *Drosophila* sechs verschiedene PDEs (Day et al., 2005).

Das x-chromosomale Gen *dnc¹* ist ein hypomorphes Allel und codiert die PDE4 der Fliege. Mit Hilfe eines Phosphodiesterase-Assays konnte festgestellt werden, dass die Hydrolyse von cAMP im Vergleich zum wildtypischen Stamm CS vermindert ist. Die PDE4 ist dualspezifisch, d.h. sie kann neben cAMP auch cGMP hydrolysieren (Davis und Kiger, 1981). Die vorliegenden Ergebnisse hemizygoter Männchen des Stammes *dnc¹* sowie der homozygoten Weibchen lassen keine eindeutige Aussage zu, ob die PDE4 auch für die Regulation der kurzzeitigen Speicherung der visuellen Information in Abhängigkeit alternierender, visueller Stimuli beteiligt ist (vgl. Kap. 3.4). Die Wegstrecken der Männchen und die der Weibchen unterscheiden sich nicht von den Strecken des wildtypischen Stammes CS. Der Unterschied zwischen den getesteten Gruppen ist jedoch, dass die Männchen des Stammes *dnc¹* die Landmarken zufällig auswählen, die Weibchen hingegen laufen häufiger die Landmarke an, die zu Beginn für drei Sekunden sichtbar ist. An den Laufspuren der Männchen war zu beobachten, dass sie, sobald sie die Plattform betraten, in Richtung einer der beiden Landmarken liefen, unabhängig davon ob eine sichtbar war oder nicht. Es schien so, als ob sie gar nicht in der Lage waren, ein zweites visuelles Objekt wahrzunehmen, während das andere verschwand. Möglicherweise ist dies auf einen geschlechterspezifischen Unterschied zurückzuführen. Während die Männchen des Stammes *dnc¹* in ihrem Verhalten zeigen, dass sie, bezüglich der Auswahl eines Objektes unflexibel reagieren, zeigen die Weibchen des Stammes *dnc¹*, dass sie sehr wohl in der Lage sind, das andere visuelle Objekt wahrzunehmen und anzulaufen. Auffällig bei den scheinbar zufällig ausgewählten Landmarken der männlichen Tiere ist, dass die zurückgelegte Strecke sich nicht von der wildtypischen Strecke unterscheidet. Dies spricht für zielgerichtetes Laufverhalten einerseits, aber einem unflexiblen Wahlverhalten andererseits. Aufgrund der 50% Restaktivität des Allels der PDE4 (Davis und Kiger, 1981) sind die Ergebnisse auch im Detour-Paradigma nicht eindeutig (Neuser et al., 2008). Die vorliegende Studie zeigt, dass es bezüglich des Gens *dnc¹* einen Geschlechtsdimorphismus bei der Landmarkenauswahl gibt.

Fliegen mit dem heterozygoten Allel *Pka-C1^{H2}* zeigen eine wildtypische visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma (vgl. Abb. 28). Jedoch ist das Allel stark amorph und homozygot letal, Träger des heterozygoten Allels zeigen eine um nur 50% geringere PKA-Aktivität (Zhao et al., 2013). Für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma war die verbleibende Aktivität der PKA in heterozygoten Mutanten ausreichend. Um die PKA in ihrer enzymatischen Aktivität stärker zu beeinträchtigen, können RNAi-Einheiten gezielt in einem der vier untersuchten Subtypen der Ringneuronen exprimiert werden. *Knockdown*-Versuche zeigten, wenn in R1-Neuronen (Treiber 198y-GAL4) RNAi gegen die katalytische Untereinheit C1 der PKA in den R1-Neuronen exprimiert wird, die Strecken sich nicht signifikant von den wildtypischen Strecken des Stammes CS unterscheiden (assoziierte Bachelorarbeit, Dorschel, S.; 2015). Hier wurde die Überlegung aufgestellt, dass die verwendete Treiberlinie 198y-GAL4 nicht für eine ausreichende Expression von GAL4 sorgte. Wird jedoch dieselbe Treiberlinie verwendet, um die Untereinheit C2 der PKA in R1-Neuronen zu degradieren, so zeigten entsprechende Tiere einen Orientierungsverlust bezüglich des memotaktischen Verhaltens. Diese Ergebnisse suggerieren, dass die PKA an der visuellen Kurzzeitintegration beteiligt ist (Dorschel, S.; 2015).

Die PKA ist ein Tetramer und besteht aus zwei regulatorischen und zwei katalytischen Untereinheiten (Melendez et al., 1995; Bettencourt da Cruz et al., 2008). Die Zusammensetzung der PKA, also welche der drei bekannten C-Untereinheiten für die zwei Plätze benutzt werden, ist unbekannt. Denkbar ist also, dass C1 im Memotaxis-Gedächtnis keine Rolle spielt. Da bei *Drosophila melanogaster* von der C1-Untereinheit wiederum drei Transkripte und drei Polypeptide bekannt sind (Flybase), ist es auch denkbar, weitere PKA-Mutanten bezüglich der C1-Untereinheit, sowie bezüglich der C3-Untereinheit, zu analysieren. Dadurch werden sich exaktere Aussagen über die Funktion der PKA im Zusammenhang mit dem visuellen Kurzzeitintegrator treffen lassen.

Heterozygote *Pka-C1^{H2}*-mutante Tiere zeigen auch keinen Effekt bei der aversiven, olfaktorischen Konditionierung (Tully und Quinn, 1985). Im Bezug zum visuellen Arbeitsgedächtnis hingegen konnte gezeigt werden, dass Fliegen mit dem heterozygoten Allel *Pka-C1^{H2}* ein reduziertes visuelles Arbeitsgedächtnis besitzen (Detour-Paradigma; Kuntz, Dissertation 2015). Hier wurde die C1-Untereinheit konditional im Adultstadium herunter reguliert, jedoch nicht in den R1-Neuronen. Sowohl die Degradierung der C1- als auch der C3-Untereinheit hatten eine Einschränkung des visuellen Arbeitsgedächtnisses im Detour-Paradigma zur Folge, nicht aber die Degradierung der C2-Untereinheit (Kuntz, Dissertation

2015). Dieses negative Ergebnis für das visuelle Arbeitsgedächtnis dient gleichzeitig als Beweis dafür, dass die Defekte im Memotaxis-Verhalten nach der oben erwähnten C2-RNA Interferenz in R1-Neuronen höchst relevant und keine *Off-Target*-Effekte sind. In diesem Zusammenhang betrachtet, beginnt sich weiter heraus zu kristallisieren, dass das memotaktische Gedächtnis in Form eines anderen biochemischen Signalwegs kontrolliert wird, als das Detour-Gedächtnis.

Sucht man nach einem Zielprotein der PKA-Phosphorylierung für das extrem kurzlebige Memotaxis-Gedächtnis, so kommt Synapsin in Frage. Synapsin ist ein Phosphoprotein und mit synaptischen Vesikeln im *reserve pool* assoziiert. Bei *Aplysia* phosphoryliert PKA unter anderem Synapsin, um die Exocytose einzuleiten (Fiumara et al., 2004). Bei Säugetieren besitzt der N-Terminus von Synapsin Bindedomänen für PKA und Ca^{2+} /CaM-abhängige Protein-kinasen I/IV (Diegelmann et al., 2006). Bei *Drosophila melanogaster* konnte ebenfalls ein Gen, *synapsin* (*syn*), identifiziert werden (Klagges et al., 1996). Während die synaptische Struktur intakt erscheint, zeigen die Mutanten von *syn* Defekte im Zusammenhang mit Lernen und Gedächtnis (Godenschwege et al., 2004; Michels et al., 2005).

Die Degradierung der mRNA von *rut* zeigt, dass in allen vier Subtypen der Ringneuronen die Strecken deutlich länger im Vergleich zu den Kontrollen ausfallen. Dabei spielte es hinsichtlich der Streckenlänge keine Rolle, in welchen der vier Subtypen der Ringneuronen des Ellipsoidkörpers die mRNA von *rut* degradiert wurde (vgl. Abb. 31 B). Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma reduziert ist, oder dass das Konstrukt *Off-Target* Effekte produziert. Eigene Vorarbeiten zeigten, dass eine reduzierte visuelle Orientierung mit einer erhöhten Anzahl von Richtungswechseln einhergeht, das Resultat ist eine längere Wegstrecke (Flethe, Diplomarbeit 2013). In dieser Versuchsreihe fällt jedoch auf, dass eine längere Wegstrecke nicht in allen Fällen dazu führt, dass die Landmarken zufällig ausgewählt werden (vgl. Abb. 31 A). Nur wenn die AC in R2-Neuronen herunterreguliert wird, wählen Fliegen die Landmarken zufällig aus. In den anderen Fällen gibt es statistisch nachweisbare Unterschiede der Anläufe zum Zufallsniveau, so dass die Fliegen scheinbar zielgerichtet die Landmarke anlaufen. Dies steht jedoch im Widerspruch zu der Hypothese, dass längere Wegstrecken immer mit der zufälligen Auswahl eines visuellen Objektes einhergehen. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass Entscheidungen bzw. die Auswahl von visuellen Objekten auf neuronaler Ebene nicht von dem gleichen neuronalen Netzwerk und den gleichen biochemischen Komponenten verarbeitet werden, die auch die kurzzeitige Integration eines visuellen Signals übernehmen. Ein Hinweis

könnte sein, dass die Tiere zwar eine eingeschränkte visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma besitzen, ganz einfach aber nur länger brauchen, um sich für „das richtige“ visuelle Objekt zu entscheiden. Das bedeutet, dass sie bis zum Treffen der Entscheidung längere Wegstrecken zurücklegen und dann zu dem Objekt ihrer Wahl laufen.

Aus einem anderen Aspekt betrachtet kann man sich auch die Frage nach der Zuverlässigkeit der Landmarkenläufe zur Charakterisierung memotaktischen Verhaltens stellen. Denn zum einen zeigen die Tiere eine defekte visuelle Orientierung im memotaktischen Verhalten, wenn man sich die zurückgelegten Strecken anschaut, zum anderen ist aber auch ersichtlich, dass Tiere, die sich schlecht im Memotaxis-Paradigma orientieren können, statistisch betrachtet, die Landmarken nicht zufällig auswählen (vgl. Abb. 31).

Betrachtet man die zurückgelegten Strecken als Indikator für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma, so suggerieren die vorliegenden Ergebnisse jedoch, dass *rut* in allen vier Subtypen der Ringneuronen eine essentielle Funktion übernimmt, um das länger sichtbare Signal in einem Kurzzeitspeicher zu integrieren und um zielgerichtetes Verhalten zu ermöglichen. Um diese Hypothese weiter zu verifizieren, ist es jedoch notwendig, die mRNA des Gens *rut* nicht nur gewebe- sondern auch zeitspezifisch herunterzuregulieren. Denn es wäre möglich, dass die gestörte, visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma auch durch einen Entwicklungsdefekt durch das konstitutiv herunterregulierte *rut*¹ ausgelöst wurde. Es gibt Studien (Kim et al., 1996), die zeigen können, dass das Gen *rut* während der Entwicklung von Neuronen in dem larvalen Stadium einer Fliege benötigt wird. Zellkulturen zeigten, dass Neuronen von Mutanten des Stammes *rut*¹ eine von wildtypischen Neuronen abweichende Morphologie besitzen (Kim et al., 1996). In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, inwieweit sich dieser Effekt auf die memotaktische Orientierung auswirken könnte. Um dies näher zu untersuchen wäre es möglich, mit Hilfe des temperaturabhängigen GAL4-Repressors GAL80^{ts}, die Expression der RNAi gewebe- und zeitspezifisch zu steuern. Jedoch konnte gezeigt werden, dass es keinen signifikanten Unterschied bezüglich der zurückgelegten Strecken gibt, wenn *rut* temperaturabhängig in R3-Neuronen exprimiert wird (F2-Praktikum, J. Diehl). Sowohl diese Tiere, als auch entsprechende Kontrolltiere zeigten kein zielgerichtetes Verhalten, bereits dann, wenn sie bei der restriktive Temperatur von 18° aufwachsen und im Memotaxis-Paradigma analysiert wurden (J. Diehl, Daten unveröffentlicht). Hier müsste die visuelle Orientierung wildtypischer Fliegen im Memotaxis-Paradigma näher analysiert werden, um zu überprüfen, ob es wildtypischen Fliegen überhaupt möglich ist, sich nach der Aufzucht bei 18° in diesem Paradigma zu orientieren. Für die Kontrolle der

gewebe- und zeitabhängigen Expression des GAL4 Treibers wäre es aber auch möglich, alternativ mit Hilfe des hormonabhängigen GeneSwitch-Systems die Expression des GAL4 Treibers zu steuern (Nicholson et al., 2008). Nach Verfütterung des Progesteron-Rezeptorantagonisten RU486 wird die Expression des GAL4 Treibers gestartet und kann somit an die komplementäre UAS-Sequenz binden und die nachgeschaltete Expression einleiten.

4.4 Die Beteiligung des cGMP-Signalwegs an der visuellen Kurzzeitintegration

Zu Beginn der Erforschung von Lern- und Gedächtnisprozessen bei *Drosophila melanogaster* wurden mit Hilfe des Tully-Quinn-Paradigmas, mit dessen Hilfe es möglich ist die Prozesse der olfaktorischen Konditionierung zu untersuchen, die ersten Lernmutanten isoliert. Die ersten Mutanten der Gene *dnc* und *rut* stehen im Zusammenhang mit der Regulation des cAMP-Spiegels. cAMP agiert als sekundärer Botenstoff und ermöglicht Lern- und Gedächtnisprozesse in *Drosophila melanogaster* (Tully und Quinn, 1985; Dubnau und Tully, 1998). Neuere Studien zeigen, dass es weitere biochemische Prozesse zur Verarbeitung sensorischer Informationen gibt, die das cGMP-Botenstoff-System aktivieren. Der cGMP-Spiegel kontrolliert sowohl bei Vertebraten als auch bei Invertebraten unterschiedliche biochemische Ereignisse. Bei Vertebraten konnte nachgewiesen werden, dass der cGMP-Spiegel die olfaktorische Wahrnehmung beeinflusst (Kroner et al., 1996; Scheiner et al., 2004), ebenfalls die gustatorische Perzeption wird durch cGMP reguliert (Krizhanovsky et al., 2000; Scheiner et al., 2004). Der cGMP-Spiegel kann aber auch die Regulation der Genexpression übernehmen und ist in Prozesse wie Langzeit-Depression und Langzeitpotenzierung involviert und kontrolliert damit die Gedächtniskonsolidierung (Wang und Robinson, 1997; Scheiner et al., 2004). Bei Invertebraten ist der cGMP-Spiegel in Prozesse wie die Olfaktion, die visuelle und mechanosensorische Perzeption, die Hypoxie und auch in die Bildung des Gedächtnisses involviert. cGMP kann zusätzlich weitere Rezeptorproteine wie Ionenkanäle oder cGMP-abhängige PDEs aktivieren (Müller, 1997; Bicker, 2001; Scheiner et al., 2004). Im Rahmen des visuellen Arbeitsgedächtnisses wird ein phasischer cGMP-Spiegel zur Modulation des dCREB-Expressionslevel benötigt (vgl. Kap. 1.3). Für die Regulation des cGMP-Spiegels sind NOS und CBS essentiell (Kuntz et al., 2017).

Die Analysen bezüglich des visuellen Kurzzeitintegrators für die Memotaxis ergeben, dass NOS keine Rolle spielt, wenn sich Fliegen in Anwesenheit von visuell konkurrierenden Stimuli zielgerichtet fortbewegen. Sowohl der *Knockdown* mittels RNAi als auch die Überexpression von NOS in R3-Neuronen beeinflussen die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma nicht. Die Länge der Strecken als auch die Landmarkenläufe befinden sich auf dem wildtypischen Niveau (vgl. Abb. 41 und Abb. 42). Auch hier kristallisiert sich heraus, dass das visuelle Arbeitsgedächtnis und die Funktion des visuellen Kurzzeitintegrators auf unterschiedlichen biochemischen Ebenen reguliert werden. Das Memotaxis-Gedächtnis ist nicht von NOS in den R3-Neuronen abhängig wie das Detour-Gedächtnis. Möglicherweise ist das Memotaxis-Gedächtnis in einem anderen Subtyp von Ringneuronen lokalisiert. Beide visuellen Orientierungsstrategien sind für zielgerichtetes Verhalten notwendig und sind abhängig von der Situation in einem visuellen Umfeld. Während NOS und die damit verbundene Signaltransduktionskaskade in R3-Neuronen für die Phosphorylierung von dCREB benötigt wird, spielen bei der visuellen Kurzzeitintegration NOS und dCREB keine Rolle. Hier ist darauf hinzuweisen, dass im Memotaxis-Paradigma jederzeit eine von zwei Landmarken zu sehen ist, und dass der Kurs auf eine der Landmarken für eine Sekunde beibehalten werden muss, während das ausgewählte Objekt nicht sichtbar ist. Nach Seelig und Jayaraman (2013; 2015) werden Landmarken in Form von Ca^{2+} -Signalen innerhalb der Ringneuronen und den Kompassneuronen präsentiert. Eine Möglichkeit, wie der Einstrom von Ca^{2+} in die Zellen kontrolliert werden kann, sind NMDA-Rezeptoren, deren Aktivität über eine Sekunde aufrecht gehalten werden kann (Mongillo et al., 2008). In diesem Zusammenhang ist zu überlegen, ob es ausreichend ist, die neuronale Aktivität sekundenlang aufrecht zu erhalten, damit das Signal weitergeleitet werden kann. Das Öffnen von NMDA-Kanälen übernimmt die Speicherfunktion der Information über die Position der Landmarke (vgl. Kap. 4.5).

Die vorliegende Studie kann eine notwendige Aktivität der GC nicht ausschließen. Es ist grundsätzlich möglich, dass die GC für das sehr kurzlebige Gedächtnis im Memotaxis-Paradigma benötigt wird, jedoch einen anderen Gasotransmitter für die Aktivierung bindet. Dieser könnte z.B. CO sein, da die GC neben der Akzeptorstelle für NO auch eine für CO besitzt (Dawson et al., 1994). In zukünftigen Studien kann dies ein weiterer Weg sein, um die Kurzzeitintegration auf biochemischer Ebene näher zu charakterisieren.

Die Fliegen der wildtypischen Stämme *for^S* und *for^R* zeigten, dass sie häufig nicht in der Lage waren, die Landmarke zielgerichtet anzulaufen, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war. *for* kodiert für eine cGMP-abhängige Proteinkinase (PKG); beide Allele

kommen in der Natur vor. Sie wurden auf Grund des unterschiedlichen Futtersuchverhaltens isoliert. *for^R* frisst als Larve gerade lange Strecken in das Medium und findet eher neue Ressourcen, wohingegen *for^S*-Larven gekrümmte, kürzere Strecken zurücklegen und bestehende Ressourcen dadurch besser ausnutzen. Auch bei adulten Tieren wurden diese Unterschiede im Futtersuchverhalten beobachtet (Pereira und Sokolowski, 1993). *for^R* besitzt eine um 12% höhere PKG-Aktivität als *for^S* (Osborne et al., 1997); Letztere wurde als Lernmutante in einem operanten visuellen Lernparadigma identifiziert, wohingegen *for^R* normal lernte (Wang et al., 2008).

Im Memotaxis-Paradigma gab es Tiere beider Allele, die häufiger die Richtung wechselten und zeitweise die andere Landmarke anliefen, was sich an zickzackförmigen Laufspuren beobachten ließ. Zum anderen liefen manche Fliegen kreisförmig in der Arena herum, bevor sie eine der Landmarken wählten. Von beiden Stämmen gab es jedoch auch Fliegen, die sich annähernd wie der wildtypische Stamm CS verhielten (vgl. Abb. 33). Die statistischen Analysen zeigen, dass die Tiere des Stammes *for^R* insgesamt eine Einschränkung bezüglich ihrer Fähigkeit zur visuellen Kurzzeitintegration besitzen. Die Fliegen des wildtypischen Stammes *for^S* hingegen zeigen, dass das memotaktische Verhalten intakt ist (vgl. Abb. 32). Die statistischen Unterschiede des Stammes *for^R*, die zum wildtypischen Stamm CS nachweisbar sind, könnten auf den unterschiedlichen, genetischen Hintergrund der wildtypischen Stämme zurückzuführen sein. Eine Studie von Colomb und Brembs (2014) konnte zeigen, dass es auch zwischen Unterstämmen von CS zu Abweichungen im Zusammenhang des lokomotorischen Verhaltens kommen kann, wenn die Fliegen der verschiedenen Unterstämmen im Buridan-Paradigma auf Landmarken zuliefen. Dieser Effekt wird als „Gründereffekt“ bezeichnet, der durch die separate Laborhaltung der Stämme über die Zeit auftreten kann. Der Vergleich der beiden *for*-Stämme untereinander zeigt, dass beide Stämme sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. Zum einen können die Unterschiede im memotaktischen Verhalten im Vergleich zum wildtypischen Stamm CS auf den bereits erwähnten Gründereffekt zurückgeführt werden. Zum anderen wäre es möglich, dass im genetischen Hintergrund der *for^R*-Stämme ein Faktor existiert, der die Unterschiede verursacht.

PKG wird bei der Verarbeitung visueller Muster innerhalb des Ellipsoidkörpers und des fächerförmigen Körpers benötigt. Das visuelle Mustergedächtnis von *for^S*-Fliegen ist deutlich herabgesetzt und kann durch Expression zusätzlicher cDNA im Bereich des Ellipsoidkörpers und des fächerförmigen Körpers wiederhergestellt werden. Dies zeigt, dass die PKG eine Rolle bei komplexen Signalwegen bei der visuellen Informationsverarbeitung bei *Drosophila*

übernimmt. Als Schlüsselfaktor in der NO und cGMP Signalkaskade hat die PKG viele Substrate (Wang et al., 2008). Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen, dass die PKG im Bereich der visuellen Informationsverarbeitung in Bezug auf die Bildung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses die ribosomale S6 Kinase II (RSKII) phosphoryliert (vgl. Abb. 2) (Kuntz et al., 2012; 2017). Innerhalb des Detour-Paradigmas orientieren sich *for^S*-Fliegen wesentlich schlechter als wildtypische Fliegen, da das visuelle Arbeitsgedächtnis von homozygoten Fliegen des Stammes *for^S* nur noch bei 60% liegt. Tiere mit dem homozygoten Allel *for^R* zeigen dagegen eine wildtypische Orientierungsleistung im Detour-Paradigma (Kuntz et al., 2012; 2017). Daher ist es umso überraschender, dass homozygote *for^R*-Fliegen zeigen, dass sie kein memotaktisches Gedächtnis ausbilden können, *for^S*-Fliegen hingegen schon. Eine Erklärung bietet der Befund von Engel et al., (2000), wonach sich *for^S* bezüglich des von den Riesenneuronen vermittelten Fluchtreflexes sehr viel schneller habituieren und dishabituieren lässt, als *for^R*. Memotaxis wäre damit das zweite Verhalten, das einen Integrator benötigt und mit weniger PKG-Aktivität affektiver abläuft als mit der höheren PKG-Aktivität in *for^R* (Engel et al., 2000). Der Befund zeigt einmal mehr, dass der Memotaxis-Integrator und das visuelle Arbeitsgedächtnis getrennte Gedächtnissysteme sind.

Die vorliegende Studie zeigt, dass die visuelle Orientierung der Fliegen des Stammes *ign^{58/1}* mit defekter RSKII im Memotaxis-Paradigma herabgesetzt ist. Die zurückgelegten Strecken fallen deutlich länger aus als die des wildtypischen Stammes CS. Auch die Auswahl der Landmarken erfolgt zufällig (vgl. Abb. 34). Daraus lässt sich schließen, dass die RSKII an der kurzzeitigen Integration der visuellen Information bezüglich der Landmarkenorientierung im Memotaxis-Paradigma beteiligt ist. Die RSKII gehört zu der Familie der Serin-Threonin Kinasen und ist innerhalb des MAP-K- (mitogen-activated protein kinase) Signalwegs aktiv. MAP-K ist ein Mediator des MAP-K/ERK Signalwegs bei Vertebraten, ERK (extracellular signal-regulated Kinase) ist eine Untergruppe der MAP-K (Frödin und Gammeltoft, 1999). Der MAP-K/ERK Signalweg reguliert Prozesse wie die Genexpression, das Zellwachstum und die Proliferation (Putz et al., 2004; Beck et al., 2015). Die RSKII wird sowohl für die Morphologie als auch für die Funktion von Synapsen benötigt (Fischer et al., 2009; Beck et al., 2015). Mutationen im Bereich der menschlichen Variante des Gens *rsk2* verursachen eine eingeschränkte geistige Entwicklung. Die damit zusammenhängende Erkrankung wird als Coffin-Lowry-Syndrom bezeichnet (Lowry et al., 1971; Fischer et al., 2009). Auch bei *Drosophila melanogaster* sind Lernprozesse und die Gedächtnisbildung beeinträchtigt (Beck et al., 2015). So sind z.B. operante und klassische Lernvorgänge deutlich vermindert (Putz et al.,

2004). Werden Nullmutante *ign*^{58/1}-Fliegen bezüglich ihres visuellen Arbeitsgedächtnisses im Detour-Paradigma analysiert, so zeigen sie einen vollständigen Orientierungsverlust nach dem Verschwinden der Landmarke (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2017). Die vorliegende Studie zeigt darüber hinaus, dass auch das Memotaxis-Gedächtnis vermindert ist.

Betrachtet man die Expression der cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund, so kann in den Ringneuronen-Subtypen R1, R2, R3 und R4 der Verhaltensphänotyp bezüglich der Strecken gerettet werden (vgl. Abb. 39 B). Das Verhalten in Bezug auf die Landmarkenanläufe kann dagegen nicht gerettet werden, wenn die cDNA in R4-Neuronen exprimiert wird (vgl. Abb. 39 A). Betrachtet man die zurückgelegten Strecken, lässt sich daraus schließen, dass es ausreicht, wenn in einem der vier Subtypen die funktionsfähige RSKII exprimiert wird, oder der cAMP-Signalweg den cGMP-Signalweg ersetzen kann. Bezüglich der beiden parallelen Signalpfade wird angenommen, dass sie auch für die Etablierung des visuellen Arbeitsgedächtnisses im Detour-Paradigma in R3-Neuronen essentiell sind und parallel existieren (Kuntz, Dissertation 2015).

Das Verhalten von *ign*^{58/1}-mutanten Fliegen kann wieder hergestellt werden, wenn die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in einem der Subtypen exprimiert wird. Um dies zu erklären, betrachte man die Möglichkeit, dass ein Subtyp der Ringneuronen die Funktion der anderen Subtypen beeinflussen kann, wenn die wildtypische Funktion von *ign*^{58/1} in diesen ausfällt. Trifft ein visuelles Signal auf die zugehörigen, informationsverarbeitenden Einheiten, wäre es möglich, dass statt NO CO produziert wird und die sGC aktiviert. CO wird von der Hämoxygenase (HO) in *Drosophila melanogaster* synthetisiert und kann ebenfalls den cGMP-Signalpfad regulieren (Zhang et al., 2004). CO ist ein weiterer Gasotransmitter und kann wie NO an die sGC binden. Es kann aber auch die Exocytose von mit Transmittern gefüllten Vesikeln in der Nachbarschaft aktivieren, so dass durch diesen Vorgang Rezeptoren in den postsynaptischen Zellen aktiviert werden (vgl. Abb. 53; Kap. 4.7). Außerdem kann es die Aktivität von NOS inhibieren (Maines, 1997). In Kap. 4.7 wird näher auf eine mögliche Regulation durch CO eingegangen.

Weiterhin unklar bleibt, welches Zielprotein die RSKII im Rahmen des memotaktischen Gedächtnisses besitzt, da heterozygote dCREB-Mutanten zeigen, dass sie ein wildtypisches Arbeitsgedächtnis besitzen (vgl. Abb. 36). Bei *Drosophila melanogaster* ist dCREB für die Ausbildung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses essentiell (vgl. Abb. 2, Kuntz et al., 2017). Im Detour-Paradigma wird dCREB allerdings nicht akut benötigt, sondern leitet bereits im Vorfeld die Transkription von sogenannten Kompetenzfaktoren ein, die akut für das Arbeitsge-

dächtnis benötigt werden (Kuntz et al., 2017). Parallel zum cGMP-Signalweg reguliert auch der cAMP-Signalweg die Transkription der Kompetenzfaktoren. Die doppelt regulierte AC moduliert den cAMP-Spiegel. Ist der cAMP-Spiegel hoch genug, so wird die PKA aktiviert, die wiederum dCREB phosphoryliert (Chen et al., 2012, Kuntz et al., 2017). Ob RSKII andere Transkriptionsfaktoren phosphoryliert um ebenfalls Kompetenzfaktoren zu aktivieren, kann die vorliegende Studie nicht zeigen.

Zusammenfassend lässt sich aus der vorliegenden Studie ableiten, dass für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma wahrscheinlich die PKG und die RSKII als Komponenten des cGMP-Signalwegs benötigt werden. Weiterhin spielt die AC zur Regulation des cAMP-Signalwegs eine entscheidende Rolle. Im Kap. 4.7 wird auf eine mögliche Verknüpfung mit anderen biochemischen Komponenten näher eingegangen.

4.5 Die Rolle der NMDA-Rezeptoren für die Memotaxis und das visuelle Kurzzeitgedächtnis

Die vorliegende Studie zeigt, dass NMDA-Rezeptoren an der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma in jedem der Ringsysteme R1 bis R4 beteiligt sind und die kurzzeitige Integration sensorischer Signale beeinflussen. Dies geschieht entweder auch ohne Mg^{2+} -Block oder das Memotaxis-Gedächtnis befindet sich nicht in den R3-Neuronen (vgl. Abb. 48). Außerdem übernehmen NMDA-Rezeptoren eine Rolle bei der Etablierung des visuellen Arbeitsgedächtnisses. Es kann unterbrochen werden, wenn die dNR1-Untereinheit in einem der vier Subtypen der Ringneuronen herunterreguliert wird. Dies wirkt sich auf das Orientierungsverhalten im Memotaxis-Paradigma und auf das visuelle Arbeitsgedächtnis im Detour-Paradigma gleichermaßen aus (vgl. Abb. 47 und Abb. 49). Im Detour-Paradigma wird der Mg^{2+} -Block in der dNR1-Untereinheit der NMDA-Rezeptoren in R3-Neuronen allerdings benötigt, um die visuelle Information in einem Arbeitsgedächtnis zu hinterlegen (vgl. Abb. 50).

Die Laufspuren der betroffenen Fliegen im Memotaxis-Paradigma zeigen, dass die Fliegen nicht in der Lage waren, die Landmarke, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war, zielgerichtet anzulaufen, wenn die mRNA der dNR1-Untereinheit degradiert wird. Dies ließ sich deutlich an den Laufspuren erkennen (vgl. Abb. 43, Abb. 44, Abb. 46). Sie wechseln häufiger die Laufrichtung, und lassen sich durch die zweite Landmarke öfter von ihrem ursprünglichen Kurs ablenken. Sie zeigen, dass die Orientierungsleistung bezüglich eines visuellen Stimulus deutlich herabgesetzt ist. Außerdem wirkt es, als ob das Entschei-

dungsverhalten deutlich gestört ist, da die Tiere beide Landmarken gleich häufig auswählen. Dies unterscheidet sie von dem Verhalten der Kontrollgruppen und den wildtypischen Fliegen, die zielgerichtet die Landmarke anlaufen, die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbar war. Die Degradierung der mRNA der dNR1-Untereinheit hat zur Folge, dass Fliegen nicht in der Lage waren, die visuelle Information im Memotaxis-Gedächtnis zu hinterlegen. Dies ließ sich auch statistisch belegen (vgl. Abb. 45 und Abb. 47).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass NMDA-Rezeptoren innerhalb des Ellipsoidkörpers für die Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses und für die zeitliche Integration einer Landmarke Memotaxis-Paradigma benötigt werden. Beide Prozesse sind damit von Glutamat-Rezeptoren abhängig. Ein weiterer Aspekt ist, dass der durch die NMDA-Rezeptoren kontrollierte Ca^{2+} -Einstrom für die Funktionsweise des memotaktischen Gedächtnisses und des visuellen Arbeitsgedächtnisses benötigt wird. Diese Hypothese wird durch die Tatsache unterstützt, dass der Ellipsoidkörper Ca^{2+} -abhängig die externe Umwelt abbildet. Zum einen generieren die Glomeruli in den Bulbi retinotop ein Ca^{2+} -Signal in Abhängigkeit der visuellen Umwelt der Fliege ab, zum anderen ist dieses Signal auch in den EB.w-Neuronen (nach Turner-Evans et al., 2017 sind es E-PG Neuronen) nachweisbar (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015). Bei *Drosophila melanogaster* sind NMDA-Rezeptoren vor allem im Ellipsoidkörper, im fächerförmigen Körper und in den Pilzkörpern lokalisiert. Innerhalb des Zentralkomplexes besitzen insbesondere die Großfeldneuronen des Ellipsoidkörpers NMDA-Rezeptoren (Wu et al. 2007).

Wird die mutante Form der Untereinheit exprimiert, so ist die Öffnung des NMDA-Rezeptors nur noch durch die Bindung Glutamat abhängig. Dies wirkt sich jedoch nicht auf die Stromstärke von Ca^{2+} aus. Elektrophysiologische Untersuchungen zeigen, dass sich die Stromstärke bezüglich Ca^{2+} bei den Rezeptormutanten nicht von Fliegen unterscheidet, die die wildtypische Kopie der Rezeptoruntereinheit exprimieren (Miyashita et al., 2012). Wird die mutante dNR1(N631Q)-Untereinheit pan-neural mit der Treiberlinie elav-GAL4 exprimiert, ist das olfaktorische Lernen intakt und die Fliegen können ein olfaktorisches Kurzzeitgedächtnis nach 1h ausbilden. Nur das olfaktorische Langzeitgedächtnis nach 24h ist reduziert. Dieser Effekt sei darauf zurückzuführen, dass der Ca^{2+} -Einstrom, der für Lernprozesse erforderlich ist, nicht beeinträchtigt ist während der Lernphase. Jedoch scheint es eine Beeinträchtigung des Ca^{2+} -Einstroms während den Ruhephase des Trainings zu geben, der dazu führt, dass die für das Langzeitgedächtnis benötigte Transkriptionsfaktoren, wie z.B. *homer*, nicht exprimiert werden können (Miyashita et al., 2012). Für das memotaktische Verhalten

bedeutet das, dass der Ca^{2+} -Einstrom durch NMDA-Rezeptoren notwendig ist, dieser aber nicht von dem Mg^{2+} -Block in R3-Neuronen abhängig ist. Möglicherweise reicht einfach die länger anhaltende Aktivität der Rezeptoren aus, oder das Gedächtnis ist in den anderen Ringneuronen-Subtypen lokalisiert.

Es kann aber auch sein, dass die restliche wildtypische Funktion der NMDA-Rezeptoren ausreicht, um ein memotaktisches Gedächtnis auszubilden. Während der Überexpression der mutanten dNR1(N631Q)-Untereinheit wird die wildtypische Version der Untereinheit weiterhin exprimiert (Miyashita et al., 2012). Da der NMDA-Rezeptor aus zwei dNR1- und zwei dNR2-Untereinheiten besteht (Xia et al., 2005), sollten statistisch betrachtet 25% der NMDA-Rezeptoren intakt sein und Mg^{2+} binden können. Damit wäre auch die Eigenschaft des Koinzidenzdetektors nicht ganz abhanden gekommen.

Wird die mutante dNR1(N631Q)-Untereinheit in den R3-Neuronen überexprimiert, so resultiert dies in einem vollständigen Verlust des visuellen Arbeitsgedächtnisses (vgl. Kap. 3.7.1). Die vorliegende Arbeit kann somit zeigen, dass NMDA-Rezeptoren an der Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses beteiligt sind. Bei *Drosophila melanogaster* führt eine genetische und pharmakologische Reduktion des Mg^{2+} -Blocks in den NMDA-Rezeptoren dazu, dass die Expression einer Isoform eines dCREB-Repressors erhöht ist (Miyashita et al., 2012). Die höhere Expression eines dCREB-Repressors in Kenyon-Zellen führt zu einer verminderten Aktivierung von dCREB, weshalb die von dem Transkriptionsfaktor kontrollierten Gene wie z.B. *homer* nicht in einem ausreichenden Maß exprimiert werden können (Miyashita et al., 2012). In den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers werden Gene wie z.B. *homer* für das visuelle Arbeitsgedächtnis als Kompetenzfaktoren benötigt und durch dCREB reguliert (Kuntz et al., 2017). Ob NMDA-Rezeptoren auch in den Ringneuronen einen dCREB-Repressor regulieren, ist jedoch nicht untersucht. Würden NMDA-Rezeptoren auch im Ellipsoidkörper die Expression eines dCREB-Repressors kontrollieren, hätte dies zur Folge, dass im Ellipsoidkörper nicht genügend dCREB zur Verfügung steht, um die Expression benötigter Kompetenzfaktoren wie z.B. *homer* einzuleiten. Dies ist eine mögliche Erklärung, wieso die Fliegen kein visuelles Arbeitsgedächtnis ausbilden, wenn die mutante dNR1(N631Q)-Untereinheit in den R3-Neuronen exprimiert wird.

In Abb. 51 A wird eine mögliche Funktionsweise der NMDA-Rezeptoren innerhalb des Ellipsoidkörpers dargestellt. Die Ringneuronen (blau) werden durch den ortsspezifischen visuellen Eingang aktiviert. Dies hat zur Folge, dass ortsspezifisch ein neuronales Netzwerk beziehungsweise ein bestimmtes Muster von Neuronen aktiviert wird. Mit Hilfe des NMDA-

Rezeptorsystems sind die glutamatergen Neuronen in der Lage, die neuronale Aktivität für einige 100 ms aufrecht zu halten (Miyashita et al., 2012). Nach Freisetzung von Glutamat durch die Präsynapse bindet es an ionotrope AMPA-Rezeptoren, die gemeinsam mit NMDA-Rezeptoren in die postsynaptische Membran eingebettet sind. Eine Zelle im Ruhepotenzial besitzt eine Spannung von -70 bis -80 mV. Nach Aktivierung von glutamatergen Rezeptoren erhöht sich die Leitfähigkeit der postsynaptischen Membran für positiv geladene Ionen, wie z.B. Na^+ . Aufgrund des Konzentrationsgefälles und des Spannungsgefälles strömt Na^+ in die postsynaptische Zelle, bis die Spannung einen Wert von 0 mV erreicht. Bis zu dieser Schwelle bindet Glutamat zwar auch an die aktiven Zentren der NMDA-Rezeptoren, diese werden jedoch noch nicht geöffnet, da die Untereinheiten der Rezeptoren Mg^{2+} binden und so der Ionentransfer verhindert wird. Erst wenn ein Schwellenwert erreicht wird, und die Spannung einen positiven Wert annimmt, löst sich Mg^{2+} von den Untereinheiten, so dass Ca^{2+} in die postsynaptische Zelle strömen kann. Das bedeutet, dass NMDA-Rezeptoren sowohl liganden- als auch spannungsgesteuert sind.

Erst wenn die Präsynapse Glutamat sezerniert und die Depolarisation der Postsynapse eine Spannung von ca. 0 mV erreicht hat, löst sich Mg^{2+} von den Untereinheiten und die Rezeptorkanäle werden aktiviert. Erst dann können sie für einige 100 ms aktiv sein (Miyashita et al., 2012). Die Depolarisation am Axonhügel der postsynaptischen Zelle kann durch hochfrequente Aktionspotenziale in der präsynaptischen Zelle ausgelöst werden. Doch in den Präsynapsen werden zunächst Ca^{2+} -Kanäle geöffnet. Der Ca^{2+} -Einstrom aktiviert die mit Transmitter gefüllten Vesikel, die infolgedessen mit der präsynaptischen Membran fusionieren. Die Transmitter werden in den synaptischen Spalt innerhalb der aktiven Zone freigesetzt. Glutamat bindet an Liganden-Bindedomänen der NMDA-Rezeptoruntereinheiten, aber auch an weiteren Glutamat-Rezeptoren, wie z.B. AMPA- oder Kainat-Rezeptoren. Zusätzlich zu diesen ionotropen Rezeptorkanälen gibt es auch metabotrope, also G-Protein gekoppelte Rezeptoren. Ist ein präsynaptisches Neuron kurz nacheinander mehrfach aktiv, so erfolgt am Axonhügel des postsynaptischen Neurons eine zeitliche Summation der elektrischen Ereignisse. Die zeitliche Summation der exzitatorischen und inhibitorischen Signale kann am Axonhügel eine Depolarisation auslösen. Erst wenn ein Schwellenwert erreicht wird, entsteht dort eine Folge von Aktionspotenzialen, die durch die Axone weitergeleitet werden. Alternativ zu dieser zeitlichen Summation am Axonhügel der Postsynapse kann auch eine räumliche Summation durch mehr als nur einer aktiven Zone an einer Postsynapse eine Folge von Aktionspotenzialen auslösen. Das bedeutet, dass ein postsynaptisches Neuron mit mehreren

präsynaptischen Neuronen verbunden sein kann (Heynen et al., 2000). Im Ellipsoidkörper wurde ein neuer Synapsentyp-Typ identifiziert, der zwei unabhängig voneinander aktive Zonen besitzt und damit die Rolle eines Koinzidenzdetektors übernehmen kann (Martín-Peña et al., 2014). Ob dieser Synapsentyp jedoch auch für die kurzzeitige Speicherung der visuellen Information im Memotaxis-Paradigma benötigt wird, ist nicht untersucht. Bisher konnten sowohl inhibierende Neurotransmitter, wie z.B. GABA (γ -Aminobuttersäure), als auch exzitatorische Neurotransmitter, wie z.B. Glutamat, in Ringneuronen identifiziert werden (Martín-Peña et al., 2014).

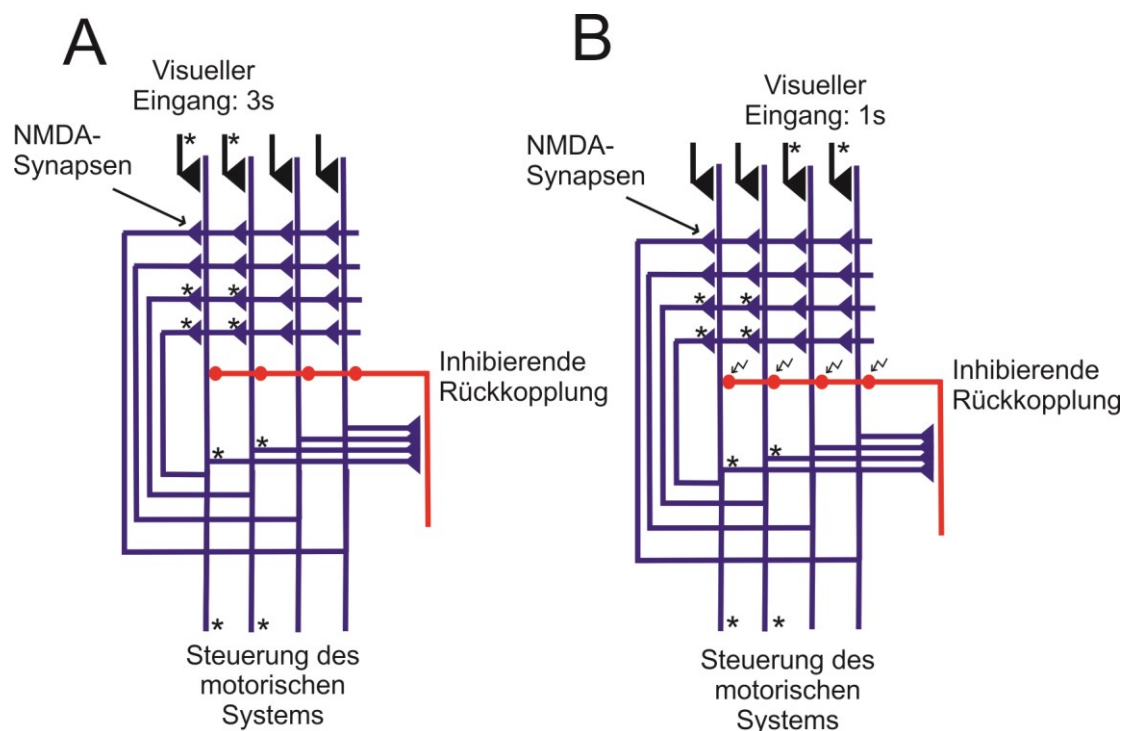


Abb. 51. Darstellung des Hopfield-Modells und die Anwendung auf die R-Neuronen des Ellipsoidkörpers. A) Zunächst müssen die Präsynapsen aktiv sein damit am Axonhügel der postsynaptischen Zelle eine Folge von Aktionspotentialen ausgelöst wird. Erst dann erfolgt eine hochfrequente Aktivierung der Postsynapse und der Mg^{2+} -Block verlässt bei 0 mV Membranspannung die Pore. Diese konditionale Erregung der NMDA-Rezeptoren geht nur mit dem Mg^{2+} -Block. Im Memotaxis-Paradigma erhalten die Ringneuronen (blau) des Ellipsoidkörpers zunächst für drei Sekunden von informationsverarbeitenden Neuronen (schwarz) einen visuellen Eingang und werden ortsspezifisch aktiviert. NMDA-Synapsen verstärken die neuronale Aktivität der aktivierten Ringneuronen, das inhibierende Rückkopplungssystem (rot) wird aktiviert und begrenzt die neuronale Aktivierung. Die räumlich begrenzte Aktivierung der NMDA-Rezeptoren ist essentiell. Die akute Stimulation durch die visuellen Eingänge (Präsynapse aktiv) und die Rückkopplung der blau gefärbten Ringneuronen (*aktiv durch das ausgelöste Aktionspotential am Axonhügel) bewirken die Aktivierung der NMDA-Kanäle. Die anderen Neuronen werden zwar durch das positive Rückkopplungssystem stimuliert, aber durch den Mg^{2+} -Block nicht aktiviert. Basierend auf der Aktivität des neuronalen Netzwerks wird das motorische System gesteuert. B) Im Anschluss aktiviert die ablenkende Landmarke positionsabhängig die Ringneuronen des Ellipsoidkörpers da sich der visuelle Eingang bezüglich der Retinaposition verändert hat. Die zum früheren Zeitpunkt ausgelöste neuronale Aktivität ist weiterhin vorhanden (*), das inhibierende Rückkopplungssystem (rot) verhindert die Aktivierung des zugehörigen ortsspezifischen Netzwerkes. Zwar sind die Präsynapsen aktiv (erste Bedingung), jedoch kann am Axonhügel kein Aktionspotential (zweite Bedingung) ausgelöst werden. Dies hat zur Folge, dass der motorische Ausgang sich nicht ändern kann und die Fliege ihre Laufrichtung zum ursprünglichen Ziel aufrechterhält. Für dieses Modell ist der Mg^{2+} -Block der NMDA-Rezeptoren essentiell (modifiziert nach Lisman et al., 1998).

In Abb. 51 A ist die Aktivierung der Ringneuronen durch den drei Sekunden anhaltenden, visuellen Stimulus zu sehen. Die Verrechnung der exzitatorischen und inhibitorischen Signale könnte am Axonhügel zu einer Aktivierung eines ortsspezifischen neuronalen Netzwerkes (blau) führen. Die ortsspezifisch aktivierten Neuronen könnten das motorische System steuern, damit die Fliege auf die Landmarke zulaufen kann. Zugleich wird eine inhibierende Rückkopplung aktiviert, die die ortsspezifische Aktivierung unterstützt und nicht benötigte neuronale Aktivität unterdrückt. Im Memotaxis-Paradigma ändert sich nach drei Sekunden ortsabhängig der visuelle Eingang (vgl. Abb. 13 B). Die Fliege erhält nun einen visuellen Eingang für eine Sekunde (vgl. Abb. 51 B).

Die für dieses Signal codierenden Neuronen (schwarz) leiten die Information zu den Neuronen des Ellipsoidkörpers. Da NMDA-Rezeptoren, die zum vorherigen Zeitpunkt aktiviert wurden, die Aktivität für einige 100 ms aufrecht erhalten (Dzubay und Jahr, 1996) und somit noch aktiv sind, steuern diese zum aktuellen Zeitpunkt auch die inhibierenden Interneuronen und das motorische System. Die Fliege könnte mit Hilfe dieser Strategie in der Lage sein, ihr ursprüngliches Ziel weiterhin anzulaufen, obwohl es nicht sichtbar ist und ein ablenkendes Signal erscheint. Eine inhibierende Rückkopplung (rot) könnte die Aktivierung anderer Neuronen verhindern und bewirken, dass die Fliege sich nicht ablenken lässt. Gleichzeitig könnte die inhibierende Rückkopplung bewirken, dass ein durch einen visuellen Stimulus aktiviertes neuronales Netzwerk nicht dauerhaft aktiv ist. Würde das in Abb. 51 A dargestellte neuronale Netzwerk nicht durch einen erneuten visuellen Eingang von einer Sekunde erneuert werden, so würde die inhibierende Rückkopplung die neuronale Aktivität in den Ursprungszustand versetzen. Das Mg^{2+} hätte wieder die Möglichkeit, die NMDA-Rezeptoren zu verschließen da die Präsynapsen nicht mehr aktiv sind. Infolgedessen verebbt der Einstrom von Ca^{2+} in die postsynaptische Zelle, so dass die Repolarisation mit anschließender Hyperpolarisation stattfinden könnte, bis schließlich das Ruhepotenzial wieder erreicht ist. Auf diese Weise könnten ortsspezifische Neuronen innerhalb des Ellipsoidkörpers aktiv sein (er ist in 16 Sektoren unterteilt) und es der Fliege ermöglichen, ein memotaktisches Gedächtnis auszubilden.

Aktuelle Studien zeigen, dass in Abhängigkeit von visuellen Landmarken eine sektorförmige Aktivität in den E-PG-Neuronen nachweisbar ist (Turner-Evans et al., 2017). Sie besitzen sektorförmige Verzweigungen im Ellipsoidkörper und leiten die Information von dort zu dem entsprechenden Glomeruli der Protocerebralbrücke und zur Gall (Turner-Evans et al., 2017). Da alle Subtypen der Ringneuronen kreisförmig im Ellipsoidkörper angeordnet sind (Hanesch

etal., 1989; Renn et al, 1999) könnte dies bedeuten, dass die Subtypen der Ringneuronen sektorförmig lokal Transmitter freisetzen. Wie genau dieser Prozess abläuft ist jedoch nicht untersucht. Jedoch konnte festgestellt werden, dass während der Entwicklung des Ellipsoidkörpers GABA-Rezeptoren in die axonalen Endigungen der Ringneuronen eingebaut werden und lokale inhibitorische Signale gebildet werden können (Xie et al., 2017).

E-PG-Neuronen (Eb.w-Neuronen nach Seelig und Jayaraman, 2015) repräsentieren visuelle Landmarken im Umfeld einer Fliege in Kombination mit der Eigenbewegung in Form von Ca^{2+} -abhängigen Aktivitätsmustern. Am Kopf fixierte Fliegen wurden auf einem Ball positioniert, der in einer künstlichen visuellen Umwelt integriert war. In Abhängigkeit einer visuellen Landmarke und der Eigenposition relativ zu der Landmarke ließ sich das Ca^{2+} -Signal in den EP-G-Neuronen (Eb.w-Neuronen nach Seelig und Jayaraman, 2015), den sogenannten Kompassneuronen, und dem Ellipsoidkörper nachweisen. Besonders die R2- und R4d-Neuronen im Bereich der Bulbi zeigen ein erhöhtes Signal in Abhängigkeit der Position der Landmarke. Die Dendriten der Ringneuronen sind in der Bulbus-Region retinotop organisiert und bilden eine Karte der visuellen Umwelt in den Mikroglomeruli der Gall ab (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015). Dabei konnte festgestellt werden, dass das Signal in den Mikroglomeruli nicht fest von dem Ort abhängt und diesen 1:1 widerspiegelt, sondern dass die Position der Fliege mit verrechnet wird (relative Zuordnung zwischen Ort und Sektor; Seelig und Jayaraman, 2013). Da auch im Memotaxis-Paradigma die Fliege mit Landmarken konfrontiert wird, wäre es möglich, dass diese auch durch ein Ca^{2+} -Signal im Ellipsoidkörper repräsentiert werden. Die vorliegende Studie zeigt, dass die visuelle Kurzzeitintegration von dem Ca^{2+} -Einstrom in die Zellen des Ellipsoidkörpers durch NMDA-Rezeptoren bestimmt wird.

In einer Zelle kann ein veränderlicher Ca^{2+} -Spiegel an unterschiedlichen Prozessen wie z.B. der Exocytose, einen über Mikrosekunden ablaufender Prozess, bis hin zur Gentranskription und Zellproliferation, also Prozesse, die über Stunden reguliert werden, verlaufen (Berridge et al., 2003). Ein spezifischer Prozess erfordert einen spezifischen Ca^{2+} -Spiegel. Dieser entsteht durch ein Gleichgewicht zwischen Prozessen, die Ca^{2+} in das Cytosol befördern und Prozessen, die es wieder aus dem Cytosol entfernen. Neben NMDA-Rezeptoren gibt es noch weitere Rezeptoren, die die Konzentration von Ca^{2+} in der Zelle variieren können. Zum einen gibt es in der Membran verankerte, metabotrope Rezeptoren, die über die G_{α} -Untereinheit die Spaltung von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP_2) in Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG) bewirkt. Dabei bindet IP_3 an IP_3 -Rezeptoren, so dass Ca^{2+} aus dem endoplasmatischen Retikulum in das Cytosol freigesetzt wird (Berridge et al., 2003). Bei

Drosophila sind spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle auch in der präsynaptischen Membran, im Bereich des synaptischen Spalts lokalisiert, und leiten dort nach Aktivierung die Transmitterfreigabe ein (Kawasaki et al., 2004). Bei der Metamorphose vom pupalen zum adulten Nervensystem spielt auch die Veränderung der Erregbarkeit von Neuronen eine essentielle Rolle. Diese Veränderung der Erregbarkeit von Neuronen erfolgt durch den Einbau von spannungsgesteuerten, Ca^{2+} -abhängigen Kanälen in die Membran. Im P4-Stadium sind die durch spannungsgesteuerte, Ca^{2+} -abhängigen Kanäle verursachten Ladungsveränderungen in den Neuronen die ersten Signale, die mit Hilfe der Patch-clamp Methode detektiert werden können und mit dem Wachstum von Neuronen einhergehen. Ein *Knockdown* dieser Kanäle führt zu einem reduzierten Wachstum der Dendriten (Ryglewski et al., 2014). Bei *Drosophila melanogaster* sind MCU-(Mitochondrial Calcium Uniporter)-Transporter in die Membranen der Mitochondrien lokalisiert (Choi et al., 2017). Die Regulation des Ca^{2+} durch die MCU-Transporter haben Einfluss auf die ATP-Produktion, auf die Ca^{2+} -Signale im Gewebe, auf die Muskelkontraktion, der Regulation der Transmitterfreisetzung und dem Zelltod (Fienie et al., 2012). Desweiteren gibt es Ca^{2+} -abhängige Proteine, wie z.B. Calmodulin. Der Ca^{2+} /CaM-Komplex kann an Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Kinasen oder Synaptotagmin binden (Berridge et al., 2003). Damit kann Ca^{2+} auch indirekt die Phosphorylierung von Ionenkanälen in der Membran beeinflussen. Bei *Aplysia* konnte gezeigt werden, dass die PKA Ionenkanäle phosphoryliert und durch Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Kinasen aktiviert wird (Kandel et al., 2012). Der *Knockdown* der dNR1-Untereinheit und der damit verminderte Einstrom von Ca^{2+} in die Zelle könnte auch die verminderte Konzentration von Ca^{2+} -Calmodulin verursachen. Dies wiederum führt dazu, dass nicht genügend AC aktiviert wird, nicht genügend cAMP generiert wird und damit auch möglicherweise nicht genügend Membrankanäle phosphoryliert und aktiviert werden können.

Alle diese Faktoren können den Ca^{2+} -Spiegel in der Zelle beeinflussen. Welche Prozesse das Ca^{2+} -Signal in den Bulbi und den Kompassneuronen mit beeinflussen, ist nicht untersucht.

Wie bereits in Kap. 1.9 beschrieben, ist es möglich, dass die sensorische Information bezüglich der visuellen Landmarke durch ein andauerndes Ca^{2+} -Signal für mehrere 100 ms in Form von neuronaler Aktivität gespeichert und an das motorische System weitergeleitet wird (Dzubay und Jahr, 1996; Mongillo et al., 2008). Dieser Prozess beschreibt die Funktionsweise eines Kurzzeitintegrators. Damit wäre die Fliege in der Lage, das visuelle Objekt weiterhin anzulaufen, auch wenn es kurzzeitig nicht sichtbar ist. Zugleich könnte es für die

visuelle Kurzzeitintegration notwendig sein, dass eine Inhibition von umgebenden Signalen stattfinden muss, um zu verhindern, dass die Fliege von ihrem Weg abgelenkt wird.

Eine andere Betrachtungsweise bezüglich des memotaktischen Verhaltens stellt die unterschiedliche Gewichtung der Landmarken in Bezug zum visuellen Sehfeld dar: Landmarken, die im frontalen Sehfeld präsentiert werden, könnten ein höheres Gewicht besitzen als Landmarken im lateralen Sehfeld (Modell von Mronz; 2004). Auch hier wäre es möglich, dass NMDA-Rezeptoren notwendig sind, damit die Fliegen die Landmarke, die im frontalen Sehfeld erscheint, länger anlaufen als Landmarken, die im lateralen Sehfeld erscheinen. Die Protocerebralbrücke sorgt für eine interne Präsentation der externen Umwelt. Dabei repräsentieren die Glomeruli 1-8 pro Hemisphäre das frontale, laterale und hintere Sehfeld der Fliege. Sie reguliert die Schrittlänge und die Laufgeschwindigkeit. In Abhängigkeit dieser beiden Komponenten steuert sie die Laufrichtung (Strauss, 2002; Poeck et al., 2008; Triphan et al., 2010). Von der Protocerebralbrücke aus wird die Information zu den lateralen Triangeln bzw. den Bulbi, den nach Hanesch et al., 1989 beschriebenen Eingängen des Ellipsoidkörpers, geleitet (Wolff et al., 2015). Die P-EN-Neuronen führen zum Ellipsoidkörper und zu den Noduli, die E-PG-Neuronen leiten die Information vom Ellipsoidkörper zur Protocerebralbrücke und zur Gall. Sie bilden eine Rückkopplungsschleife, deren Aktivität Ca^{2+} -abhängig ist (Turner-Evans et al., 2017). Um die Fliege in die Richtung eines bestimmten Objektes zu steuern, wird die eigene Position und die Position des Objektes in Form eines neuronalen Musters codiert und zurück an die Protocerebralbrücke geleitet, so dass von dort die Schrittlängenregulation stetig angepasst werden kann.

Die vier Subtypen von Ringneuronen R1 bis R4 können Aufgaben im Bereich der Verarbeitung visueller sensorischer Eingänge übernehmen. Im Cold-Spot-Paradigma, ähnlich dem Morris-Water-Maze-Paradigma, mit Hilfe dessen das visuelle Orientierungsgedächtnis der Ratten untersucht werden kann, benötigen Fliegen R1-Neuronen für die Orientierung im Raum (Ofstad et al., 2011). Um eine Karte der externen Umwelt in den Mikroglomeruli zu erstellen, werden R2- und R4d-Neuronen benötigt (Seelig und Jayaraman, 2013), während R3-Neuronen für die Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses essentiell sind (Neuser et al., 2008; Kuntz et al., 2012; 2017). Vermutlich kann sogar eine direkte Kommunikation zwischen R2- und R3-Neuronen stattfinden (Kuntz et al., 2017).

Da die vorliegende Studie die Funktion des Kurzzeitintegrators nicht in einen Subtyp der Ringneuronen lokalisieren kann, wäre es genauso gut möglich, dass die vier Ringneuronen-Subtypen R1 bis R4 benötigt werden, um die visuelle Kurzzeitintegration zu übernehmen.

Interessanterweise geht mit der Auswahl eines visuellen Objektes die Steuerung der visuellen Aufmerksamkeit einher. Studien an Makaken *Macaca mulatta* zeigen, dass sich eine erhöhte neuronale synchrone Aktivität nachweisen lässt, wenn die Tiere sich für ein visuelles Objekt entscheiden und ihre Aufmerksamkeit darauf lenken (Gomez-Ramirez et al., 2014). Im Flugsimulator konnte bei *Drosophila melanogaster* gezeigt werden, dass die visuelle Aufmerksamkeit benötigt wird, um sich für eines von zwei präsentierten Objekten zu entscheiden. Dort ließ sich die Verarbeitung der visuellen Signale auf eine Funktion von dopaminergen Neuronen der Pilzkörper zurückführen (Koenig et al., 2016a; 2016b). Dies wirft die Frage auf, ob im Memotaxis-Paradigma die Auswahl eines visuellen Objektes auch von der Aufmerksamkeit abhängt. Auch für das memotaktische Verhalten könnte eine synchrone Aktivität der R1-, R2-, R3- und R4-Neuronen des Ellipsoidkörpers benötigt werden, damit die Fliege ihr ausgewähltes Ziel anlaufen kann.

Außerdem könnte man vermuten, dass die visuelle Aufmerksamkeit wahrscheinlich für alle bisher bekannten visuellen Orientierungsstrategien benötigt wird: R1-Neuronen sorgen für die visuelle Orientierung im Raum (Ofstad et al., 2011; Dewar et al., 2015). Das würde bedeuten, um ein Muster (oder ein Objekt) im Raum anlaufen zu können, muss die visuelle Aufmerksamkeit zuvor auf das Muster (oder das Objekt) gelenkt werden. R2- und R4d-Neuronen reagieren auf die Präsentation visueller Landmarken, dieses Signal ist Ca^{2+} -abhängig (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015). R3-Neuronen speichern ortsabhängig ein visuelles Objekt (Kuntz et al., 2017) und antworten mit einem off-Signal, wenn das Objekt verschwindet (Omoto et al., 2017). Vor der Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses bezüglich der Landmarke könnte es jedoch sein, dass die Fliege zuvor ihre visuelle Aufmerksamkeit auf das visuelle Objekt richtet, damit sie in der Lage ist, die Landmarke anzulaufen und um die Information „Landmarke“ in ein visuelles Arbeitsgedächtnis hinterlegen zu können.

Mit der aktuellen Studie kann gezeigt werden, dass NMDA-Rezeptoren neben der visuellen Kurzzeitintegration im Memotaxis-Paradigma auch für die Bildung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses benötigt werden. Beide Fähigkeiten tragen dazu bei, dass die visuelle Information in einem kurzzeitigen Gedächtnis bei *Drosophila melanogaster* hinterlegt werden kann. Interessanterweise ist H_2S im Hippocampus von Mäusen in der Lage, die Aktivität von NMDA-Rezeptoren zu potenzieren (Kimura, 2002; Abe und Kimura, 1996; Eto et al., 2002). Nach dem Einstrom von Ca^{2+} in die Zelle interagiert dieses mit CaM, so dass der Ca^{2+} /CaM-Komplex die CBS aktivieren kann. H_2S kann durch Membranen diffundieren und

durch die Modulation der NMDA-Rezeptoren den Einstrom von Ca^{2+} erhöhen (Kimura, 2000; Abe und Kimura, 1996; Russo et al., 2000; Navarra, et al., 2000). Kann der $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -Komplex nicht in ausreichenden Umfang aktiviert werden, so würde dies auch bei *Drosophila melanogaster* zu einer eingeschränkten bis fehlenden Synthese von H_2S führen. Dies wiederum hat zur Folge, dass kein Arbeitsgedächtnis etabliert werden kann.

Die vorliegende Studie zeigt, dass NMDA-Rezeptoren an der Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses beteiligt sind (vgl. Kap. 3.7 und Kap. 3.7.1). Dieses ist auch von NOS und dCREB abhängig (Kuntz et al., 2017). Bei Vertebraten regulieren NMDA-Rezeptoren über den Ca^{2+} -Einstrom die NOS und damit die Synthese von NO (Standaert, 1999). Der Mg^{2+} -Block der NMDA-Rezeptoren unterdrückt bei *Drosophila melanogaster* die Expression eines dCREB-Repressors. Wenn die dNR1-Untereinheit kein Mg^{2+} mehr binden kann, resultiert dies in einem nur noch von einer Bedingung kontrollierten Einstrom von Ca^{2+} . Nun kann Glutamat alleine den Einstrom von Ca^{2+} durch die NMDA-Rezeptoren verursachen, ohne dass dieses Neuron zuvor depolarisiert sein muss. In den Kenyonzellen der Pilzkörper, deren NMDA-Rezeptoren mit einer defekten Untereinheit ausgestattet wurden, die kein Mg^{2+} mehr binden können, bewirkte der erhöhte Einstrom von Ca^{2+} eine vierfach höhere Transkriptionsrate eines dCREB-Repressors, so dass dCREB nicht mehr im richtigen Umfang exprimiert werden konnte. Dadurch wurden durch den Transkriptionsfaktor kontrollierte Proteine, wie *homer*, *staußen* und *activin* nicht mehr transkribiert (Miyashita et al., 2012).

Da NOS und dCREB in den R3-Neuronen an der Regulation des visuellen Arbeitsgedächtnisses bei *Drosophila melanogaster* beteiligt sind (Kuntz et al., 2012; 2017), ist anzunehmen, dass die R3-Neuronen NMDA-Rezeptoren benötigen, um die Signaltransduktionskaskade, wie sie unter Kap. 1.3 beschrieben wird, einzuleiten. Zum einen kann es sein, dass auch bei *Drosophila melanogaster* die Synthese von NOS über die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren erfolgt und die Tiere sich im Detour-Paradigma aufgrund mangelnder Expression von NOS nicht mehr orientieren können. Zum anderen könnten Mutanten, die in R3-Neuronen kein Mg^{2+} an ihre dNR1-Untereinheit binden können, weniger dCREB transkribieren, da die Expression des dCREB-Repressors dominiert. Dies hat zur Folge, dass die für das visuelle Arbeitsgedächtnis benötigten Kompetenzfaktoren, wie z.B. *homer*, nicht mehr exprimiert werden können. Daher ist es logisch, dass die Tiere, die kein Mg^{2+} in die dNR1-Untereinheit der NMDA-Rezeptoren in den R3-Neuronen einbauen können, auch kein visuelles Arbeitsgedächtnis besitzen. Weiterhin erscheint es als plausibel, dass das visuelle Arbeitsgedächtnis auch ausfällt, wenn in diesen Neuronen die komplette dNR1-Untereinheit fehlt.

Interessant ist, dass das Herunterregulieren der dNR1-Untereinheit mittels RNAi auch in jedem einzelnen der anderen untersuchten Subtypen R1 bis R4 dazu führt, dass die Fliegen kein visuelles Arbeitsgedächtnis besitzen. Da R2- und R3-Neuronen vermutlich miteinander kommunizieren, sind R2-Neuronen wahrscheinlich auch Teil des neuronalen Netzwerkes, welches für die Etablierung eines visuellen Arbeitsgedächtnisses sorgt (Kuntz et al., 2017). Hier ist es in dem Zusammenhang wiederum plausibel, dass der *Knockdown* der dNR1-Untereinheit in den R2-Neuronen dazu führt, dass die Tiere kein visuelles Arbeitsgedächtnis besitzen. Wenn TNT in einem der vier Subtypen der Ringneuronen exprimiert wird, wird die Transmitterfreisetzung unterbrochen, so dass die Information nicht auf die postsynaptische Zelle übertragen werden kann. Die Expression von TNT in einem der vier Subtypen der Ringneuronen führt dazu, dass die Tiere kein Arbeitsgedächtnis ausbilden können (Neuser et al., 2008). Es wäre also möglich, dass der *Knockdown* der dNR1-Untereinheit die Weitergabe der Informationen an die postsynaptischen Zellen unterbricht und die Fliegen deswegen kein visuelles Arbeitsgedächtnis ausbilden können. Da NMDA-Rezeptoren den Ca^{2+} -Einstrom ermöglichen, ist davon auszugehen, dass für die Aktivierung des cGMP-Signalwegs ein Ca^{2+} -Akzeptor benötigt wird. Im cAMP-Signalweg fungiert CaM als Ca^{2+} -Akzeptor. Der Ca^{2+} /CaM-Komplex aktiviert die AC, so dass cAMP als sekundärer Botenstoff aktiv werden kann. Der Komplex ist auch in der Lage, NOS zu aktivieren (Kuntz et al., 2017).

Die aktuellen Ergebnisse zeigen zum ersten Mal in Form von Verhaltensstudien an *Drosophila melanogaster*, dass NMDA-Rezeptoren im Ellipsoidkörper an der visuellen Informationsverarbeitung teilhaben und Prozesse wie das Memotaxis- und Detour-Gedächtnis beeinflussen können und damit nicht nur an der LTP und der LTD beteiligt sind.

4.6 Landmarkenläufe und zurückgelegte Strecken

Bei der Analyse der zurückgelegten Strecken und den Anläufen zur Landmarke stellte sich heraus, dass eine längere Wegstrecke nicht in allen Fällen mit der zufälligen Auswahl einer Landmarke einhergeht. Theoretisch sollten Fliegen, deren visueller Kurzzeitintegrator in seiner Funktion Einschränkungen aufweist, zeigen, dass sie eine statistisch nachweisbare, längere Wegstrecke zurücklegen und eine der beiden Landmarken zufällig anlaufen.

Die statistischen Analysen zeigen jedoch, dass einige Fliegen zwar längere Strecken zurücklegen, aber trotzdem die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf erreichen können. Dies war bei den Fliegen, deren synaptische Informationsübertragung in den R4d-

Neuronen blockiert wurde, der Fall (vgl. Abb. 19). Auch bei dem *Knockdown* von *rut* in R1-, R3- und R4-Neuronen zeigten die Fliegen zwar deutlich längere Wegstrecken, dennoch wählten sie häufiger die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf (vgl. Abb. 31). Ähnlich verhält es sich bei Fliegen mit der natürlich vorkommenden Variante des Gens *for^s*, die ebenfalls längere Wegstrecken zurücklegen, dennoch die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf wählen (vgl. Abb. 32). Auch Fliegen, die TNT im Muster von mb247-GAL4, also in den α/β - und γ -Loben der Pilzkörper und leicht im Ellipsoidkörper exprimieren, zeigen, dass die Wegstrecken deutlich länger sind im Vergleich zu den wildtypischen Wegstrecken. Trotzdem wählen sie die zu Beginn der Messung für drei Sekunden sichtbare Landmarke häufiger aus. Dies könnte ein Hinweis sein, dass die Tiere mehr Zeit benötigen, um den für sie interessanteren Stimulus auszuwählen und anzulaufen.

Das andere beobachtbare Phänomen ist, dass einige Fliegen zwar kurze Wegstrecken zurücklegen, jedoch nicht die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf wählen. Dies war zum Beispiel bei männlichen Fliegen des Stammes *dnc¹* der Fall (vgl. Abb. 28). Auch die Tiere mit dem Genotyp *rut¹/X;PKA-C1^{H2}/II* zeigen, dass sich die Strecken auf dem wildtypischen Niveau befinden (vgl. Abb. 29). Trotzdem wählen sie, statistisch betrachtet, die Landmarken zufällig aus. Die Abweichungen von dem erwarteten Verhalten könnten ein Hinweis sein, dass es sich bei der Regulation der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma um zwei verschiedene, zugrunde liegende Prozesse handeln könnte, deren Verarbeitung auf verschiedenen neuronalen/biochemischen Ebene erfolgen kann.

So könnte die Auswahl einer der beiden Landmarken das Entscheidungsverhalten repräsentieren, während für das zielgerichtete Anlaufen der Landmarke die visuelle Aufmerksamkeit essentiell sein könnte. Betritt die Fliege die Arena bekommt sie eine Landmarke für drei Sekunden präsentiert. Diese verschwindet und direkt im Anschluss wird eine zweite Landmarke für eine Sekunde präsentiert (vgl. Abb. 13). Das könnte bedeuten, dass eine Landmarke immer in Konkurrenz zur der anderen Landmarke im Memotaxis-Gedächtnis bzw. Integrator stehen könnte und die Fliege sich entscheiden muss. Die Strecke, die sie zurücklegt, könnte ein Indikator für die Aufmerksamkeit sein. Ist die Fliege nicht sehr aufmerksam, so lässt sie sich häufiger von ihrem Weg durch ein anderes Objekt ablenken, so dass die Wegstrecke länger ausfällt als bei Fliegen, die sehr aufmerksam ihr Ziel anlaufen, auch dann, wenn es kurzzeitig nicht sichtbar ist. Vielleicht benötigen einige Fliegen mehr Zeit, bis sie ihre Entscheidung für eine der beiden Landmarken getroffen haben.

Für die TNT-Versuche könnte dies bedeuten, dass die visuelle Aufmerksamkeit deutlich herabgesetzt ist, unabhängig davon, in welchem der vier Subtypen von Ringneuronen die synaptische Transmission unterbrochen wurde. Durch den Einsatz von TNT wird nicht nur die Gedächtnisfunktion, sondern auch die Durchleitung von Informationen unterbrochen. Das Entscheidungsverhalten wäre nur bei der Unterbrechung der Informationsübertragung gestört, wenn TNT in R1-, R2- oder R3-Neuronen exprimiert wird (vgl. Abb. 19). Während Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2}, VT49921-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} und 189y-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} statistisch betrachtet zufällig eine Landmarke auswählen, präferieren Fliegen mit dem Genotyp VT043679-GAL4>UAS-TNT^{PIN7.2} die Landmarke mit dem zeitlichen Vorlauf, obwohl sich deren Strecken höchst signifikant von den Kontrollen unterscheiden. Das ist darauf zurückzuführen, dass die Fliegen häufiger die Richtung wechseln und die Wegstrecken dadurch länger ausfallen. Es wäre möglich, dass die Entscheidungsgeschwindigkeit bei den Kontrollfliegen geringer ist als bei Fliegen, die in einem der Subtypen TNT exprimieren.

Aus diesen Überlegungen folgt eine weitere interessante Fragestellung: Wie lange braucht ein Organismus, um sich für ein Objekt zu entscheiden (Entscheidungsgeschwindigkeit)? Desweiteren muss der Organismus die für sich vorteilhaftere oder interessantere Entscheidung treffen, welches mit der Exaktheit einer Entscheidung beschrieben werden kann (Exaktheit). Das würde wiederum bedeuten, dass die Fliegen zwar die für sie vorteilhaftere Entscheidung treffen können, jedoch für das Treffen der Entscheidung länger brauchen. Daher sind sie in der Lage, die „richtige“ Landmarke auszuwählen, die zurückgelegte Wegstrecke fällt aber länger aus. Auch im Bereich der Verarbeitung olfaktorischer Informationen wurden ähnliche fluktuierende Verhaltensweisen beobachtet. Die Phänomene Entscheidungsgeschwindigkeit und Exaktheit wirken sich hier auf das Verhalten von *Drosophila melanogaster* in der Integration olfaktorischer Stimuli aus. *FoxP*, ein Transkriptionsfaktor innerhalb des Pilzkörpers, wirkt sich auf das Entscheidungsverhalten aus: Mutanten zeigen zwar, dass sie sich prinzipiell richtig gegen einen aversiven Stimulus entscheiden können, jedoch länger brauchen um diese Entscheidung zu treffen. Dabei nimmt die Exaktheit der Entscheidung scheinbar ab, denn im Vergleich zu wildtypischen Fliegen betreten *FoxP*-Mutanten für eine kurze Zeit die Kammer mit dem aversiven Stimulus bevor sie sich von ihm abwenden (DasGupta et al., 2014).

Betrachtet man das memotaktische Verhalten aus einem anderen Blickwinkel, so kann man auch zu dem Gedanken gelangen, dass die Länge der zurückgelegten Strecken ein Indi-

kator darstellt, mit dem sich die Aufmerksamkeit von Fliegen beschreiben lässt. Die Definition von Aufmerksamkeit nach Posner et al. (1980) „It is the differentiation of objects of interest from other objects in the environment“ lässt sich auch auf das Memotaxis-Paradigma übertragen. Allerdings muss sich hier die Fliege entscheiden, ob sie der „Information Landmarke“ im Gedächtnis folgt oder der aktuell sichtbare Landmarke. Auch im Memotaxis-Paradigma würde dies bedeuten, dass Fliegen eine selektive Orientierung benötigen. Mit Hilfe einer selektiven Orientierung ist es nach Posner et al., 1980, möglich, sich in der Umwelt zu orientieren. Da die Landmarken ab einem definierten Zeitpunkt jedoch ununterscheidbar sind, muss die Information über die zwei Sekunden länger sichtbare Landmarke in einem Gedächtnis hinterlegt werden.

In zukünftigen Studien könnte die Analyse der zurückgelegten Strecke und der Landmarkenanläufe getrennt betrachtet werden, um entsprechende neuronalen Netzwerke und biochemischen Komponenten separat zu entschlüsseln.

4.7 Modell zur Funktionsweise eines visuellen Kurzzeitintegrators bei *Drosophila melanogaster*

Das nachfolgende Modell bezieht sich auf die visuelle Kurzzeitintegration, die sich mit Hilfe der analysierten Streckenlängen charakterisieren lässt. Aus der vorliegenden Studie geht hervor, dass die kurzzeitige Speicherung von visuellen Signalen im Memotaxis-Paradigma wahrscheinlich von mehr als einem Subtyp von Ringneuronen abhängt.

Betrachtet man den cAMP-Signalweg, der dazu führt, dass Membrankanäle und Rezeptoren posttranslational modifiziert werden (Kandel et al., 2012; Gadalla und Snyder, 2010), so zeigt die vorliegende Studie, dass der *Knockdown* von *rut* in jedem der vier Subtypen der Ringneuronen eine Einschränkung im Memotaxis-Gedächtnis zur Folge hat (vgl. Abb. 31). Die Ergebnisse bezüglich der Strecken zeigen, dass eine intakte Regulation des cAMP-Spiegels in nur drei Subtypen der Ringneuronen alleine nicht ausreicht, damit die Fliegen sich zielgerichtet verhalten. Um die kurzzeitige Integration des visuellen Signals zu übernehmen, ist es anscheinend notwendig, dass vier Subtypen von Ringneuronen hinsichtlich *rut* funktionstüchtig ausgebildet sind. Wird die wildtypische cDNA von *ign²⁻¹* in einem *ign^{58/1}*-mutanten Hintergrund nur in einem Subtyp der Ringneuronen exprimiert wird, kann das Verhalten auf das wildtypische Niveau wiederhergestellt werden, wenn man sich die statistischen Analysen bezüglich der zurückgelegten Strecken anschaut (vgl. Abb. 39 B). Dies bedeutet jedoch nicht,

dass die Ringneuronen-Subtypen, in denen die Mutation *ign*^{58/1} ausgeprägt ist, nicht funktionieren. Das in diesem Kapitel vorgestellte Modell liefert eine mögliche Erklärung und zeigt, dass die RSKII und die AC nicht im selben Signalpfad aktiv sein müssen.

Nach Turner-Evans et al., 2017, leiten P-EN-Neuronen die visuelle Information von der Protocerebralbrücke zum Ellipsoidkörper und den Noduli. Deswegen wäre es möglich, dass diese Neuronen die präsynaptischen Neuronen der Ringneuronen-Subtypen sind. Bisher lässt sich folgende Funktionsweise der visuellen Kurzzeitintegration auf biochemischer Ebene modellieren: Das visuelle Signal, welches zu Beginn der Messung für insgesamt drei Sekunden sichtbar ist, löst in einem präsynaptischen Neuron eine Folge von Aktionspotenzialen (AP) aus (vgl. Abb. 52 A). Transmittervesikel fusionieren mit der präsynaptischen Membran und setzen den Transmitter Glutamat frei. Es erfolgt die Aktivierung der Glutamat-Rezeptoren, wie z.B. AMPA-/Kainat-Rezeptoren. Danach entsteht am Axonhügel des postsynaptischen Neurons ein exzitatorisches, postsynaptisches Potenzial (EPSP), welches nach einer räumlichen oder zeitlichen Summation der Spannung in einer Folge von Aktionspotenzialen resultiert. Die Spannung wird zu den synaptischen Verzweigungen weitergeleitet. In dem Modell sind die synaptischen Endknöpfchen mit der gleichen Zelle verschaltet, Prä- und Postsynapse sind ein und die gleiche Zelle. Möglicherweise entspricht diese Anordnung dem „Agora-Synapsentyp“, der zu etwa 8% im Ellipsoidkörper identifiziert werden konnte. Dieser Synapsentyp besitzt zwei voneinander unabhängige aktive Zonen und besitzt die Eigenschaft eines Koinzidenzdetektors (Martín-Peña et al., 2014). Erst wenn zwei Bedingungen erfüllt sind, löst sich der Mg²⁺-Block von den NMDA-Rezeptoren und wird aktiviert. Zum einen muss die Präsynapse aktiv sein, zum anderen muss eine Folge von APs am Axonhügel der Postsynapse ausgelöst werden.

Nach der Aktivierung der NMDA-Rezeptoren kommt es zu einem weiteren Einstrom von Ca²⁺ in die Zelle (vgl. Abb. 52 A). Der infolgedessen entstehende Ca²⁺/CaM-Komplex aktiviert die AC. Im nachfolgenden Schritt ist es wahrscheinlich, dass der erhöhte cAMP-Spiegel die PKA aktiviert. Die Expression der RNAi gegen die C2-Untereinheit der PKA in R1-Neuronen führte zu einer eingeschränkten visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma. Die Strecken fallen höchst signifikant länger aus als die Strecken der Kontrollen und auch die Landmarkenauswahl erfolgt, statistisch betrachtet, zufällig (Dorschel, Bachelorarbeit 2015, unveröffentlicht). Die PKA ist in der Lage, Zielproteine, wie z.B. NMDA-Rezeptoren, zu phosphorylieren und zu aktivieren (Kimura, 2000).

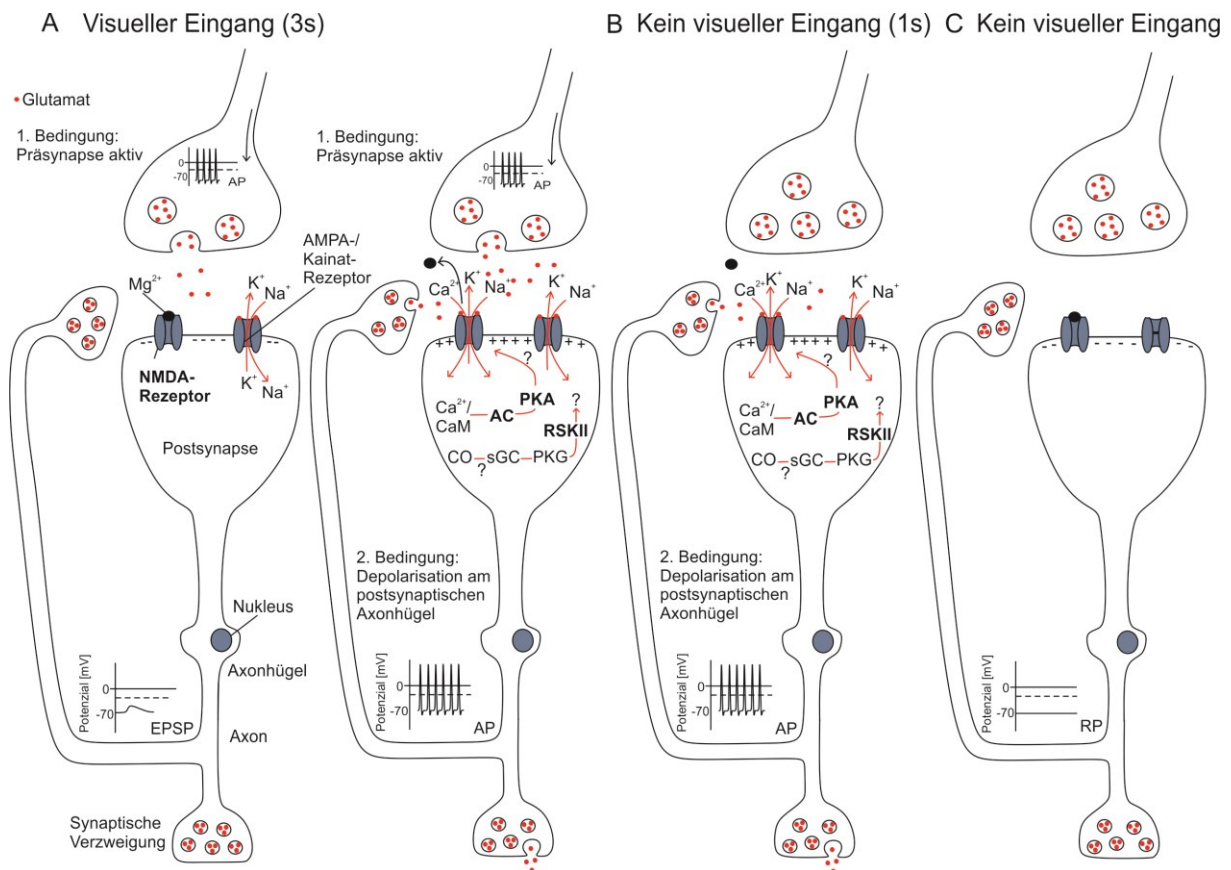


Abb. 52. Modell zur Funktionsweise des visuellen Kurzzeitintegrators. A) Der visuelle Eingang, der zu Beginn der Messung für drei Sekunden erfolgt, hat zur Folge, dass das einlaufende Aktionspotential (AP) in der Präsynapse des glutamatergen Neurons die Exocytose einleitet. Im synaptischen Spalt aktiviert Glutamat die Glutamat-Rezeptoren der Postsynapse, wie z.B. AMPA-/Kainat-Rezeptoren. Am Axonhügel entsteht ein exzitatorisches postsynaptisches Potenzial (EPSP). Erreicht das Potenzial einen Schwellenwert (gestrichelte Linie), wird eine Folge von APs ausgelöst. Nun sind zwei Bedingungen für die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren erfüllt: Zum einen ist die Präsynapse aktiv und zum anderen ist das Membranpotenzial am Axonhügel depolarisiert. Mg^{2+} löst sich von den NMDA-Rezeptoren und Ca^{2+} strömt in das Zellinnere ein. Das Neuron ist nun in der Lage, das elektrische Signal in ein chemisches Signal zu transformieren und in den synaptischen Verzweigungen die Exocytose der mit Transmitter gefüllten Vesikel einzuleiten. Die postsynaptische Zelle ist durch ihren besonderen Aufbau, in dem sie prä- und postsynaptische Zelle zugleich sein kann, in der Lage, das chemische Signal zu verstärken. B) Verschwindet das visuelle Signal nach drei Sekunden, ist bereits Folgendes geschehen: Ca^{2+} verbindet sich mit Calmodulin zum Ca^{2+}/CaM -Komplex, infolgedessen wird die AC aktiviert. AC sorgt für den Anstieg des cAMP-Spiegels, so dass die PKA aktiv wird. Die PKA phosphoryliert möglicherweise die NMDA-Rezeptoren, der Ca^{2+} -Einstrom wird verstärkt. Gleichzeitig sorgt die aktivierte sGC, die möglicherweise durch CO dazu veranlasst wurde, cGMP zu hydrolysieren, für die Phosphorylierung der PKG. Infolgedessen wird die RSKII aktiv und kann Zielproteine phosphorylieren. Durch die Eigenschaft der NMDA-Rezeptoren, den aktiven Zustand einige 100 ms aufrechtzuerhalten, ist die Zelle auch aktiv, wenn das visuelle Signal, welches ein ortsspezifisches neuronales Netzwerk aktiviert, verschwindet. Da jedoch die Bedingung „Präsynapse aktiv“ nicht mehr gegeben ist, werden keine weiteren Transmitter mehr in den synaptischen Spalt sezerniert. C) Erfolgt kein erneuter visueller Eingang, so dass die erste Bedingung wieder erfüllt wird, ist auch die zweite Bedingung nicht mehr gegeben. Das Ruhepotenzial (RP) stellt sich ein, das Neuron ist inaktiv.

Diese Regulation würde es dem neuronalen Netzwerk erlauben, die Information bezüglich der Landmarke in den Neuronen des Ellipsoidkörpers zu integrieren und es der Fliege ermöglichen, den Kurs nach Verschwinden des Objektes beizubehalten. Den Ringneuronen ermöglicht es mit Hilfe der NMDA-Rezeptoren die eigene neuronale Aktivität zu verstärken und

aufrecht zu erhalten. Elektrophysiologische Untersuchungen konnten in Ratten und anderen Säugetieren nachweisen, dass in den Dendriten nach neuronaler Stimulation der Ca^{2+} -Spiegel anstieg, und nur langsam wieder verebbte. Dabei wurde auch festgestellt, dass der Ca^{2+} -Spiegel von der Stärke der Stimulation abhing (Robinson, 2015; Zylbertal et al., 2015). Auch bei *Drosophila melanogaster* konnte nachgewiesen werden, dass der interne Ca^{2+} -Spiegel vom externen Umfeld abhängt und durch die Präsentation visueller Landmarken reguliert werden kann (Seelig und Jayaraman, 2013; 2015).

Mit Hilfe der NMDA-Rezeptoren bleiben die Neuronen für einige 100 ms aktiv, so dass nach dem Verschwinden des ortsabhängigen visuellen Eingangs das ortsspezifische Netzwerk in seiner Aktivität aufrechterhalten bleibt. Dies erlaubt der Fliege, weiterhin auf ihr Ziel zu zulaufen, auch wenn es kurzzeitig nicht sichtbar ist (vgl. Abb. 52 B). Sobald die sensorischen Neuronen keinen sensorischen Eingang mehr erhalten, stellt sich nach einigen 100 ms wieder das Ruhepotenzial ein, da sich die Liganden wieder von den Rezeptoren lösen, so dass diese nicht mehr aktiv sind. Eine weitere Möglichkeit, das Ruhepotenzial innerhalb der aktivierten Neuronen wieder herzustellen, stellt die inhibierende Rückkopplung dar, wie sie in Abb. 9 erklärt wird.

Mit der vorliegenden Studie kann zum ersten Mal die Beteiligung von NMDA-Rezeptoren an der visuellen Kurzzeitintegration gezeigt werden. NMDA-Rezeptoren regulieren den Einstrom von Ca^{2+} in einem der Sektoren im Ring, denn laut Wolff et al. (2015) befinden sich die Eingangsdomänen des Ellipsoidkörpers im posterioren Bereich des Ringsystems. Aber auch Ca^{2+} in den Bulbi ist für die Verarbeitung visueller Signale notwendig (Seelig und Jayaraman, 2013), wobei das Ca^{2+} in einem Sektor des Ellipsoidkörpers nicht das gleiche Ca^{2+} wie in den Bulbi sein kann. Erst wenn kein visueller Eingang vorhanden ist, und sich das Ruhepotenzial eingestellt hat, läuft die Fliege nicht weiter auf die Landmarke zu (vgl. Abb. 52 C).

Die Analyse des cGMP-Signalwegs ergibt, dass PKG und RSKII für die visuelle Orientierung im Memotaxis-Paradigma benötigt werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Expression der cDNA von *ign*²⁻¹ in einem *ign*^{58/1}-mutanten Hintergrund in den vier Subtypen der Ringneuronen, die mit den Treiberlinien 198y-GAL4, EB1-GAL4, 189y-GAL4 oder *ftz-(ng)*-GAL4 adressiert wurden, die visuelle Kurzzeitintegration zurück auf das wildtypische Niveau bringen kann, wenn man sich die Strecken anschaut (vgl. Abb. 39 B). Das wildtypische Niveau bezüglich der Landmarkenanläufe stellt sich nur ein, wenn die Treiberlinien 198y-GAL, EB1-GAL4 und 189y-GAL4 verwendet werden (vgl. Abb. 39 A).

Um die nicht-zellautonome Funktion zu erklären, ist es möglich, dass auch bei der visuellen Orientierung im Memotaxis-Paradigma Gasotransmitter zum Einsatz kommen. In dem hier präferierten Modell wird die sGC durch den Gasotransmitter CO aktiviert, da die vorliegende Studie die Beteiligung von NO ausschließen kann. Die RNAi-Versuche zeigten, dass die Herunterregulierung von NOS nicht das Memotaxis-Gedächtnis beeinträchtigt (vgl. Abb. 41) und die anderen Ringsysteme enthalten keine immunhistochemisch nachweisbare NOS (Kuntz et al., 2017). Und auch die Überexpression von NOS führte zu keiner Beeinträchtigung im Memotaxis-Paradigma (vgl. Abb. 42). Um diese Hypothese näher zu untersuchen, ist es notwendig, die Rolle der Hämoxxygenase (HO) bei der visuellen Kurzzeitintegration bei *Drosophila melanogaster* näher zu charakterisieren.

Die GC ist in der Lage, neben NO, auch CO zu binden (Dawson und Snyder, 1994; Maines et al., 1997). CO wird von der HO in *Drosophila melanogaster* synthetisiert und reguliert den Häm-Metabolismus. Die HO oxidiert Hemin zu Biliverdin, dabei wird CO und Fe^{2+} freigesetzt. Häm ist die funktionelle Gruppe von bedeutenden Enzymen, z.B. von Katalasen oder aber auch von NOS, und damit für die Stoffwechselreaktion im Organismus essentiell. Die HO wird mit antioxidativen Prozessen und der Regulation des cGMP-Spiegels in Zusammenhang gebracht (Zhang et al., 2004). Im Hippocampus übernimmt HO eine ähnliche Funktion wie NOS, indem das Enzym die Produktion von Gasotransmittern katalysiert. Die HO aktiviert durch die Produktion von CO eine GC und moduliert den cGMP-Spiegel. Im Nervensystem steuert es, ähnlich wie NOS, Gedächtnisfunktionen und sorgt für die Etablierung des LTP. CO kann zum einen den cGMP-Spiegel in der Postsynapse regulieren, zum anderen kann es aber auch als retrograder Botenstoff die Exocytose der Präsynapse verstärken und die Kanäle von benachbarten Zellen regulieren, indem es innerhalb der Zelle den cGMP-Spiegel moduliert (Maines et al., 1997).

Während es bei Säugetieren die zwei Isoformen HO-1 und HO-2 gibt, konnte bisher bei *Drosophila melanogaster* nur ein Protein identifiziert werden (Maines et al., 1997; Zhang et al., 2004). Die Aktivierung der HO erfolgt durch unterschiedliche Ereignisse: Die HO-1 ist ein Hitzeschockprotein, wird aber auch bei oxidativen Stress aktiviert. HO-1 ist vor allem in der Milz und der Leber vorhanden. Die HO-2 ist im Nervensystem mit der GC kolokalisiert und kann wahrscheinlich durch die Proteinkinase C (PKC) phosphoryliert werden und CO produzieren (Snyder et al., 1998). Aber auch Glucocorticoide wie Adrenalin können die HO-2 aktivieren (Maines et al., 1997). Die HO bei *Drosophila* ist homolog zu der menschlichen HO (Zhang et al., 2004). Im Zusammenhang mit dem vorgeschlagenen Modell aktiviert CO die

sGC, die GTP zu cGMP hydrolysiert. Daraufhin wird die RSKII aktiviert (vgl. Abb. 52 B). dCREB als Interaktionspartner kann die vorliegende Studie ausschließen. Welches andere Zielprotein die RSKII bei der Memotaxis besitzt, ist nicht untersucht.

Parallel dazu aktiviert der Ca^{2+} /CaM-Komplex die AC. Der steigende cAMP-Spiegel aktiviert möglicherweise die PKA, welche Membrankanäle modifiziert, so dass die Leitfähigkeit der Ionen in die Zelle weiter steigt. Dieser Vorgang bewirkt die Verstärkung des Signals, so dass die Information integriert werden kann. PKA könnte auch die Modulation der NMDA-Rezeptoren übernehmen, so dass die Aktivität der Kanäle weiterhin verstärkt wird. Studien an neuronalen Zellkulturen zeigen, dass sowohl die AC und die PKA die Aktivität der NMDA-Rezeptoren verstärken können (Kimura, 2000). Die erhöhte Aktivität der AC und der PKA verstärken z.B. die Aktivität der durch NMDA-Rezeptoren vermittelten Ionenströme im dorsalem Horn (Hinterhorn des Rückenmarks) (Cerne et al., 1993), der Amygdala (Huang et al., 1993) und dem Neostrium, dem Hirngebiet der unwillkürlichen Motorik bei Säugern (Colwell et al., 1995; Kimura, 2000).

Das in Abb. 53 gezeigte Modell stellt die Anwendung des Systems aus Abb. 52 auf die Ringneuronen des Ellipsoidkörpers dar. Es geht davon aus, dass in Abhängigkeit der visuellen Landmarken mehrere Subtypen der Ringneuronen partiell aktiviert werden. Außerdem liefert es eine mögliche Erklärung, wie es auf biochemischer Ebene zur Rettung des Verhaltens von *ign*^{58/1}-Mutanten kommen kann, wenn die wildtypische cDNA von *ign*²⁻¹ in nur einem Subtyp der Ringneuronen zur Verfügung steht. Zum Zeitpunkt t aktiviert der visuelle Eingang sowohl den AC/PKA-Signalweg zur Modulation der präsynaptischen Kanäle, als auch den PKG/RSKII-Signalweg (vgl. Abb. 53 A). In dem Beispiel wird die Aktivierung der R1-Neuronen veranschaulicht. CO könnte als Neuromodulator eine doppelte Funktion ausüben: Zum einen wirkt es retrograd und verstärkt die Exocytose der Präsynapse, zum anderen wirkt es auf benachbarte Präsynapsen, indem es dort die Exocytose auslöst und damit gleichzeitig die Aktivität der benachbarten Neuronen verstärkt (vgl. Abb. 53 A). Dies wiederum hat zur Folge, dass Ca^{2+} und weitere positiv geladenen Ionen in den Ringneuronen-Subtyp R2 gelangen können. Der Ca^{2+} /CaM-Komplex wird auch in den Neuronen aktiviert, die keine funktionelle RSKII besitzen. Trotzdem kann durch die CO-gesteuerte Exocytose die AC aktiviert werden, die für den hohen cAMP-Spiegel sorgt. Dies wiederum führt zur Aktivierung der PKA, die ihre Zielproteine modifizieren kann, wie z.B. NMDA-Rezeptoren (vgl. Abb. 53 B). Der parallel verlaufende cAMP-Signalweg führt dazu, dass die Fliegen sich im Memotaxis-Paradigma orientieren können, auch wenn in diesem Subtyp keine funktionelle RSKII zur Verfügung steht.

In diesem Fall wird die eigentliche Signalgebung gerettet. Aktivierte Zelle und „gerettete“ Zelle würden immer synchron funktionieren und damit würde es sich um eine echte Redundanz handeln. In diesem Fall würde CO während der Präsentation des visuellen Stimulus bereitgestellt werden. Bei Säugetieren kann die HO wahrscheinlich durch die PKC phosphoryliert werden und CO produzieren (Snyder et al., 1998), ob das auch bei *Drosophila* möglich ist, ist noch nicht untersucht.

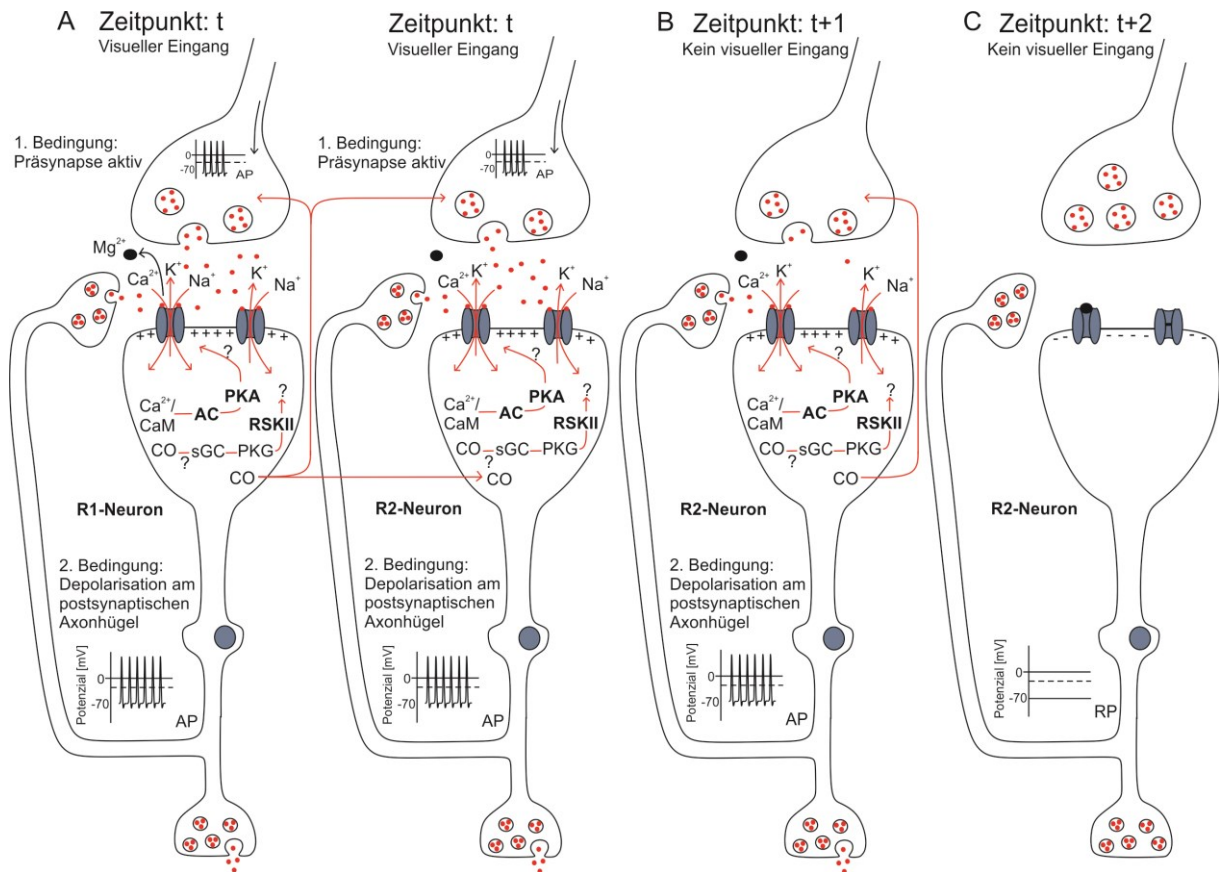


Abb. 53. Modell zur Kurzzeitintegration. A) Erscheint ortsabhängig zum Zeitpunkt t der visuelle Eingang, wird dieser in ein ortsspezifisches neuronales Netzwerk innerhalb des Ellipsoidkörpers integriert. Exemplarisch ist ein Neuron des Ringneuronen-Subtyp R1 dargestellt. Sobald die Präsynapse aktiv ist und am Axonhügel der Postsynapse ein Schwellenwert erreicht wird, öffnen sich die NMDA-Rezeptoren. Das einströmende Ca^{2+} bildet zusammen mit CaM den Ca^{2+} /CaM-Komplex, dieser aktiviert die Adenylylzyklase (AC). Daraufhin wird wahrscheinlich die PKA aktiviert, die möglicherweise die Aktivität der NMDA-Rezeptoren verstärkt. Neben NO ist CO ein weiterer Gasotransmitter, der die lösliche Guanylylzyklase (sGC) aktivieren kann. Möglicherweise wird für die Funktion des memotaktischen Gedächtnisses CO produziert, welches wiederum an die sGC bindet. Die sGC kann infolgedessen cGMP generieren. Ein hoher cGMP-Spiegel aktiviert die Proteinkinase G (PKG). Daraufhin wird die RSKII phosphoryliert. Welches Substrat die RSKII für die Funktionsweise des memotaktischen Gedächtnisses besitzt, ist nicht untersucht. Möglicherweise werden auch bei diesem Gedächtnis bereits im Vorfeld durch die Bereitstellung von anderen Transkriptionsfaktoren als dCREB Kompetenzfaktoren aktiviert. Als Gasotransmitter könnte CO aber auch akut retrograd auf die Präsynapsen und auf die Präsynapsen der Neuronen in der Nachbarschaft wirken und dort die Exocytose der mit Transmitter gefüllten Vesikel verstärken. B) Ändert sich der ortsspezifische visuelle Eingang zum Zeitpunkt t+1, so bleiben die zuvor aktivierten NMDA-Rezeptoren noch einige hundert Millisekunden geöffnet, so dass die Neuronen noch aktiv sind. C) Erst wenn kein erneuter visueller Eingang erfolgt, der zur Öffnung der NMDA-Rezeptoren führt, kann die Repolarisation der Zelle erfolgen, so dass sich nach der Hyperpolarisation das Ruhepotential (RP) wieder einstellt.

Eine andere, wahrscheinlichere Möglichkeit ist, dass die RSKII auch für das memotaktische Verhalten für die Aktivierung von Kompetenzfaktoren sorgt. Möglicherweise phosphoryliert die RSKII andere Transkriptionsfaktoren, die dafür sorgen, dass bereits im Vorfeld potentielle Kompetenzfaktoren bereitgestellt werden. Aufschlussreich kann die Identifizierung von weiteren Zielproteinen der RSKII sein, denn möglicherweise gibt es noch weitere Transkriptionsfaktoren, die von der RSKII reguliert werden.

Nach der Aktivierung können NMDA-Rezeptoren noch einige 100 ms geöffnet (Dzubay und Jahr, 1996). Andere Studien zeigen, dass NMDA-Rezeptoren sogar über eine Sekunde lang geöffnet sein können (Mongillo et al., 2008). Diese Eigenschaft würde es der Zelle ermöglichen, ihre Aktivität für eine Sekunde aufrecht zu erhalten. Sobald kein neuer visueller Eingang mehr erfolgt, wäre die erste Bedingung „Präsynape aktiv“ nicht mehr gegeben, so dass sich die NMDA-Rezeptoren schließen würden (vgl. Abb. 53 C). Das CO alleine würde in der Präsynapse nicht ausreichen, um die Exocytose aufrecht zu erhalten.

Um die Aktivierung des ortsspezifischen Netzwerkes zu gewährleisten, benötigt das System eine inhibierende Rückkopplung wie sie in Abb. 51 dargestellt wird. Die in rot dargestellten Interneurone bilden die inhibierende Rückkopplung und können das Ruhepotenzial in den Zellen wieder herstellen, wenn kein neuer sensorischer Eingang erfolgt. Dieses System bewirkt zum einen, dass bei Veränderung des visuellen Eingangs die Fliege weiter auf ihr Ziel zulaufen kann, auch wenn es nicht sichtbar ist. Weiterhin bewirkt es, dass Stimuli, die an einem anderen Ort erscheinen, inhibiert werden können (vgl. Abb. 51). Im Zusammenhang mit inhibitorisch wirkenden Neurotransmittern ist bekannt, dass im Bereich des Ellipsoidkörpers der Neurotransmitter GABA verstärkt nachgewiesen werden kann (Hanesch et al., 1989). Auch die Ringneuronen selber besitzen GABA-Rezeptoren (Xie et al., 2017). Die Kombination 796-GAL4>UAS-GFP exprimiert GFP in den Rigneuronensubtypen R1-R4 und zeigt jedoch Überlappung mit der Antikörperfärbung gegen GABA, so dass aktuelle Studien davon ausgehen, dass das nachweisbare GABA-Signal Bestandteil von anderen Ringneuronen oder aber von Kleinfeldneuronen ist (Martín-Peña et al., 2014). Die inhibitorische Wirkung von GABAergen Rezeptoren könnte das inhibierende Rückkopplungssystem darstellen, welches bewirkt, dass sich die Aktivität der Neuronen ausschließlich in Abhängigkeit der angelaufenen Landmarke widerspiegelt.

Betrachtet man die Aktivität der E-PG-/EB.w-Neuronen, bzw. das Ca^{2+} -Signal, in Abhängigkeit einer visuellen Landmarke, so sieht man eine sektorförmige Aktivität, die die Information entsprechend der Sektoren des Ellipsoidkörpers abgreift (Seelig und Jayaraman, 2015;

Turner-Evans et al., 2017). Die Ringneuronen sind jedoch kreisscheibenförmig im Ellipsoidkörper angeordnet (Hanesch et al., 1989; Wolff et al., 2015). Dies könnte bedeuten, dass Ringneuronen die Information sektorabhängig, lokal an die E-PG-Neuronen übertragen. Während einige synaptische Endknöpfchen eines Ringneuronen-Subtypen aktiv sind und Transmitter in den synaptischen Spalt sezernieren, müssten die anderen inaktiv bleiben. Da Dale's Prinzip davon ausgeht, dass jedes Neuron in allen Synapsen die gleiche Kombination von Neurotransmittern und Neuropeptiden besitzt, kommt es auf die regulatorischen Eigenschaften der entsprechenden Rezeptoren an (Hökfelt et al., 1986). Eine Art von Rezeptor kann, je nach Aufbau, exzitatorische oder inhibitorische Signale vermitteln. Wie genau jedoch die Rezeptorenzusammensetzung der R-Neuronensubtypen und der auf sie einwirkenden Transmitter und Neuropeptide aussieht, ist jedoch nicht untersucht.

Das partielle Ca^{2+} -Signal der E-PG-Neuronen lässt vermuten, dass auch die Aktivierung der axonalen, synaptischen Verzweigungen der Ringneuronen-Subtypen partiell erfolgt, damit die Informationen an die E-PG-Neuronen übertragen werden können. Es besteht die Annahme, dass innerhalb der Ringneuronen-Subtypen eine ortsspezifische Aktivierung von axonalen, synaptischen Verzweigungen ein visuelles Objekt in der externen Umwelt repräsentiert. Im Zusammenhang mit den Studien von Seelig und Jayaraman (2013) und Turner-Evans et al. (2017) betrachtet wäre es möglich, dass diese ortsspezifische Aktivierung von synaptischen Endknöpfchen durch das Ca^{2+} -Signal ausgelöst wird, welches durch die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren verursacht wird. Die inhibierende Rückkopplung nach Lisman et al. (1998) könnte die Aktivität innerhalb der synaptischen Endknöpfchen inhibieren, die nicht an der Repräsentation des visuellen Signals aus der externen Umwelt beteiligt sind.

Auch Studien an *Drosophila melanogaster* zeigen, dass ein Neuronen-System aus P-EN-Neuronen, also Neuronen, die den Informationsfluss von der Protocerebralbrücke zum Ellipsoidkörper und den Noduli gewährleisten, zusammen mit den E-PG-Neuronen, die die Informationen vom Ellipsoidkörper zur Protocerebralbrücke und zur Gall leiten, ein für das sensorische Signal spezifisches, sektorabhängiges Muster bilden. Aktuelle Studien konnten zeigen, dass die P-EN-Neuronen zusammen mit den E-PG-Neuronen die Ca^{2+} -abhängigen Aktivitätsmuster modulieren, die in Abhängigkeit einer visuellen Landmarke in den E-PG-Neuronen nachweisbar sind. Während die funktionale Verbundenheit mit Hilfe elektrophysiologischer Untersuchungen und Ca^{2+} -Imaging eindeutig nachgewiesen werden konnte, besteht bisher die Hypothese, dass E-PG-Neuronen mit den P-EN-Neuronen verbunden sind und einen Inhibitionskreislauf bilden könnten. Zukünftige Studien sollten klären, wie exzita-

torische und inhibitorische Neuronen-Populationen zusammenarbeiten, um das Ca^{2+} -Signal und die Kompassfunktion dieser Neuronen zu modulieren (Turner-Evans et al., 2017).

Aus den vorliegenden Ergebnissen lässt sich schließen, dass an der visuellen Kurzzeitintegration alle vier Subtypen der Ringneurone beteiligt sind. Es gibt bisher keinen Hinweis, dass das memotaktische Gedächtnis nur in einem Subneuronentyp der Ringneuronen hinterlegt wird (vgl. Kap.4.5, vgl. Kap. 4.4, vgl. Kap. 4.1). Daher wird vorgeschlagen, dass sich das Modell aus Abb. 53 auf jeden der vier Subtypen von Ringneuronen übertragen lässt.

Dieses Modell berücksichtigt die Grundlagen für die Funktionweise der visuellen Kurzzeitintegration, welche für das memotaktische Verhalten essentiell ist. Im Zusammenhang mit dem Hopfield-Modell (vgl. Abb. 51) betrachtet, ist die zeitliche Integration der Information eines visuellen Objektes an einem Ort in der Umwelt durch die Aufrechterhaltung der neuronalen Aktivität möglich. Die vorliegende Studie zeigt, dass NMDA-Rezeptoren als Schnittstellen für das visuelle Arbeitsgedächtnis und die zeitliche Integration visueller Landmarken benötigt werden. Des Weiteren können einige biochemische Komponenten identifiziert werden, die neben der Ausbildung des Detour-Gedächtnisses auch für die Funktionsweise des memotaktischen Gedächtnisses sorgen.

Folgende Vorgehensweisen sind notwendig, um das vorgeschlagene Modell zu unterstützen und zu erweitern.

- Analyse der sGC. Da diese die PKG phosphoryliert (Kuntz et al., 2017), und das enthaltene Eisen-Ion nicht nur NO sondern auch CO binden kann (Dawson und Snyder, 1994), ist es eine spannende Frage, ob die visuelle Kurzzeitintegration durch den Gasotransmitter CO vermittelt wird. Für das Detour-Gedächtnis wird NO bereits im Vorfeld für die Aktivierung der Kompetenzfaktoren benötigt (Kuntz et al., 2017). Es wäre eine spannende Frage, ob Gasotransmitter auch biochemische Prozesse auslösen die direkt nach der Präsentation eines visuellen Stimulus ablaufen und infolgedessen die Dauer von geöffneten Kanälen beeinflussen können.
- Ein interessanter Forschungsansatz ist die Untersuchung der Funktion der Hämoxygenase (HO) in *Drosophila melanogaster*, da die GC neben NO auch CO binden kann (Dawson und Snyder, 1994). Die HO in *Drosophila melanogaster* produziert CO (Zhang et al., 2004). NO und CO binden an die Häm-Gruppe der GC, verändern die Konformation des Proteins und aktivieren die katalytische Untereinheit. Dies führt zur Aktivierung von cGMP (Friebe et al., 1996; Gadalla und Snyder, 2010). CO ist in

der Lage über Zellmembranen hinweg zu diffundieren um dort biochemische Prozesse zu regulieren (Gadalla und Snyder, 2010).

- Da die Untereinheit PKA-C1 in den Subtypen der R1-Ringneuronen nicht benötigt wird, und der *Knockdown* der PKA-C2-Untereinheit in diesen Neuronen das memotaktische Orientierungsgedächtnis stört, kann der *Knockdown* auch in den Subtypen der Ringneuronen R2 bis R5 durchgeführt werden, um zu überprüfen, ob die PKA auch in diesen Neuronen benötigt wird.
- Weiterhin ist es interessant, Zielproteine der PKA zu identifizieren, z.B. die Analyse von Synapsin. *syn*-Mutanten zeigen, dass sie Defekte im Zusammenhang mit Lernen und Gedächtnis besitzen (Godenschwege et al., 2004; Michels et al., 2005). Die PKA und Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinasen I/IV phosphorylieren bei den Mammalia und *Aplysia* Synapsin (Diegelmann et al., 2006).
- Interaktionsstudien mit PKA und NMDA-Rezeptoren da die PKA die Aktivität der NMDA-Rezeptoren verstärken können (Kimura, 2000).
 - Der *Knockdown* der NMDA-Rezeptoren in den Subtypen der Ringneuronen und der resultierende Verlust des Arbeitsgedächtnisses und des memotaktischen Gedächtnisses führen zu der Annahme, dass der Einstrom von Ca^{2+} für die Funktionsweise der beiden Gedächtnisse notwendig ist. Da Ca^{2+} jedoch auch durch weitere Transporter in die Zelle geschleust wird, ist auch die Untersuchung der Funktion dieser Ca^{2+} -Transporter interessant. So könnte man diese in der Zellmembran der Ringneuronen überexprimieren, um zu schauen, ob der Ca^{2+} -Einstrom damit kompensiert und die visuelle Orientierung wiederhergestellt werden kann.
- Expression von UAS-*dNR1*(N631Q) auch in den anderen Ringneuronsystemen steuern und Verhaltensanalysen durchführen, um zu überprüfen, ob das memotaktische Orientierungsgedächtnis erhalten bleibt.
- Quantitative Analysen bezüglich der Expressionrate von dCREB und NOS, um zu überprüfen, ob die Mutanten bezüglich des Asparagins an der Stelle N631 in den R3-Neuronen 189y-GAL4>UAS-*dNR1*(N631Q) tatsächlich eine geringere Expressionsrate von dCREB oder NOS zeigen, z.B. mit PCR und Western Blot.
- H_2S kann die Aktivität der NMDA-Rezeptoren verstärken (Abe und Kimura, 1996; Kimura, 2002; Eto et al., 2002). Daher wäre ein interessanter Versuchsansatz, den Einfluss von CBS auf die visuelle Kurzzeitintegration zu analysieren.

- Analyse der anderen fünf PDEs. Wenn CO die sGC aktiviert, muss der erhöhte cGMP-Spiegel wieder abgebaut werden. Bei *Drosophila melanogaster* sind bisher sechs PDEs bekannt: PDE1, *dunce* (PDE4), PDE6, PDE8, PDE9 und PDE11 (Day et al., 2005).

5. Zusammenfassung

Gegenstand der Untersuchungen war das Memotaxis-Gedächtnis von *Drosophila melanogaster*. Memotaxis bezeichnet die zeitliche Integration einer sensorischen Information. Hier wird visuelle Information studiert. Wird eine Landmarke länger als eine gleich aussehende, alternative Landmarke gezeigt, so entscheiden sich wildtypische Fliegen für erstere Landmarke und bleiben bei ihrer Wahl, wenn die beiden Landmarken danach immer abwechselnd gezeigt werden. Die Speicherung der visuellen Information trägt Züge einer Kurzzeitintegration; die Fliege kann damit Unterbrechungen im Sekundenbereich überbrücken. Ein Verlust dieses Integrators führt dazu, dass die Fliegen immer auf die gerade sichtbare Landmarke zulaufen, also Zickzack laufen. Daneben war ein visuelles Kurzzeitgedächtnis, auch visuelles Arbeitsgedächtnis genannt, bereits bekannt, das den Fliegen erlaubt, noch ca. vier Sekunden auf eine Landmarke zuzulaufen, die nicht mehr sichtbar ist. Selbst nach einer Ablenkung aus der Landmarkenrichtung können wildtypische Fliegen in 80% der Fälle wieder auf die ursprüngliche Richtung einschwenken. Die Biochemie und die Lokalisation des sogenannten Detour-Gedächtnisses waren bekannt, so dass Gemeinsamkeiten und Unterschiede untersucht werden konnten. Es wird gezeigt, dass beide Prozesse auf biochemischer Ebene miteinander verknüpft sind. Im Zusammenhang mit der visuellen Kurzzeitintegration werden vier von fünf Subtypen der Ringneuronen benötigt. NMDA-Rezeptoren innerhalb des Ellipsoidkörpers sind für die visuelle Kurzzeitintegration und das visuelle Arbeitsgedächtnis essentiell. *Knockdown*-Versuche zeigen, dass beide Gedächtnisse nicht gebildet werden können, wenn die dNR1-Untereinheiten in den R1-, R2-, R3- oder R4-Ringneuronen-Subtypen herunterreguliert werden. Darüberhinaus wird gezeigt, dass der Mg^{2+} -Block der NMDA-Rezeptoren in den Ringneuronen-Subtypen R3 benötigt wird, um das Arbeitsgedächtnis zu etablieren, nicht aber für das Memotaxis-Gedächtnis. Weiterhin deckt die Arbeit auf, dass die doppelt regulierte *rutabaga*-Adenylylzyklase und der cAMP-Signalweg Einfluss auf die Memotaxis ausüben. Auch die ribosomale S6 Kinase II (RSKII) als Komponente des cGMP-Signalwegs ist an der Regulation des memotaktischen Verhaltens beteiligt. Anders als im visuellen Arbeitsgedächtnis wird NO, das durch die Nitritoxid-Synthase synthetisiert wird, nicht benötigt. Für die Funktion des visuellen Arbeitsgedächtnisses phosphoryliert die RSKII den Transkriptionsfaktor dCREB. Die vorliegende Studie schließt die Beteiligung von dCREB an der visuellen Kurzzeitintegration aus. Die aktuelle Studie zeigt, dass NMDA-Rezeptoren nicht nur zur Etablierung bestimmter Langzeitgedächtnisse bei Vertebraten beitragen, son-

dern dass sie auch visuelle Orientierungsstrategien wie die visuelle Kurzzeitintegration und das Arbeitsgedächtnis in *Drosophila* beeinflussen und dass diese zwei Strategien auf biochemischer Ebene miteinander verknüpft sind.

6. Summary

The present study reveals the efficient encoding of a relevant visual target in spite of a visual distractor in a virtual-reality arena. This kind of memotactic behavior enables goal-driven behavior, so that flies are able to reach their goal in the presence of another competing stimulus. This process is reminiscent of visual integration, which is a very short form of a visual memory and it lasts only one second. On the molecular level, the study turns out differences to another kind of memory, the visual working memory, but it also shows that both processes are closely intertwined. Working memory highlights the temporary maintenance of information, whereas memotaxis is necessary for encoding a relevant information and goal-driven behavior when competing visual stimuli are present. For visual orientation both phenomena are essential. The study provides evidence, that four of five subtypes of R-Neurons are necessary to facilitate memotactic behavior. Furthermore, NMDA-Receptors in the R-Neurons of the ellipsoid body enable the fly to hold the information in mind, although the visual target disappears and a distractor becomes visible. Interestingly, if these receptors are blocked in R1-, R2-, R3- or R4-Neurons, flies can not establish a visual working memory. By this view, memotactic behavior and visual working memory are closely interlinked. But there are also some further communalities with memotactic behavior. The adenylyl cyclase (AC), a component of the cAMP/PKA (cyclic adenosine monophosphate/proteinkinase A)-signaling pathway, is necessary for encoding the visual information and permits goal-driven behavior. The *Knockdown* of *rut* in either one of the five subtypes of R-neurons prevents memotactic behavior. Another component is the ribosomal S6 kinase II (RSKII). *ign*^{58/1}-mutants do not show memotactic memory. Goal-driven behavior can be rescued by expressing a copy of wild-type cDNA of *ign* in either one of the R-neurons in an *ign*-mutant background. Different from visual working memory the study shows that dCREB phosphorylation by RSKII is not essential for memotaxis, so we have to assume that there are other targets of RSKII. Furthermore, instead of nitric oxide (NO), which activates the soluble guanylyl cyclase (sGC) in visual working memory, other gasotransmitters must be essential because the *knockdown* of nitric oxide synthase (NOS) does not disrupt memotactic behavior. Moreover, the overexpression of NOS disrupts the visual working memory, whereas flies with the same genetic construct show goal-driven behavior in the memotactic paradigm. In summary, the present study contributes to the identification of a biochemical pathway and establishes a model, which reveals the first insights into visual short-term integration.

7. Verzeichnisse

7.1 Literaturverzeichnis

Abbot, A.; Callaway, E. (2014): Prize for place cells. In: *Nature* (514), S. 153.

Abe, K.; Kimura, H. (1996): The Possible Role of Hydrogen Sulfide as an Endogenous Neuro-modulator. In: *The Journal of Neuroscience* 16 (3), S. 1066–1071.

Akalal, D.-B. G.; Yu, D.; Davis, R. L. (2010): A late-phase, long-term memory trace forms in the gamma neurons of *Drosophila* mushroom bodies after olfactory classical conditioning. In: *The Journal of Neuroscience* 30 (49), S. 16699–16708. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1882-10.2010.

Armstrong, J. D.; Belle, J. S. de; Wang, Z. (1998): Metamorphosis of the Mushroom Bodies; Large-Scale Rearrangements of the Neural Substrates for Associative Learning and Memory in *Drosophila*. In: *Learning & Memory* 5, S. 102–114.

Ashburner, M.; Ball, C. A.; Blake, J. A.; Botstein, D.; Butler, H.; Cherry, J. M. et al. (2000): Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. In: *Nature Genetics* 25 (1), S. 25–29. DOI: 10.1038/75556.

Ashburner, M.; Bergman, C. M. (2005): *Drosophila melanogaster*: a case study of a model genomic sequence and its consequences. In: *Genome Research* 15 (12), S. 1661–1667. DOI: 10.1101/gr.3726705.

Aso, Y.; Hattori, D.; Yu, Y.; Johnston, R. M.; Iyer, N. A.; Ngo, T.-T. B. et al. (2014): The neuronal architecture of the mushroom body provides a logic for associative learning. In: *eLife* 3: e04577. DOI: 10.7554/eLife.04577.

Baddeley, A. (2003): Working Memory: Looking Back and Looking Forward. In: *Nature Neuroscience* 4, S. 829–839 www.nature.com/reviews/neuro.

Baddeley, A. D.; Hitch, G. (1974): Working Memory. In: Bd. 8: Elsevier (Psychology of Learning and Motivation), S. 47–89.

Bausenwein, B.; Muller, N. R.; Heisenberg, M. (1994): Behavior-dependent activity labeling in the central complex of *Drosophila* during controlled visual stimulation. In: *The Journal of Comparative Neurology* 340 (2), S. 255–268. DOI: 10.1002/cne.903400210.

Bear, M. F.; Connors, B. W.; Paradiso, M. A. (2016): Neuroscience. Exploring the brain. Fourth Edition, International Edition. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo: Wolters Kluwer.

Beck, K.; Ehmann, N.; Andlauer, T. F. M.; Ljaschenko, D.; Strecker, K.; Fischer, M. et al. (2015): Loss of the Coffin-Lowry syndrome-associated gene RSK2 alters ERK activity, synaptic function and axonal transport in *Drosophila* motoneurons. In: *Disease Models & Mechanisms* 8 (11), S. 1389–1400. DOI: 10.1242/dmm.021246.

Berg, C. (2013): Kurzzeit-Orientierungsstrategien in *Drosophila melanogaster*. Dissertation, Johannes-Gutenberg Universität, Mainz.

Berridge, M. J.; Bootman, M. D.; H. Roderick, L. (2003): Calcium Signalling: Dynamics, Homeostasis and Remodelling: In: *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 4; S. 517–529 DOI:10.1038/nrm1155.

- Bettencourt da Cruz, A.; Wentzell, J.; Kretzschmar, D. (2008): Swiss Cheese, a protein involved in progressive neurodegeneration, acts as a noncanonical regulatory subunit for PKA-C3. In: *The Journal of Neuroscience* 28 (43), S. 10885–10892. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3015-08.2008.
- Bicker, G. (2001): Sources and targets of nitric oxide signalling in insect nervous systems. In: *Cell Tissue Research* 303, S. 137–146.
- Bjorbaek, C.; Zhao, Y.; Moller, D. E. (1995): Divergent functional roles for p90rsk kinase domains. In: *The Journal of Biological Chemistry* 270 (32), S. 18848–18852.
- Blokland, A.; Schreiber, R.; Prickaerts, J. (2006): Improving Memory. A Role for Phosphodiesterases. In: *Current Pharmaceutical Design* 12 (20), S. 2511–2523. DOI: 10.2174/138161206777698855.
- Boll, W.; Noll, M. (2002): The *Drosophila* Pox neuro gene: control of male courtship behavior and fertility as revealed by a complete dissection of all enhancers. In: *Development* 129, S. 5667–5681. DOI: 10.1242/dev.00157.
- Bourtchuladze, R.; Frenguelli, B.; Blendy, J.; Cioffi, D.; Schutz, G.; Silva, A. J. (1994): Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. In: *Cell* 79 (1), S. 59–68.
- Boutros, M.; Ahringer, J. (2008): The art and design of genetic screens: RNA interference. In: *Nature Reviews. Genetics* 9 (7), S. 554–566. DOI: 10.1038/nrg2364.
- Brand, A. H.; Perrimon, N. (1993): Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generation dominant phenotypes. In: *Developmental Neurobiology* 118, S. 401–415.
- Bren, A; Eisenbach, M. (2000): “How Signals Are Heard during Bacterial Chemotaxis: Protein-Protein Interactions in Sensory Signal Propagation“. In: *Journal of Bacteriology* 24 (182), S. 6865–6873. DOI: 10.1128/JB.182.24.6865-6873.2000.
- Bruintjes, J. J.; Henning, R. H.; Douwenga, W.; van der Zee, E. A. (2014): Hippocampal cystathionine beta synthase in young and aged mice. In: *Neuroscience Letters* 563, S. 135–139. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.01.049.
- Card, G.; Dickinson, M. H. (2008): Visually mediated motor planning in the escape response of *Drosophila*. In: *Current Biology* 18, S. 1300–1307. DOI: 10.1016/j.cub.2008.07.094.
- Castellanos, N. p.; Lombardo, D.; Makarov, V. A.; Velarde M. G.; Arena, P. (2008): euimiotaxis, infotaxis y memotaxis: estrategias de exploración y supervivencia. In: *Revista Española Física, ISSN 0213 -862X* 22, S. 42–46.
- Cerne R., Rusin Kl., Randić, M. (1993): Enhancement of the N-methyl-D-aspartate response in spinal dorsal horn neurons by cAMP-dependent protein kinase. In: *Neuroscience Letters* 161 (2), S. 124-8.
- Chak, K.; Kolodkin, A. L. (2014): Function of the *Drosophila* receptor guanylyl cyclase Gyc76C in PlexA-mediated motor axon guidance. In: *Development (Cambridge, England)* 141 (1), S. 136–147. DOI: 10.1242/dev.095968.
- Chapman, E. J.; Carrington, J. C. (2007): Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways. In: *Nature Reviews. Genetics* 8 (11), S. 884–896. DOI: 10.1038/nrg2179.
- Chen, Y.; Huang, X.; Zhang, Y.-w.; Rockenstein, E.; Bu, G.; Golde, T. E. et al. (2012): Alzheimer's beta-secretase (BACE1) regulates the cAMP/PKA/CREB pathway independently of be-

- ta-amyloid. In: *The Journal of Neuroscience* 32 (33), S. 11390–11395. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0757-12.2012.
- Chien, S. (2002): Homophila. Human disease gene cognates in *Drosophila*. In: *Nucleic Acids Research* 30 (1), S. 149–151. DOI: 10.1093/nar/30.1.149.
- Colomb, J.; Brembs, B. (2014): Sub-strains of *Drosophila* Canton-S differ markedly in their locomotor behavior. In: *F1000Research* 176 (3), S. 1–13. DOI: 10.12688/f1000research.4263.1
- Colledge, M. and Scott, J. D. (1999): AKAPs: from structure to function. In: *Trends Cell Biology* 9, S. 216–221.
- Colwell, C. S.; Levine, M. S. (1995): Excitatory synaptic transmission in neostriatal neurons: regulation by cyclic AMP-dependent mechanisms. In: *The Journal of Neuroscience* 15 (3), S. 1704–1713.
- Compte, A.; Brunel, N.; Goldman-Rakic, P. S.; Wang, X. J. (2000): Synaptic mechanisms and network dynamics underlying spatial working memory in a cortical network model. In: *Cerebral Cortex* 10 (9), S. 910–923.
- DasGupta, S.; Ferreira, C. H.; Miesenbock, G. (2014): FoxP influences the speed and accuracy of a perceptual decision in *Drosophila*. In: *Science* 344 (6186), S. 901–904. DOI: 10.1126/science.1252114.
- Davis, G. W.; Schuster, C. M.; Goodman, C. S. (1996): Genetic Dissection of Structural and Functional Components of Synaptic Plasticity. III. CREB Is Necessary for Presynaptic Functional Plasticity. In: *Neuron* (17), S. 669–679.
- Davis, R. L.; Kiger, J. A., JR (1981): Dunce mutants of *Drosophila melanogaster*: mutants defective in the cyclic AMP phosphodiesterase enzyme system. In: *The Journal of Cell Biology* 90 (1), S. 101–107.
- Davis, R. L. (2005): Olfactory memory formation in *Drosophila*: from molecular to systems neuroscience. In: *Annual Review of Neuroscience* 28, S. 275–302. DOI: 10.1146/annurev.neuro.28.061604.135651.
- Davies, S. A. (2006): Signalling via cGMP: lessons from *Drosophila*. In: *Cellular Signalling* 18, S. 409–421.
- Dawson, T. M.; Snyder, S. H. (1994): Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. In: *The Journal of Neuroscience* 14 (9), S. 5147–5159.
- Day, J. P.; Dow, J. A. T.; Houslay, M. D.; Davies, S.-A. (2005): Cyclic nucleotide phosphodiesterases in *Drosophila melanogaster*. In: *The Biochemical Journal* 388 (Pt 1), S. 333–342. DOI: 10.1042/BJ20050057.
- de Belle, J. S. de; Heisenberg, M. (1996): Expression of *Drosophila* mushroom body mutations in alternative genetic backgrounds: a case study of the mushroom body miniature gene (mbm). In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (18), S. 9875–9880.
- Deisseroth, K.; Bitó, H.; Tsien, R. W. (1996): Signaling from Synapse to Nucleus: Postsynaptic CREB Phosphorylation during Multiple Forms of Hippocampal Synaptic Plasticity. In: *Neuron* (16), S. 89–101.

- Dewar, A. D. M.; Wystrach, A.; Graham, P.; Philippides, A. (2015): Navigation-specific neural coding in the visual system of *Drosophila*. In: *Bio Systems* 136, S. 120–127. DOI: 10.1016/j.biosystems.2015.07.008.
- Diegelmann, S.; Nieratschker, V.; Werner, U.; Hoppe, J.; Zars, T.; Buchner, E. (2006): The conserved protein kinase-A target motif in synapsin of *Drosophila* is effectively modified by pre-mRNA editing. In: *BMC Neuroscience* 7, S. 76. DOI: 10.1186/1471-2202-7-76.
- Dietzl, G.; Chen, D.; Schnorrer, F.; Su, K.-C.; Barinova, Y.; Fellner, M. et al. (2007): A genome-wide transgenic RNAi library for conditional gene inactivation in *Drosophila*. In: *Nature* 448 (7150), S. 151–156. DOI: 10.1038/nature05954.
- Dingledine, R.; Borges, K.; Bowie, D.; Traynelis, S. F. (1999): The glutamate receptor ion channels. In: *Pharmacological Reviews* 51 (1), S. 7–61.
- Dorschel, S. (2015): Auswirkungen der Herunterregulierung von PKA Untereinheiten im Ellipsoidkörper auf ein Kurzzeit-Orientierungsgedächtnis von *Drosophila melanogaster*. Bachelorarbeit. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- dos Santos, G.; Schroeder, A. J.; Goodman, J. L.; Strelets, V. B.; Crosby, M. A.; Thurmond, J.; Emmert, D. B.; Gelbart, W. M. & the FlyBase Consortium (2014): FlyBase: Introduction of the *Drosophila melanogaster* Release 6 reference genome assembly and large-scale migration of genome annotations. In: *Nucleic Acids Research* 43, S690–S697. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1099>.
- Dubnau, J.; Grady, L.; Kitamoto, T.; Tully, T. (2001): Disruption of neurotransmission in *Drosophila* mushroom body blocks retrieval but not acquisition of memory. In: *Nature* 411 (6836), S. 476–480. DOI: 10.1038/35078077.
- Dudai, Y.; Jan, Y. N.; Byers, D.; Quinn, W. G.; Benzer, S. (1976): *dunce*, a mutant of *Drosophila* deficient in learning. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 73 (5), S. 1684–1688.
- Durkovic, R. G. (1975): Classical conditioning, sensitization and habituation in the spinal cat. In: *Physiology & Behavior* 14 (3), S. 297–304. DOI: 10.1016/0031-9384(75)90037-2.
- Dzubay, J. A.; Jahr, C. E. (1996): Kinetics of NMDA channel opening. In: *The Journal of Neuroscience* 16 (13), S. 4129–4134.
- Engel, J. E.; Xie, X.-J.; Sokolowski, M. B.; Wu, C.-F. (2000): A cGMP-Dependent Protein Kinase Gene, *foraging*, Modifies Habituation-Like Response Decrement of the Giant Fiber Escape Circuit in *Drosophila*. In: *Learning and Memory* 7 (5), S. 341–352.
- Ernst, R.; Heisenberg, M. (1999): The memory template in *Drosophila* pattern vision at the flight simulator. In: *Vision Research* 39, S. 3920–3933.
- Eto, K.; Kimura, H. (2002): The production of hydrogen sulfide is regulated by testosterone and S-adenosyl-l-methionine in mouse brain. In: *Journal of Neurochemistry* 1 (83), S. 80–86.
- Feany, M. B. (1990): Rescue of the learning defect in *dunce*, a *Drosophila* learning mutant, by an allele of *rutabaga*, a second learning mutant. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (7), S. 2795–2799.
- Fire, A.; Xu, S.; Montgomery, M. K.; Kostas, S. A.; Driver, S. E.; Mello, C. C. (1998): Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. In: *Nature* 391 (6669), S. 806–811. DOI: 10.1038/35888.

- Fischer, M.; Raabe, T.; Heisenberg, Martin; Sendtner, M. (2009): *Drosophila* RSK negatively regulates bouton number at the neuromuscular junction. In: *Developmental Neurobiology* 69 (4), S. 212–220. DOI: 10.1002/dneu.20700.
- Fiumara, F.; Silvia Giovedì, S.; Menegon, A.; Milanese, C.; Merlo, D.; Montarolo, P. G.; Valtorta, F.; Benfenati, F.; Ghirardi, M. (2004): Phosphorylation by cAMP-dependent protein kinase is essential for synapsin-induced enhancement of neurotransmitter release in invertebrate neurons. In: *Journal of Cell Science* 117, S. 5145–5154. DOI: 10.1242/jcs.01388.
- Flethe, S. (2013): Verarbeitung von konkurrierenden Reizen im Zentralkomplex von *Drosophila melanogaster*. Diplomarbeit. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- Friebe A, Schultz G, Koesling D. (1996): Sensitizing soluble guanylyl cyclase to become a highly CO sensitive enzyme. In: *EMBO Journal* 15, S. 6863–6868.
- Frödin, M.; Gammeltoft, S. (1999): Role and regulation of 90 kDa ribosomal S6 kinase (RSK) in signal transduction. In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 151, S. 65–77.
- Furchgott, R. F.; Zawadzki, J. V. (1980): The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. In: *Nature* 288 (5789), S. 373–376.
- Gadalla, M. M.; Snyder, S. H. (2010): Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. In: *Journal of Neurochemistry* 113 (1), S. 14–26. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06580.x.
- Godenschwege, T. A.; Reisch, D.; Diegelmann, S.; Eberle, K.; Funk, N.; Heisenberg, M. et al. (2004): Flies lacking all synapsins are unexpectedly healthy but are impaired in complex behaviour. In: *The European Journal of Neuroscience* 20 (3), S. 611–622. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2004.03527.x.
- Goldman-Rakic, P. (Hg.) (1987): Circuitry of primate prefrontal cortex and regulation of behaviour by representational memory of emotion and attention. In: *Handbook of Physiology: the Nervous System* (5), S. 373–417.
- Goldman-Rakic, P. S. (1995): Cellular Basis of Working Memory. In: *Neuron* 14, S. 477–485.
- Gomez-Ramirez, M.; Trzcinski, N. K.; Mihalas, S.; Niebur, E.; Hsiao, S. S. (2014): Temporal correlation mechanisms and their role in feature selection: a single-unit study in primate somatosensory cortex. In: *PLOS Biology* 12 (11), S. e1002004. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002004.
- Haber Kern, H.; Jayaraman, V. (2016): Studying small brains to understand the building blocks of cognition. In: *Current Opinion in Neurobiology* (37), S. 59–65.
- Haggbloom, S. J.; Warnick, R.; Warnick, J. E.; Jones, V. K.; Yarbrough, G. L.; Russell, T. M. et al. (2002): The 100 most eminent psychologists of the 20th century. In: *Review of General Psychology* 6 (2), S. 139–152. DOI: 10.1037/1089-2680.6.2.139.
- Hammer, M.; Menzel, R. (1995): Learning and Memory in the Honeybee. In: *The Journal of Neuroscience* 15 (3), S. 1617–1630.
- Hanesch, U.; Fischbach, K.-F.; Heisenberg, M. (1989): Neuronal architecture of the central complex in *Drosophila melanogaster*. In: *Cell Tissue Research* 257 (2), S. 343–366. DOI: 10.1007/BF00261838.
- Hartmann, G.; Wehner, R. (1995): The ant's path integration system. A neural architecture. In: *Biological Cybernetics* 73 (6), S. 483–497. DOI: 10.1007/BF00199541.

- Hättig, J. (2009): Einfluss epigenetischer Mechanismen auf das Verhalten der Honigbiene. Dissertation. Universität des Saarlandes.
- Heinze, S.; Homberg, U. (2007): Maplike representation of celestial E-vector orientations in the brain of an insect. In: *Science (New York, N.Y.)* 315 (5814), S. 995–997. DOI: 10.1126/science.1135531.
- Heisenberg, M. (1998): What do the mushroom bodies do for the insect brain? An introduction. In: *Learning & Memory* 5 (1-2), S. 1–10.
- Heisenberg, M.; Wolf, R. (Hg.) (1984): Vision in *Drosophila*. Genetics of Microbehavior. Springer: Berlin, Heidelberg, New York.
- Heisenberg, M.; Borst, A.; Wagner, S.; Byers, D. (2009): *Drosophila* Mushroom Body Mutants are Deficient in Olfactory Learning. In: *Journal of Neurogenetics* 2 (1), S. 1–30. DOI: 10.3109/01677068509100140.
- Heynen, A. J.; Quinlan, E. M.; Bae, D. C.; Bear, M. F. (2000): Bidirectional, activity-dependent regulation of glutamate receptors in the adult hippocampus in vivo. In: *Neuron* 28 (2), S. 527–536.
- Hibbs, J. B., JR; Taintor, R. R.; Vavrin, Z. (1987): Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. In: *Science* 235 (4787), S. 473–476.
- Homberg, U. (2008): Evolution of the central complex in the arthropod brain with respect to the visual system. In: *Arthropod Structure & Development* 37, S. 347–362.
- Huang, C.-C.; Tsai, J.-J.; Gean, P.-W. (1993): Enhancement of NMDA receptor-mediated synaptic potential by isoproterenol is blocked by Rp-adenosine 3',5'-cyclic monophosphothioate. In: *Neuroscience Letters* 161 (2), S. 207–210. DOI: 10.1016/0304-3940(93)90295-V.
- Ilius, M.; Wolf, R.; Heisenberg, M. (1994): The central complex of *Drosophila melanogaster* is involved in flight control: studies on mutants and mosaics of the gene *ellipsoid body open*. In: *Journal of Neurogenetics* 9, S. 189–206.
- Inagaki, H. K., Kamikouchi, A.; Ito, K. (2010): Protocol for quantifying sound-sensing ability of *Drosophila melanogaster*. In: *Nature Protocols* 5, S. 189–214.
- Kahsai, L.; Martin, J.-R.; Winther, A. M. E. (2010): Neuropeptides in the *Drosophila* central complex in modulation of locomotor behavior. In: *The Journal of Experimental Biology* 213, S. 2256–2265.
- Kahsai, L.; Winther, A. M. E. (2011): Chemical Neuroanatomy of the *Drosophila* Central Complex: Distribution of Multiple Neuropeptides in Relation to Neurotransmitters. In: *The Journal of Comparative Neurology* 519, S. 290–315.
- Kalderon, D.; Rubin, G. M. (1989): cGMP-dependent protein kinase genes in *Drosophila*. In: *Journal of Biological Chemistry* 264 (18), S. 10738–10748.
- Kandel, E. R. (2012): The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. In: *Molecular Brain* 5 (14), S. 1–12.
- Kandel, E. R.; Abrams, T.; Bernier, L.; Carew, T. J.; Hawkins, R. D.; Schwartz, J. H. (1983): Classical conditioning and sensitization share aspects of the same molecular cascade in *Aplysia*. In: *Cold Spring Harbor Symposia in Quantitative Biology* 48, S. 821–830.
- Kanellopoulos, A. K.; Semelidou, O.; Kotini, A. G.; Anezaki, M.; Skoulakis, E. M. C. (2012): Learning and memory deficits consequent to reduction of the fragile X mental retardation

- protein result from metabotropic glutamate receptor-mediated inhibition of cAMP signaling in *Drosophila*. In: *The Journal of Neuroscience* 32 (38), S. 13111–13124. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1347-12.2012.
- Karakas, E.; Furukawa, H. (2014): Crystal structure of a heterotetrameric NMDA receptor ion channel. In: *Science* 344 (6187), S. 992–997. DOI: 10.1126/science.1251915.
- Keene, A. C.; Waddell, S. (2007): *Drosophila* olfactory memory: single genes to complex neural circuits. In: *Nature Neuroscience*, S. 341–354.
- Kim, Y.-T.; Wu, C.-F. (1996): Reduced Growth Cone Motility in Cultured Neurons from *Drosophila* Memory Mutants with a Defective cAMP Cascade. In: *Journal of Neuroscience* 16 (18), S. 5593–5602.
- Kimura, H. (2000): Hydrogen Sulfide Induces Cyclic AMP and Modulates the NMDA Receptor. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 267, S. 129–133.
- Kimura, H. (2002): Hydrogen Sulfide as a Neuromodulator. In: *Molecular Neurobiology* 26 (1), S. 13–19.
- Klagges, B. R. E.; Heimbeck, G.; Godenschwege, T. A.; Hofbauer, A. (1996): Invertebrate synapsins: A single gene codes for several isoforms in *Drosophila*. In: *Journal of Neuroscience* (16), S. 3154–3165.
- Koenig, S.; Wolf, R.; Heisenberg, M. (2016a): Vision in Flies: Measuring the Attention Span. In: *PLOS one* 11, S. 1–16. DOI: 10.1371/journal.pone.0148208.
- Koenig, S.; Wolf, R.; Heisenberg, M. (2016b): Visual Attention in Flies-Dopamine in the Mushroom Bodies Mediates the After-Effect of Cueing. In: *PLOS one* 11 (8), S. 1–21. DOI: 10.1371/journal.pone.0161412.
- Krashes, M. J.; Keene, A. C.; Leung, B.; Armstrong, J. D.; Waddell, S. (2007): Sequential use of mushroom body neuron subsets during *Drosophila* odor memory processing. In: *Neuron* 53 (1), S. 103–115. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.11.021.
- Krause, H. M.; Klemenz, R.; Gehring, W. J. (1988): Expression, modification, and localization of the fushi tarazu protein in *Drosophila* embryos. In: *Genes und Development* 2, S. 1021–1036. DOI: 10.1101/gad.2.8.1021.
- Kroner, C., Boekhoff, I., Lohmann, S.M., Genieser, H.G., and Breer, H. (1996): Regulation of olfactory signalling via cGMP-dependent protein kinase. In: *European Journal of Biochemistry* 236, S. 632–637.
- Kropff, E.; Carmichael, J. E.; Moser, M.-B.; Moser, E. I. (2015): Speed cells in the medial entorhinal cortex. In: *Nature* 523 (7561), S. 419–424. DOI: 10.1038/nature14622.
- Krystal, J. H.; Karper, L. P.; Seibyl, J. P.; Freeman, G. K.; Delaney, R.; Bremner, J. D. et al. (1994): Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. In: *Archives of General Psychiatry* 51 (3), S. 199–214.
- Krystal, J. H.; Abi-Saab, W.; Perry, E.; D'Souza, D. C.; Liu, N.; Gueorguieva, R. et al. (2005): Preliminary evidence of attenuation of the disruptive effects of the NMDA glutamate receptor antagonist, ketamine, on working memory by pretreatment with the group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY354740, in healthy human subjects. In: *Psychopharmacology* 179 (1), S. 303–309. DOI: 10.1007/s00213-004-1982-8.

- Krizhanovsky, V.; Agamy, O.; Naim, M. (2000): Sucrose-stimulated subsecond transient increase in cGMP level in rat intact circumvallate taste bud cells. In: *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 279, S. 120–125.
- Kuntz, S.; Poeck, B.; Sokolowski, M. B.; Strauss, R. (2012): The visual orientation memory of *Drosophila* requires foraging (PKG) upstream of ignorant (RSK2) in ring neurons of the central complex. In: *Learning & Memory* (19), S. 337–340.
- Kuntz, S.; Poeck, B.; Strauss, R. (2017): Visual Working Memory Requires Permissive and Instructive NO/cGMP Signaling at Presynapses in the *Drosophila* Central Brain. In: *Current Biology* 27 (5), S. 1-11. DOI: 10.1016/j.cub.2016.12.056.
- Lane, M. E.; Kalderon, D. (1993): Genetic investigation of cAMP-dependent protein kinase function in *Drosophila* development. In: *Genes & Development* 7 (7a), S. 1229–1243. DOI: 10.1101/gad.7.7a.1229.
- Larsson, M. C.; Domingos, A. I.; Jones, W. D.; Chiappe, M. E.; Amrein, H.; Vosshall, L. B. (2004): Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. In: *Neuron* 43 (5), S. 703–714. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.08.019.
- Levin, L. R.; Han, P. L.; Hwang, P. M.; Feinstein, P. G.; Davis, R. L.; Reed, R. R. (1992): The *Drosophila* learning and memory gene *rutabaga* encodes a Ca²⁺/Calmodulin-responsive adenylyl cyclase. In: *Cell* 68 (3), S. 479–489.
- Lin, C.-Y.; Chuang, C.-C.; Hua, T.-E.; Chen, C.-C.; Dickson, B. J.; Greenspan, R. J.; Chiang, A.-S. (2013): A comprehensive wiring diagram of the protocerebral bridge for visual information processing in the *Drosophila* brain. In: *Cell Reports* 3 (5), S. 1739–1753. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.04.022.
- Lisman, J. E.; Fellous, J. M.; Wang, X. J. (1998): A role for NMDA-receptor channels in working memory. In: *Nature Neuroscience* 1 (4), S. 273–275. DOI: 10.1038/1086.
- Liu, G.; Seiler, H.; Wen, A.; Zars, T.; Ito, K.; Wolf, R.; Heisenberg, M.; Liu, L. (2006): Distinct memory traces for two visual features in the *Drosophila* brain. In: *Nature* 439, S. 551–556.
- Liu, L.; Wolf, R.; Ernst, R.; Heisenberg, M. (1999): Context generalization in *Drosophila* visual learning requires the mushroom bodies. In: *Nature* 400, S. 753–756.
- Luk, K. C.; Kennedy, T. E.; Sadikot, A. F. (2003): Glutamate promotes proliferation of striatal neuronal progenitors by an NMDA receptor-mediated mechanism. In: *The Journal of Neuroscience* 23 (6), S. 2239–2250.
- Maguire, E. A. (1998): Knowing Where and Getting There. A Human Navigation Network. In: *Science* 280 (5365), S. 921–924. DOI: 10.1126/science.280.5365.921.
- Maines, M. D. (1997): The Heme Oxygenase System: A Regulator of Second Messenger Gases. In: *Annual Review of Pharmacology & Toxicology* 37, S. 517–554.
- Maisak, M. S.; Haag, J.; Ammer, G.; Serbe, E.; Meier, M.; Leonhardt, A.; Schilling, T. (2013): A directional tuning map of *Drosophila* elementary motion detectors. In: *Nature* (500), S. 212–218.
- Malhotra, A. (1996): NMDA Receptor Function and Human Cognition. The Effects of Ketamine in Healthy Volunteers. In: *Neuropsychopharmacology* 14 (5), S. 301–307. DOI: 10.1016/0893-133X(95)00137-3.
- Manseau, L.; Baradaran, A.; Brower, D.; Budhu, A.; Elefant, F.; Phan, H. et al. (1997): GAL4 enhancer traps expressed in the embryo, larval brain, imaginal discs, and ovary of *Drosophi-*

- la. In: *Developmental Dynamics* 209 (3), S. 310–322. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0177(199707)209:3<310::AID-AJA6>3.0.CO;2-L.
- Mansuy, I. M.; Shenolikar, S. (2006): Protein serine/threonine phosphatases in neuronal plasticity and disorders of learning and memory. In: *Trends in Neurosciences* (29), S. 679–686.
- Martin, J. R.; Raabe, T., Heisenberg, M. (1998): Central complex substructures are required for the maintenance of locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. In: *Journal of Comparative Physiology A* 185 (3), S. 277–288.
- Martín-Peña, A.; Acebes, A.; Rodríguez, J.-R.; Rodríguez, C., V.; Casas-Tinto, S.; Triphan, T.; Strauss, R.; Ferrús, A. (2014): Cell types and coincident synapses in the ellipsoid body of *Drosophila*. In: *European Journal of Neuroscience* (39), S. 1586–1601.
- McGuire, S. E.; Deshazer, M.; Davis, R. L. (2005): Thirty years of olfactory learning and memory research in *Drosophila melanogaster*. In: *Progress in Neurobiology* 76, S. 328–347.
- McGuire, S. E.; Le, P. T.; Osborn, A. J.; Matsumoto, K.; Davis, R. L. (2003): Spatiotemporal rescue of memory dysfunction in *Drosophila*. In: *Science* 302 (5651), S. 1765–1768. DOI: 10.1126/science.1089035.
- McGuire, S. E.; Phuong, T. L.; Davis, R. L. (2001): The role of *Drosophila* mushroom body signaling in olfactory memory. In: *Science* 293, S. 1330–1333.
- McManus, M. T.; Sharp, P. A. (2002): Gene Silencing in Mammals by Small Interfering RNAs. In: *Nature Reviews Genetics* (10), S. 737–747.
- Melendez, A.; Li, W.; Kalderon, D. (1995): Activity, expression and function of a second *Drosophila* protein kinase A catalytic subunit gene. In: *Genetics* 141 (4), S. 1507–1520.
- Michels, B.; Diegelmann, S.; Tanimoto, H.; Schwenkert, I.; Buchner, E; Gerber (2005): A role for synapsin in associative learning: The *Drosophila* larva as a study case. In: *Learning & Memory* 12, S. 224–231.
- Mischiati, M.; Lin, H.-T.; Herold, P.; Imler, E.; Olberg, R.; Leonardo, A. (2015): Internal models direct dragonfly interception steering. In: *Nature* 517 (7534), S. 333–338. DOI: 10.1038/nature14045.
- Miyashita, T.; Oda, Y.; Horiuchi, J.; Yin, J. C. P.; Morimoto, T.; Saitoe, M. (2012): Mg²⁺ block of *Drosophila* NMDA receptors is required for long-term memory formation and CREB-dependent gene expression. In: *Neuron* 74 (5), S. 887–898. DOI: 10.1016/j.neuron.2012.03.039.
- Mizunami, M.; Okada, R.; Li, Y.; Strausfeld, N. J. (1998): Mushroom Bodies of the Cockroach: Activity and Identities of Neurons Recorded in Freely Moving Animals. In: *The Journal of Comparative Neurology* 402, S. 501–519.
- Mongillo, G.; Barak, O.; Tsodyks, M. (2008): Synaptic theory of working memory. In: *Science* 319 (5869), S. 1543–1546. DOI: 10.1126/science.1150769.
- Moser, E. I.; Kropff, E.; Moser, M.-B. (2008): Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. In: *Annual Review of Neuroscience* 31, S. 69–89. DOI: 10.1146/annurev.neuro.31.061307.090723.
- Müller, U. (1997): The nitric oxide system in insects. In: *Progress in Neurobiology* 51, S. 363–381.

- Mronz, M. (2004): Die visuelle motivierte Objektwahl laufender Taufliegen (*Drosophila melanogaster*) – Verhaltensphysiologie, Modellbildung und Implementierung in einem Roboter. Dissertation, Universität Würzburg.
- Nagarkar-Jaiswal, S.; Lee, P.-T.; Campbell, M. E.; Chen, K.; Anguiano-Zarate, S.; Gutierrez, M. C. et al. (2015): A library of MiMICs allows tagging of genes and reversible, spatial and temporal knockdown of proteins in *Drosophila*. In: *eLife* 4. DOI: 10.7554/eLife.05338.
- Navarra, P.; Dello Russo, C.; Mancuso, C.; Preziosi, P.; Grossman, A. (2000): Gaseous Neuro-modulators in the Control of Neuroendocrine Stress Axis. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 917 (1), S. 638–646. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05429.x.
- Nebreda, A. R.; Gavin, A. C. (1999): Perspectives: signal transduction. Cell survival demands some Rsk. In: *Science* 286, S. 1309–1310.
- Neuser, K.; Triphan, T.; Mronz, M.; Poeck, B.; Strauss, R. (2008): Analysis of a spatial orientation memory in *Drosophila*. In: *Nature* 453 (7199), S. 1244–1247. DOI: 10.1038/nature07003.
- Ni, J.-Q.; Liu, L.-P.; Binari, R.; Hardy, R.; Shim, H.-S.; Cavallaro, A. et al. (2009): A *Drosophila* resource of transgenic RNAi lines for neurogenetics. In: *Genetics* 182 (4), S. 1089–1100. DOI: 10.1534/genetics.109.103630.
- Nicholson, L.; Singh, G. K.; Osterwalder, T.; Roman, G. W.; Davis, R. L.; Keshishian, H. (2008): Spatial and temporal control of gene expression in *Drosophila* using the inducible GeneSwitch GAL4 system. I. Screen for larval nervous system drivers. In: *Genetics* 178 (1), S. 215–234. DOI: 10.1534/genetics.107.081968.
- Niggebrügge, C. (2008): Untersuchungen zum Farbsehen und Farbenlernen der Honigbiene (*Apis mellifera*). Dissertation. Freie Universität Berlin. http://www.diss.fu-berlin.de/diss/receive/FUDISS_thesis_000000006439.
- Nüsslein-Volhard, C. (1995): The identification of genes controlling development in flies and fishes. In: *Angewandte Chemie International Edition* (35), S. 2176–2187.
- Ofstad, T. A.; Zuker, C. S.; Reiser, M. B. (2011): Visual place learning in *Drosophila melanogaster*. In: *Nature* 474 (7350), S. 204–207. DOI: 10.1038/nature10131.
- O'Keefe, J.; Burgess, N. (1996): Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons. In: *Nature* 381 (6581), S. 425–428. DOI: 10.1038/381425a0.
- O'Keefe, J.; Burgess, N.; Donnett, J. G.; Jeffery, K. J.; Maguire, E. A. (1998): Place cells, navigational accuracy, and the human hippocampus. In: *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 353 (1373), S. 1333–1340. DOI: 10.1098/rstb.1998.0287.
- Omoto, J. J.; Keleş, M. F.; Nguyen, B.-C. M.; Bolanos, C.; Lovick, J. K.; Frye, M. A.; Hartenstein, V. (2017): Visual Input to the *Drosophila* Central Complex by Developmentally and Functionally Distinct Neuronal Populations. In: *Current Biology* 27 (8), S. 1098–1110.
- Osborne, K. A. (1997): Natural Behavior Polymorphism Due to a cGMP-Dependent Protein Kinase of *Drosophila*. In: *Science* 277 (5327), S. 834–836. DOI: 10.1126/science.277.5327.834.
- Pan, Y.; Zhou, Y.; Guo, C.; Gong, H.; Gong, Z.; Liu, L. (2009): Differential roles of the fan-shaped body and the ellipsoid body in *Drosophila* visual pattern memory. In: *Learning & Memory* 16 (5), S. 289–295. DOI: 10.1101/lm.1331809.

- Passingham, D.; Sakai, K. (2004): The prefrontal cortex and working memory: physiology and brain imaging. In: *Current Opinion in Neurobiology* 14 (2), S. 163–168. DOI: 10.1016/j.conb.2004.03.003.
- Paul, B. D.; Snyder, S. H. (2012): H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond. In: *Nature reviews. Molecular Cell Biology* 13 (8), S. 499–507. DOI: 10.1038/nrm3391.
- Paulk, A. C.; Stacey, J. A.; Pearson, T. W. J.; Taylor, G. J.; Moore, R. J. D.; Srinivasan, M. V.; van Swinderen, B. (2014): Selective attention in the honeybee optic lobes precedes behavioral choices. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111, S. 5006–5011. DOI: 10.1073/pnas.1323297111.
- Pavlov, I. P. (Hg.) (1927): Conditioned Reflexes: An Investigation of the physiological Activity of the Cerebral Cortex. In: *Annals of Neurosciences* 3 (17), S. 136–141. DOI: 10.5214/ans.0972-7531.1017309.
- Pereanu, W.; Younossi-Hartenstein, A.; Lovick, J.; Spindler, S.; Hartenstein, V. (2011): Lineage-based analysis of the development of the central complex of the *Drosophila* brain. In: *The Journal of Comparative Neurology* 519 (4), S. 661–689. DOI: 10.1002/cne.22542.
- Pereira, H. S.; Sokolowski, M. B. (1993): Mutations in the larval *foraging* gene affect adult locomotory behavior after feeding in *Drosophila melanogaster*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (11), S. 5044–5046.
- Pereira, S.; van der Kooy, D. (2012): Two forms of learning following training to a single odorant in *Caenorhabditis elegans* AWC neurons. In: *The Journal of Neuroscience* 32 (26), S. 9035–9044. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4221-11.2012.
- Pfeiffer, B. D.; Jenett, A.; Hammonds, A. S.; Ngo, T.-T. B.; Misra, S.; Murphy, C.; Scully, A.; Carlson, J. W.; Wan, K. H.; Lavery, T. R.; Mungall, C.; Svirskas, R.; Kadonaga, J. T.; Doe, C. Q.; Eisen, M. B.; Celniker, S. E.; M. Rubin, G. M. (2008): Tools for neuroanatomy and neurogenetics in *Drosophila*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (105); S. 9715–9720.
- Pfeiffer, B. D.; Ngo, T.-T. B.; Hibbard, K. L.; Murphy, C.; Jenett, A.; Truman, J. W.; Rubin, G. M. (2010): Refinement of tools for targeted gene expression in *Drosophila*. In: *Genetics* 186 (2); S. 735–755.
- Poeck, B.; Triphan, T.; Neuser, K.; Strauss, R. (2008): Locomotor control by the central complex in *Drosophila*—An analysis of the *tay bridge* mutant. In: *Developmental Neurobiology* 68 (8), S. 1046–1058. DOI: 10.1002/dneu.20643.
- Popov, A. V.; Peresleni, A. I.; Ozerskii, P. V.; Shchekanov, E. E.; Savvateeva-Popova, E. V. (2003): On the Role of the Protocerebral Bridge in the Central Complex of *Drosophila melanogaster* Brain in Control of Courtship Behavior and Sound Production. In: *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 39 (6), S. 655–666. DOI: 10.1023/B:JOEY.0000023486.75353.f8.
- Popov, A. V.; Peresleni, A. I.; Savvateeva-Popova, E. V.; Wolf, R.; Heisenberg, M. (2004): The role of the mushroom bodies and of the central complex of *Drosophila melanogaster* brain in the organization of courtship behavior and communicative sound production. In: *Journal of Evolutionary Biochemistry & Physiology* 40 (6), S. 641–652. DOI: 10.1007/s10893-004-0005-z.
- Posner, M. I.; Snyder, C. R.; Davidson, B. J. (1980): Attention and the detection of signals. In: *Journal of Experimental Psychology: General* 109 (2), S. 160–174. DOI: 10.1037/0096-3445.109.2.160.

- Power, M. E. (1943): The brain of *Drosophila melanogaster*. In: *Journal of Morphology* 72 (3), S. 517–559. DOI: 10.1002/jmor.1050720306.
- Pulver, S. R.; Berni, J. (2012): The fundamentals of flying: simple and inexpensive strategies for employing *Drosophila* genetics in neuroscience teaching laboratories. In: *Journal of Undergraduate Neuroscience Education* 11 (1), S. A139-48.
- Pulver, S. R.; Cognigni, P.; Denholm, B.; Fabre, C.; Gu, W. X. W.; Linneweber, G. et al. (2011): Why flies? Inexpensive public engagement exercises to explain the value of basic biomedical research on *Drosophila melanogaster*. In: *Advances in Physiology Education* 35 (4), S. 384–392. DOI: 10.1152/advan.00045.2011.
- Putz, G.; Bertolucci, F.; Raabe, T.; Zars, T.; Heisenberg, M. (2004): The S6KII (rsk) gene of *Drosophila melanogaster* differentially affects an operant and a classical learning task. In: *The Journal of Neuroscience* 24 (44), S. 9745–9751. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3211-04.2004.
- Regulski, M.; Tully, T. (1995): Molecular and biochemical characterization of dNOS: a *Drosophila* Ca²⁺/calmodulin-dependent nitric oxide synthase. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92 (20), S. 9072–9076.
- Renn, S. C. P.; Armstrong, J. D.; Yang, M.; Wang, Z.; An, X.; Kaiser, K.; Taghert, P. H. (1999): Genetic analysis of the *Drosophila* ellipsoid body neuropil: organization and development of the central complex. In: *Journal of Neurobiology* (41), S. 189–207.
- Rintelen, F.; Stocker, H.; Thomas, G.; Hafen, E. (2001): PDK1 regulates growth through Akt and S6K in *Drosophila*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (26), S. 15020–15025. DOI: 10.1073/pnas.011318098.
- Robinson, R. (2015): Short Stimulus, Long Response: Sodium and Calcium Dynamics Explain Persistent Neuronal Firing. In: *PLOS Biology* 13 (12), S. e1002320. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002320.
- Rubin, C. S. (1994). A kinase anchor proteins and the intracellular targeting of signals carried by cAMP. In: *Biochimica et Biophysica Acta* 1244, S. 467–479.
- Russo, C. D.; Tringali, G.; Ragazzoni, E.; Maggiano, N.; Menini, E.; Vairano, M.; et al. (2000): Evidence that hydrogen sulphide can modulate hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: *in vitro* and *in vivo* studies in the rat. In: *Journal of Neuroendocrinology* 12, S. 225–233.
- Rybak, J. (1994): Die strukturelle Organisation der Pilzkörper und synaptische Konnektivität protocerebraler Interneuronen im Gehirn der Honigbiene, *Apis mellifera*. Eine licht- und elektronenmikroskopische Studie. Dissertation, Freie Universität Berlin.
- Scheiner, R.; Sokolowski, M. B.; Erber, J. (2004): Activity of cGMP-dependent protein kinase (PKG) affects sucrose responsiveness and habituation in *Drosophila melanogaster*. In: *Learning & Memory* 11 (3), S. 303–311. DOI: 10.1101/lm.71604.
- Schuman, E. M.; Madison, D. V. (1991): A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. In: *Science* 254 (5037), S. 1503–1506.
- Schwaerzel, M.; Jaeckel, A.; Mueller, U. (2007): Signaling at A-kinase anchoring proteins organizes anesthesia-sensitive memory in *Drosophila*. In: *The Journal of Neuroscience* 27 (5), S. 1229–1233. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4622-06.2007.
- Schwaerzel, M.; Monastirioti, M.; Scholz, H.; Friggi-Grelin, F.; Birman, S.; Heisenberg, M. (2003): Dopamine and octopamine differentiate between aversive and appetitive olfactory memories in *Drosophila*. In: *The Journal of Neuroscience* 23 (33), S. 10495–10502.

- Seelig, J. D.; Jayaraman, V. (2013): Feature detection and orientation tuning in the *Drosophila* central complex. In: *Nature* 503 (7475), S. 262–266. DOI: 10.1038/nature12601.
- Seelig, J. D.; Jayaraman, V. (2015): Neural dynamics for landmark orientation and angular path integration. In: *Nature* 521 (7551), S. 186–191. DOI: 10.1038/nature14446.
- Serway, C. N.; Kaufman, R. R.; Serway, C. N.; Kaufman, R. R.; Strauss, R.; J. de Belle, J. S. (2009): Mushroom Bodies Enhance Initial Motor Activity in *Drosophila*. In: *Neurogenetics* 23, S. 173–184. DOI:10.1080/0167706080257289.
- Shemarova, I. V. (2009): cAMP-dependent signal pathways in unicellular eukaryotes. In: *Critical Reviews in Microbiology* 35 (1), S. 23–42. DOI: 10.1080/10408410802645646.
- Sheng, M.; Sala, C. (2001): PDZ Domains and the Organization of Supramolecular Complexes. In: *Annual Reviews of Neuroscience* 24, S. 1–29. DOI:10.1146/annurev.neuro.24.1.1.
- Simon, J. C.; Dickinson, M. H. (2010): A new chamber for studying the behavior of *Drosophila*. In: *PLOS one* 5 (1), S. e8793. DOI: 10.1371/journal.pone.0008793.
- Sitaraman, D.; Laferriere, H.; Birman, S.; Zars, T. (2012): Serotonin is critical for rewarded olfactory short-term memory in *Drosophila*. In: *Journal of Neurogenetics* 26 (2), S. 238–244. DOI: 10.3109/01677063.2012.666298.
- Sitaraman, D.; Zars, M.; Laferriere, H.; Chen, Y.-C.; Sable-Smith, A.; Kitamoto, T. et al. (2008): Serotonin is necessary for place memory in *Drosophila*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (14), S. 5579–5584. DOI: 10.1073/pnas.0710168105.
- Sitaraman, D.; Zars, M.; Zars, T. (2010): Place memory formation in *Drosophila* is independent of proper octopamine signaling. In: *Journal of Comparative Physiology A* 196 (4), S. 299–305. DOI: 10.1007/s00359-010-0517-5.
- Skinner, B. F. (1938): *The Behavior of Organisms: An Experimental Analysis*. Herausgeber: B. F. Skinner Foundation, 1990. ISBN: 0996453903, 9780996453905.
- Skinner, B. F. (1963): Operant behavior. In: *American Psychologist* 18 (8), S. 503–515.
- Smolik, S. M.; Rose, R. E.; Goodman, R. H. (1992): A cyclic AMP-responsive element-binding transcriptional activator in *Drosophila melanogaster*, dCREB-A, is a member of the leucine zipper family. In: *Molecular Cell Biology* 12 (9), S. 4123–4131. DOI: 10.1128/MCB.12.9.4123.
- Snyder, S. H.; Jaffrey, S. R.; Zakhary, R. (1998): Nitric oxide and carbon monoxide: parallel roles as neural messengers. In: *Brain Research Reviews* 26, S. 167–175. DOI: 1016/S0165-0173(97)00032-5.
- Sokolowski, M. B. (1980): Foraging strategies of *Drosophila melanogaster*. A chromosomal analysis. In: *Behavioral Genetics* 10 (3), S. 291–302. DOI: 10.1007/BF01067774.
- Sokolowski, M. B. (2001): *Drosophila*: genetics meets behaviour. In: *Nature Reviews. Genetics* 2 (11), S. 879–890. DOI: 10.1038/35098592.
- Sokolowski, M. B.; Pereira, H. S.; Hughes, K. (1997): Evolution of foraging behavior in *Drosophila* by density-dependent selection. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 (14), S. 7373–7377.
- Sokolowski, M. B.; Riedl, C. A.L. (1999): Chapter 3.3.2 Behavior-genetic and molecular analysis of naturally occurring variation in *Drosophila* larval foraging behavior. In: *Handbook of*

Molecular-Genetic Techniques for Brain and Behavior Research, Bd. 13: Elsevier (Techniques in the Behavioral and Neural Sciences), S. 496–511.

Standaert, D. G.; Friberg, I. K.; Landwehrmeyer, G. B.; Young, A. B.; Penney, J.B (1999): Expression of NMDA glutamate receptor subunit mRNAs in neurochemically identified projection and interneurons in the striatum of the rat. In: *Molecular Brain Research* 64 (1), S. 11–23. DOI: 10.1016/S0169-328X(98)00293-9.

Stocker, R. F.; Lienhard, M. C.; Borst, A.; Fischbach, K. F. (1990): Neuronal architecture of the antennal lobe in *Drosophila melanogaster*. In: *Cell Tissue Research* 262 (1), S. 9–34. DOI: 10.1007/BF00327741.

Strausfeld, N. J. (1976): Atlas of an Insect Brain. Springer: Berlin, Heidelberg.

Strausfeld, N. J.; Hansen, L.; Li, Y.; Gomez, R. J. (1998): Evolution, Discovery, and Interpretation of Arthropod Mushroom Bodies. In: *Learning & Memory* 5, S. 11–37.

Strauss, R.; Heisenberg, M. (1993): A higher control center of locomotor behavior in the *Drosophila* brain. In: *The Journal of Neuroscience* 13 (5), S. 1852–1861.

Strauss, R.; Pichler, J. (1998): Persistence of orientation toward a temporarily invisible landmark in *Drosophila melanogaster*. In: *Journal of Comparative Physiology A* 182 (4), S. 411–423.

Strauss, R.; Schuster, S.; Gotz, K. G. (1997): Processing of artificial visual feedback in the walking fruit fly *Drosophila melanogaster*. In: *The Journal of Experimental Biology* 200, S. 1281–1296.

Strauss, R. (2002): The central complex and the genetic dissection of locomotor behaviour. In: *Current Opinion in Neurobiology* 12 (6), S. 633–638. DOI: 10.1016/S0959-4388(02)00385-9.

Strauss, R., Flethe, S., Villacorta, J.A., Makarov, V., Velarde, M.G., Patané, L., and Arena, P. (2014) Roving Robots Gain from an Orientation Algorithm of Fruit Flies and Predict a Fly Decision-Making Algorithm. In: Duff, A., Lepora, N.F., Mura, A., Prescott, T.J., Verschure, P.F.M.J. (eds.) Biomimetic and Biohybrid Systems. Third International Conference on Living Machines 2014; Springer: Cham, Heidelberg, New York, Dordrecht, London. S. 433-435.

Strauss, R., Heisenberg, M. (1993): A higher control center of locomotor behavior in the *Drosophila* brain. In: *Journal of Neuroscience* 13, S. 1852–1861.

Strother, J. A.; Nern, A.; Reiser, M. B. (2014): Direct observation of ON and OFF pathways in the *Drosophila* visual system. In: *Current Biology* 24 (9), S. 976–983. DOI: 10.1016/j.cub.2014.03.017.

Stuehr, D. J.; Kwon, N. S.; Gross, S. S.; Thiel, B. A.; Levi, R.; Nathan, C. F. (1989): Synthesis of nitrogen oxides from L-arginine by macrophage cytosol. Requirement for inducible and constitutive components. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 161 (2), S. 420–426. DOI: 10.1016/0006-291X(89)92615-6.

Stüven, T.; Hartmann, E.; Gorlich, D. (2003): Exportin 6: a novel nuclear export receptor that is specific for profilin.actin complexes. In: *The EMBO Journal* 22 (21), S. 5928–5940. DOI: 10.1093/emboj/cdg565.

Sweeney, S. T.; Brodie, K.; Keane, J.; Niemann, H.; O'Kane, C. J. (1995): Targeted expression of tetanus toxin light chain in *Drosophila* specifically eliminates synaptic transmission and causes behavioral defects. In: *Neuron* 14 (2), S. 341–351.

- Tanaka, N. K.; Tanimoto, H.; Ito, K. (2008): Neuronal assemblies of the *Drosophila* mushroom body. In: *The Journal of Comparative Neurology* 508 (5), S. 711–755. DOI: 10.1002/cne.21692.
- Tang, S.; Guo, A. (2001): Choice Behavior of *Drosophila* Facing Contradictory Visual Cues. In: *Science* (294), S. 1543–1547. DOI: 10.1126/science.1058237.
- Tang, S.; Juusola, M. (2010): Intrinsic activity in the fly brain gates visual information during behavioral choices. In: *PLOS one* 5 (12), S. e14455. DOI: 10.1371/journal.pone.0014455.
- Taylor, Alex H.; Elliffe, Douglas; Hunt, Gavin R.; Gray, Russell D. (2010): Complex cognition and behavioural innovation in New Caledonian crows. In: *Proceedings of Royal Society, Biological Sciences* 277 (1694), S. 2637–2643. DOI: 10.1098/rspb.2010.0285.
- Thran, J. (2013): Ein räumliches Orientierungsgedächtnis im Zentralkomplex von *Drosophila melanogaster* und die spezifische Rolle von *ellipsoid-body-open*. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- Thran, J.; Poeck, B.; Strauss, R. (2013): Serum response factor-mediated gene regulation in a *Drosophila* visual working memory. In: *Current Biology* 23 (18), S. 1756–1763. DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.034.
- Träger, U.; Wagner, R.; Bausenwein, B.; Homberg, U. (2008): A novel type of microglomerular synaptic complex in the polarization vision pathway of the locust brain. In: *The Journal of Comparative Neurology* 506 (2), S. 288–300. DOI: 10.1002/cne.21512.
- Triphan, T.; Poeck, B.; Neuser, K.; Strauss, R. (2010): Visual targeting of motor actions in climbing *Drosophila*. In: *Current Biology* 20 (7), S. 663–668. DOI: 10.1016/j.cub.2010.02.055.
- Tully, T.; Quinn, W. G. (1985): Classical conditioning and retention in normal and mutant *Drosophila melanogaster*. In: *Journal of Comparative Physiology* 157 (2), S. 263–277. DOI: 10.1007/BF01350033.
- Turner-Evans, D.; Wegener, S.; Rouault, H.; Franconville, R.; Wolff, T.; Seelig, J. D.; Druckmann, S.; Jayaraman, V. (2017): Angular velocity integration in a fly heading circuit. In: *eLife* 6: e23496. DOI: 10.7554/eLife.23496.
- Ugur, B.; Chen, K.; Bellen, H. J. (2016): *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. In: *Disease Models & Mechanisms* 9 (3), S. 235–244. DOI: 10.1242/dmm.023762.
- van Swinderen, B. (2011): Attention in *Drosophila*. In: *International Review of Neurobiology* 99, S. 51–85. DOI: 10.1016/B978-0-12-387003-2.00003-3.
- van Swinderen, B.; Brembs, B. (2010): Attention-like deficit and hyperactivity in a *Drosophila* memory mutant. In: *The Journal of Neuroscience* 30 (3), S. 1003–1014. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4516-09.2010.
- van Swinderen, B.; Flores, K. A. (2007): Attention-like processes underlying optomotor performance in a *Drosophila* choice maze. In: *Developmental Neurobiology* 67 (2), S. 129–145. DOI: 10.1002/dneu.20334.
- van Swinderen, B.; McCartney, A.; Kauffman, S.; Flores, K.; Agrawal, K.; Wagner, J.; Paulk, A. (2009): Shared visual attention and memory systems in the *Drosophila* brain. In: *PLOS one* 4 (6), S. e5989. DOI: 10.1371/journal.pone.0005989.
- Venken, K. J. T.; Simpson, J. H.; Bellen, H. J. (2011): Genetic manipulation of genes and cells in the nervous system of the fruit fly. In: *Neuron* 72 (2), S. 202–230. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.09.021.

- Vosshall, L. B. (2007): Into the mind of a fly. In: *Nature* 450 (7167), S. 193–197. DOI: 10.1038/nature06335.
- Waddell, S.; Quinn, W. G. (2001): Flies, genes, and learning. In: *Annual Review of Neuroscience* 24, S. 1283–1309. DOI: 10.1146/annurev.neuro.24.1.1283.
- Wang, X.-J. (1999) Synaptic basis of cortical persistent activity: the importance of NMDA receptors to working memory. In: *Journal of Neuroscience* 19, S. 9587–9603.
- Wang, X.-J. (2001): Synaptic reverberation underlying mnemonic persistent activity. In: *Trends in Neurosciences* 24 (8), S. 455–463. DOI: 10.1016/S0166-2236(00)01868-3.
- Wang, X.; Robinson, P. J. (1997): Cyclic GMP-Dependent Protein Kinase and Cellular Signaling in the Nervous System. In: *Journal of Neurochemistry* 68 (2), S. 443–456. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1997.68020443.x.
- Wang, Z.; Pan, Y.; Li, W.; Jiang, H.; Chatzimanolis, L.; Chang, J. et al. (2008): Visual pattern memory requires foraging function in the central complex of *Drosophila*. In: *Learning & Memory* 15 (3), S. 133–142. DOI: 10.1101/lm.873008.
- Wassarman D. A.; Solomon N. M.; Rubin G. M. (1994): The *Drosophila melanogaster* ribosomal S6 kinase II-encoding sequence. In: *Gene* 144, S. 309–310.
- Weir, P. T.; Dickinson, M. H. (2015): Functional divisions for visual processing in the central brain of flying *Drosophila*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (40), S. E5523–32. DOI: 10.1073/pnas.1514415112.
- Whitlock, J. R.; Heynen, A. J.; Shuler, M. G.; Bear, M. F. (2006): Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. In: *Science* 313 (5790), S. 1093–1097. DOI: 10.1126/science.1128134.
- Wiederman, S. D.; O’Carroll, D. C. (2013): Selective attention in an insect visual neuron. In: *Current Biology* 23, S. 156–161. DOI: 10.1016/j.cub.2012.11.048.
- Wolf, R.; Wittig, T.; Liu, L.; Wustmann, G.; Eyding, D.; Heisenberg, M. (1998): *Drosophila* mushroom bodies are dispensable for visual, tactile, and motor learning. In: *Learning & Memory* 5 (1-2), S. 166–178. DOI: 10.1101/lm.5.1.166.
- Wolff, T.; Iyer, N. A.; Rubin, G. M. (2015): Neuroarchitecture and neuroanatomy of the *Drosophila* central complex: A GAL4-based dissection of protocerebral bridge neurons and circuits. In: *The Journal of Comparative Neurology* 523 (7), S. 997–1037. DOI: 10.1002/cne.23705.
- Wu, C.-L.; Xia, S.; Fu, T.-F.; Wang, H.; Chen, Y.-H.; Leong, D. et al. (2007): Specific requirement of NMDA receptors for long-term memory consolidation in *Drosophila* ellipsoid body. In: *Nature Neuroscience* 10 (12), S. 1578–1586. DOI: 10.1038/nn2005.
- Xi, Wang; Peng, Yueqing; Guo, Jianzeng; Ye, Yizhou; Zhang, Ke; Yu, Feng; Guo, Aike (2008): Mushroom bodies modulate salience-based selective fixation behavior in *Drosophila*. In: *The European Journal of Neuroscience* 27 (6), S. 1441–1451. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2008.06114.x.
- Xia, S.; Miyashita, T.; Fu, T.-F.; Lin, W.-Y.; Wu, C.-L.; Pyzocha, L. et al. (2005): NMDA receptors mediate olfactory learning and memory in *Drosophila*. In: *Current Biology* 15 (7), S. 603–615. DOI: 10.1016/j.cub.2005.02.059.

- Xie, X.; Tabuchi, M.; Brown, M. P.; Mitchell, S. P.; Wu, M. N.; Kolodkin, A. L. (2017): The laminar organization of the *Drosophila* ellipsoid body is semaphorin-dependent and prevents the formation of ectopic synaptic connections. In: *eLife* 6: e25328. DOI: 10.7554/eLife.25328.
- Yamamoto, S.; Jaiswal, M.; Charng, W.-L.; Gambin, T.; Karaca, E.; Mirzaa, G. et al. (2014): A *Drosophila* genetic resource of mutants to study mechanisms underlying human genetic diseases. In: *Cell* 159 (1), S. 200–214. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.002.
- Yin, J.C.P.; Wallach, J. S.; Del Vecchio, M.; Wilder, E. L.; Zhou, H.; Quinn, W. G.; Tully, T. (1995): Induction of a dominant negative CREB transgene specifically blocks long-term memory in *Drosophila*. In: *Cell* 79 (1), S. 49–58. DOI: 10.1016/0092-8674(94)90399-9.
- Young, J. M.; Armstrong, J. D. (2010): Building the central complex in *Drosophila*: the generation and development of distinct neural subsets. In: *The Journal of Comparative Neurology* 518 (9), S. 1525–1541. DOI: 10.1002/cne.22285.
- Young, J. M.; Armstrong, J. D. (2010): Structure of the adult central complex in *Drosophila*: organization of distinct neuronal subsets. In: *The Journal of Comparative Neurology* 518 (9), S. 1500–1524. DOI: 10.1002/cne.22284.
- Zylbertal, A.; Kahan, A.; Ben-Shaul, Y.; Yarom, Y.; Wagner, S. (2015): Prolonged Intracellular Na⁺ Dynamics Govern Electrical Activity in Accessory Olfactory Bulb Mitral Cells. In: *PLoS Biology* 13 (12), S. e1002319. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002319.
- Zachepilo, T. G.; Il'inykh, Yu F.; Lopatina, N. G.; Molotkov, D. A.; Popov, A. V.; Savvateeva-Popova, E. V. et al. (2008): Comparative analysis of the locations of the NR1 and NR2 NMDA receptor subunits in honeybee (*Apis mellifera*) and fruit fly (*Drosophila melanogaster*, Canton-S wild-type) cerebral ganglia. In: *Neuroscience and Behavioral Physiology* 38 (4), S. 369–372. DOI: 10.1007/s11055-008-0052-9.
- Zars, T. (2000): Localization of a Short-Term Memory in *Drosophila*. In: *Science* 288 (5466), S. 672–675. DOI: 10.1126/science.288.5466.672.
- Zars, T. (2010): Short-term memories in *Drosophila* are governed by general and specific genetic systems. In: *Learning & Memory* 17 (5), S. 246–251. DOI: 10.1101/lm.1706110.
- Zars, T. (2010): Visualizing PKA dynamics in a learning center. In: *Neuron* 65 (4), S. 442–444. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.02.009.
- Zhang, X.; Sato, M.; Sasahara, M.; Migita, C. T.; Yoshida, T. (2004): Unique features of recombinant heme oxygenase of *Drosophila melanogaster* compared with those of other heme oxygenases studied. In: *European Journal of Biochemistry* 271 (9), S. 1713–1724. DOI: 10.1111/j.1432-1033.2004.04077.x.
- Zhang, Z.; Li, X.; Guo, J.; Li, Y.; Guo, A. (2013): Two clusters of GABAergic ellipsoid body neurons modulate olfactory labile memory in *Drosophila*. In: *The Journal of Neuroscience* 33 (12), S. 5175–5181. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5365-12.2013.
- Zhang, X.; Sato, M.; Sasahara, M.; Migita, C. T.; and Yoshida, T. (2004): Unique features of recombinant heme oxygenase of *Drosophila melanogaster* compared with those of other heme oxygenases studied. In: *European Journal of Biochemistry* 271, S. 1713–1724. DOI:10.1111/j.1432 1033.2004.04077.x
- Zhao, J.; Lu, Y.; Zhao, X.; Yao, X.; Shuai, Y.; Huang, C. et al. (2013): Dissociation of *rugose*-dependent short-term memory component from memory consolidation in *Drosophila*. In: *Genes, Brain, and Behavior* 12 (6), S. 626–632. DOI: 10.1111/gbb.12056.

Zhao, Y.; Srivastava, D. (2007): A developmental view of microRNA function. In: *TRENDS in Biochemical Sciences* 4 (32), S. 189–197.

Zhong, Y.; Wu, C.-F. (2004): Neuronal activity and adenylyl cyclase in environment-dependent plasticity of axonal outgrowth in *Drosophila*. In: *The Journal of Neuroscience* 24 (6), S. 1439–1445. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0740-02.2004.

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Biochemische Signalkaskade zur Bildung eines Kurzzeit- und Langzeitgedächtnisses..	3
Abb. 2. Biochemische Signalkaskade für das visuelle Arbeitsgedächtnis von <i>Drosophila melanogaster</i>	6
Abb. 3. Drei-Komponenten-Modell des Arbeitsgedächtnisses.....	11
Abb. 4. Das modifizierte GAL4/UAS-System.	14
Abb. 5. Molekulare Darstellung des <i>Knockdowns</i> mit Hilfe von RNAi.	15
Abb. 6. Neuroanatomie von <i>Drosophila melanogaster</i>	17
Abb. 7. Schematische Darstellung der Feinstruktur des Ellipsoidkörpers.	20
Abb. 8. Anatomie der Pilzkörper.	22
Abb. 9. Hopfield-Modell.	25
Abb. 10. Aufsicht auf die Plattform.....	33
Abb. 11. Sicht auf die oberhalb der Plattform installierte Kamera.....	33
Abb. 12. Versuchsaufbau.	34
Abb. 13. Memotaxis-Paradigma.....	35
Abb. 14. Detour-Paradigma.....	36
Abb. 15. Fünf exemplarische Laufspuren pro Fliege.....	37
Abb. 16. Beispiel für die statistische Analyse der Anzahl der Anläufe und der zurückgelegten Strecken der Stämme <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ und <i>ebo</i> ^{KS263}	38
Abb. 17. Darstellung des Boxplots mit R!.....	39
Abb. 18. Exemplarische Laufspuren der Fliegen, die TNT unter der Kontrolle der R2-Treiberlinie VT49921-GAL4 exprimieren.....	41
Abb. 19. Memotaxis-Verhalten nach der Expression von TNT in den Subtypen der Ringneuronen R1-R4.....	43
Abb. 20. Verhaltensanalyse der Männchen mit dem Genotyp <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y im Memotaxis-Paradigma.	47
Abb. 21. Neuroanatomie von Männchen des Stammes <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.	48
Abb. 22. Exemplarische Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /II.	49
Abb. 23. Verhaltensanalyse der Männchen mit dem Genotyp <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /II im Memotaxis-Paradigma.	50

Abb. 24. Memotaxis-Verhalten von Tieren mit Expression wildtypischer cDNA von <i>ebo</i> ⁺ in einem <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ -mutanten Hintergrund in den R3- und R4-Neuronen.....	51
Abb. 25. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, die wildtypische cDNA von <i>ebo</i> ⁺ in einem <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ -mutanten Hintergrund in R4m- und R4d-Neuronen exprimieren.....	53
Abb. 26. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, die TNT unter der Kontrolle der Treiberlinie mb247-GAL4 exprimieren.	54
Abb. 27. Memotaxis-Verhalten von Tieren mit Expression von TNT im Pilzkörper.....	54
Abb. 28. Memotaxis-Verhalten des mutanten Stammes <i>dnc</i> ¹ , des Stammes <i>Pka-C1</i> ^{H2} sowie die Kreuzung von homozygoten <i>dnc</i> ¹ -Weibchen mit heterozygoten Männchen des Stammes <i>Pka-C1</i> ^{H2}	57
Abb. 29. Memotaxis-Verhalten homozygoter <i>dnc</i> ¹ (PDE4)-Weibchen und doppelt heterozygoter <i>rut</i> ¹ /X; <i>Pka-C1</i> ^{H2} /II-Weibchen.....	58
Abb. 30. Exemplarische Laufspuren von Fliegen mit der genetischen Konstellation VT49921-GAL4>UAS- <i>rut</i> ^{RNAi}	60
Abb. 31. <i>Knockdown</i> der mRNA von <i>rut</i> in Ringneuronen des Ellipsoidkörpers.	62
Abb. 32. Memotaxis-Verhalten der Fliegen mit den homozygoten Allelen <i>for</i> ^R und <i>for</i> ^S	65
Abb. 33. Exemplarische Laufspuren der Stämme <i>for</i> ^R und <i>for</i> ^S	65
Abb. 34. Memotaxis-Verhalten des Stammes <i>ign</i> ^{58/1}	67
Abb. 35. Exemplarische Laufspuren von Fliegen des Stammes <i>ign</i> ^{58/1}	67
Abb. 36. Memotaxis-Verhalten der dominant-negativ heterozygoten Tiere <i>Crebb</i> ^{S162} /X.....	69
Abb. 37. Expression wildtypischer cDNA von <i>ign</i> ²⁻¹ in den R3-Neuronen in einem <i>ign</i> ^{58/1} -mutanten Hintergrund rettet das visuelle Arbeitsgedächtnis.	70
Abb. 38. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, die die wildtypische cDNA von <i>ign</i> ²⁻¹ in einem <i>ign</i> ^{58/1} -mutanten Hintergrund in R1-Neuronen exprimieren.....	71
Abb. 39. Memotaxis-Verhalten nach Expression der wildtypischen cDNA von <i>ign</i> ²⁻¹ in einem <i>ign</i> ^{58/1} -mutanten Hintergrund.....	73
Abb. 40. Verhalten im Detour-Paradigma. <i>Knockdown</i> von NOS in R3-Neuronen.	76
Abb. 41. Verhalten im Memotaxis-Paradigma. <i>Knockdown</i> von NOS in R3-Neuronen.....	76
Abb. 42. Memotaxis-Verhalten nach Überexpression von NOS in R3-Neuronen.	78
Abb. 43. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, in denen die Translation der dNR1-Untereinheit in R4m-Neuronen inhibiert wird (Stamm 25941).....	80
Abb. 44. Exemplarische Laufspuren von Fliegen, in denen die Translation der dNR1-Untereinheit inhibiert wird (Stamm 41666).....	81

Abb. 45. Memotaxis-Verhalten nach dem <i>Knockdown</i> der mRNA der dNR1-Untereinheit in den R4m-Neuronen des Ellipsoidkörpers mit den Effektorstämmen 25941 und 41666.	82
Abb. 46. Exemplarische Laufspuren von Fliegen mit dem Genotyp 198y-GAL4>UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi}	83
Abb. 47. Verhalten im Memotaxis-Paradigma nach dem <i>Knockdown</i> der mRNA der dNR1-Untereinheit.	85
Abb. 48. Memotaxis-Verhalten von Fliegen mit Expression der mutanten dNR1-Untereinheit in R3-Neuronen.	88
Abb. 49. Visuelles Arbeitsgedächtnis im Detour-Paradigma von Fliegen, in denen die mRNA der dNR1-Untereinheit in den verschiedenen Subtypen der Ringneuronen degradiert wird.....	89
Abb. 50. Visuelles Arbeitsgedächtnis im Detour-Paradigma nach Expression der mutanten dNR1-Untereinheit in R3-Neuronen.....	91
Abb. 51. Darstellung des Hopfield-Modells und die Anwendung auf die R-Neuronen des Ellipsoidkörpers.	117
Abb. 52. Modell zur Funktionsweise des visuellen Kurzzeitintegrators.	129
Abb. 53. Modell zur Kurzzeitintegration.	133
Abb. 54. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	194
Abb. 55. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	194
Abb. 56. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	195
Abb. 57. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	195
Abb. 58. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	195
Abb. 59. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	196
Abb. 60. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	196
Abb. 61. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	196
Abb. 62. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	197
Abb. 63. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	197
Abb. 64. Gehirnschnittpräparat <i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /CyO.....	197

7.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1. Tabellarische Darstellung aller verwendeten Fliegenstämme	31
Tab. 2. Tabellarische Darstellung der Mediane der Anläufe und der zurückgelegten Strecken bezüglich der Expression von Tetanustoxin in den Ringneuronen R1-R4d.....	45
Tab. 3. Tabellarische Darstellung der Mediane der Anläufe und der zurückgelegten Strecken des <i>Knockdowns</i> von <i>rut</i>	63
Tab. 4. Tabellarische Darstellung der Mediane der Anläufe und der zurückgelegten Strecken nach Expression von <i>ign</i> ²⁻¹ in einem <i>ign</i> ^{58/1} -mutanten Hintergrund.	74
Tab. 5. Tabellarische Darstellung der Mediane. <i>Knockdown</i> der dNR1-Untereinheit und Memotaxis-Paradigma	86
Tab. 6. Statistische Auswertung zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 16 A).	168
Tab. 7. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 16 B.	168
Tab. 8. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 16 B.	168
Tab. 9. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 19 A).	169
Tab. 10. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 19 B.	169
Tab. 11. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 19 B.	170
Tab. 12. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 27 A).	171
Tab. 13. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 27 B.	171
Tab. 14. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 27 B.	171
Tab. 15. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 20 A).	172
Tab. 16. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 20 B.	172
Tab. 17. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 20 B.	172
Tab. 18. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 23 A).	173
Tab. 19. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 23 B.	173
Tab. 20. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 23 B.	173
Tab. 21. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 24 A).	174
Tab. 22. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 24 B.	174
Tab. 23. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 24 B.	174
Tab. 24. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Zufallsniveau=5; Abb. 28 A).....	175
Tab. 25. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 28 B.	175
Tab. 26. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 28 B.	175
Tab. 27. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 29 A).	176

Tab. 28. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 29 B.	176
Tab. 29. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 29 B.	176
Tab. 30. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 31 A).	177
Tab. 31. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 31 B.	177
Tab. 32. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 31 B.	178
Tab. 33. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 32 A).	179
Tab. 34. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 32 B.	179
Tab. 35. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 32 B.	179
Tab. 36. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 34 A).	180
Tab. 37. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 34 B.	180
Tab. 38. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 34 B.	180
Tab. 39. Statistischer Vergleich heterozygoter <i>CrebB</i> ^{S162} /X zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 36 A).....	180
Tab. 40. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 36 B.	180
Tab. 41. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 36 B.	180
Tab. 42. Statistische Analyse in Bezug auf das Zufallsniveau von 58% (vgl. Abb. 37).	181
Tab. 43. Statistische Analyse bezüglich der Verteilungsfunktionen untereinander für die Abb. 37.	181
Tab. 44. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 31 A).	182
Tab. 45. Anzahl der Anläufe. Statistischer Vergleich der Verteilungsfunktionen untereinander für die Abb. 39 A.....	182
Tab. 46. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 39 B.	183
Tab. 47. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 39 B.	184
Tab. 48. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau von 58% für die Abb. 40.	185
Tab. 49. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 41 A).	185
Tab. 50. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 41 B.	185
Tab. 51. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 41 B.	185
Tab. 52. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 42 A).	186
Tab. 53. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 42 B.	186
Tab. 54. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 42 B.	186
Tab. 55. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 45 A).	187
Tab. 56. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 A.	187
Tab. 57. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 A.	187

Tab. 58. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 45 B).	188
Tab. 59. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 B.	188
Tab. 60. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 B.	188
Tab. 61. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 47 A).	189
Tab. 62. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 47 B.	189
Tab. 63. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 48 A).	191
Tab. 64. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 48 B.	191
Tab. 65. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 48 B.	191
Tab. 66. Statistische Analyse Detour-Paradigma (Zufallsniveau=58%; Abb. 49).	192
Tab. 67. Statistische Analyse bezüglich der Verteilungsfunktionen untereinander für die Abb. 49.....	193
Tab. 68. Statistischer Vergleich Detour-Paradigma (Zufallsniveau=58%; Abb. 50)	194

7.4 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AC	Adenylylzyklase
AMPA	α Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionsäure
AP	Aktionspotenzial
BU	Bulb
Ca ²⁺	Calcium
CaM	Calmodulin
CaMK	Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CBP	CREB binding protein
CBS	Cystathionin- β -Synthase
cDNA	komplementäre DNA
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CO	Kohlenstoffmonoxid
CRE	Crepine
CREB	cAMP response element-binding protein
CS	Canton Spezial
CSE	Cystathionin- γ -Lyase
<i>CyO</i>	<i>Curly of Oster</i>
DAG	Diaglycerol
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dSRF	<i>Drosophila</i> Serum response factor
dsRNA	double-stranded RNA
EB	Ellipsoidkörper
EPSP	Exzitatorisches Postsynaptisches Potenzial
FB	Fächerförmiger Körper
GA	Gall
GABA	γ -Aminobuttersäure
GAL4	Transkriptionsfaktor
GC	Guanylylzyklase
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
HO	Hämoxygenase
IP ₃	Inositol-1,4,5-trisphosphat
K ⁺	Kalium
LTM	long-term memory/Langzeitgedächtnis
LTP	long-term potentiation/ Langzeitpotenzierung
MAP-K	mitogen-activated protein
Mg ²⁺	Magnesium

mRNA	messenger RNA/Botenstoff RNA
MRTF	myocardin-activated protein kinase
n.s.	nicht signifikant
Na ⁺	Natrium
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Noduli
NOS	Nitritoxid-Synthase
PB	Protocerebralbrücke
PDE	Phosphodiesterase
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
R1	Ringneuronen des Subtyps 1
R2	Ringneuronen des Subtyps 2
R3	Ringneuronen des Subtyps 3
R4	Ringneuronen des Subtyps 4
R4m/R4d	Ringneuronen des Subtyps 4 medial/distal
RISC-Komplex	RNA-induced silencing complex
RN	Ringneuron
RNA	Ribonukleinsäure
RNAi	RNA-Interferenz
RSKII	Ribosomale S6 Kinase II
RUB	Rubus
siRNA	small interfering RNA
STM	short-term memory/Kurzzeitgedächtnis
Tab.	Tabelle
TNT	Tetanus Toxin
UAS	upstream activating sequence
ZK	Zellkörper

8. Anhang

8.1 Statistik

8.1.1 Beispiel für die statistische Auswertung der mutanten Stämme *ebo*⁶⁷⁸ und *ebo*^{KS263}

Tab. 6. Statistische Auswertung zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 16 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. In Abhängigkeit des p-Wertes wurde das parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren angewendet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612	Wilcoxon-Test	0,0001287
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	p=0,666	t-Test	1
100/10	<i>ebo</i> ^{KS263}	p=0,2093	t-Test	0,1461

Tab. 7. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 16 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	Wildtyp CS	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ^{KS263}	p=7,452e ⁻¹⁴

Tab. 8. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 16 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(2,N=400)=47,0945; p=5,937e⁻¹¹.

Genotyp	Wildtyp CS	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	6,9e ⁻⁰⁷	-
<i>ebo</i> ^{KS263}	1,1e ⁻⁰⁸	0,46

8.1.2 TNT-Silencing der R-Neuronen im Ellipsoidkörper

Tab. 9. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 19 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II	p=0,09941	t-Test	0,005121
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II;;;198y-GAL4/IV	p=0,1062	t-Test	0,08684
200/20	X/Y;;;198y-GAL4/IV	p=0,006755	Wilcoxon-Test	0,01462
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II;VT49921-GAL4/III	p=0,1264	t-Test	0,5599
100/10	X/Y;;VT49921-GAL4/III	p=0,1264	t-Test	0,007501
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /189y-GAL4	p=0,1713	t-Test	0,1713
200/20	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,01864	Wilcoxon-Test	0,01864
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II;VT043679-GAL4/III	p=0,1574	t-Test	0,002996
100/10	X/Y;;VT043679-GAL4/III	p=0,318	t-Test	0,004277

Tab. 10. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 19 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II	p=3,905e ⁻¹¹
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II;;;198y-GAL4/IV	p=1,713e ⁻¹²
200/20	X/Y;;;198y-GAL4/IV	p=9,112e ⁻¹⁵
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II;VT49921-GAL4/III	p=2,44e ⁻¹²
100/10	X/Y;;VT49921-GAL4/III	p=2,851e ⁻⁰⁸
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /189y-GAL4	p=1,643e ⁻¹⁴
200/20	X/Y;189y-GAL4/II	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II;VT043679-GAL4/III	p=9,034e ⁻¹⁴
100/10	X/Y;;VT043679-GAL4/III	p=2,802e ⁻⁰⁹

stischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 19 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Holm-Korrektur. Kruskal-Test Analyse: $H(8) = 10,8$, $p = 0,00015$.

	(1)	X/Y;;; 198yGAL4/IV	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
.../IV (R1)	$3,3e^{-6}$	-	-	-	-	-	-	-
...GAL4/II (R4d)	0,00015	1	-	-	-	-	-	-
...NT ^{PIN7.2} /II; ...GAL4/III (R4d)	$< 2e^{-16}$	$2,4e^{-8}$	$2,8e^{-6}$	-	-	-	-	-
...NT ^{PIN7.2} /II	0,01388	1	1	$1,2e^{-9}$	-	-	-	-
...NT ^{PIN7.2} ...4 (R3)	$< 2e^{-16}$	$8,9e^{-8}$	$7e^{-6}$	1	$1,8e^{-9}$	-	-	-
...NT ^{PIN7.2} /II;;; .../IV (R1)	$5,2e^{-15}$	$1,1e^{-5}$	0,00013	1	$1,1e^{-7}$	1	-	-
...21-GAL4/III (R2)	0,00064	1	1	$1,1e^{-5}$	1	$9,4e^{-5}$	0,00137	-
...NT ^{PIN7.2} /II; ...GAL4/III (R2)	$< 2e^{-16}$	$8,1e^{-9}$	$1,8e^{-6}$	1	$3,5e^{-10}$	1	0,97525	$4,3e^{-6}$

8.1.3 Statistische Analyse zur Expression von Tetanustoxin im Pilzkörper

Tab. 12. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 27 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612	Wilcoxon-Test	0,0001287
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II	p=0,09941	t-Test	0,005121
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} / mb247-GAL4	p=0,2415	t-Test	0,00564

Tab. 13. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 27 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II	p=3,905e ⁻¹¹
100/10	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /mb247-GAL4	p=7,99e ⁻⁰⁸

Tab. 14. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 27 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(2,N=400)=55,515; p<8,811e⁻¹³.

Genotyp	Wildtyp CS	X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II
X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /II	0,94	-
X/Y;UAS-TNT ^{PIN7.2} /mb247-GAL4	9,7e ⁻¹¹	1,4e ⁻¹⁰

8.1.4 Statistische Analyse des Stammes *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/*yw*^aFM7a

Tab. 15. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 20 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612	Wilcoxon-Test	0,0001287
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	p=0,666	t-Test	1
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y	p=0,08673	t-Test	0,2308

Tab. 16. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 20 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	Wildtyp CS	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y	p=5,448e ⁻¹³

Tab. 17. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 20 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(2,N=400=26,6984; p=1,594e⁻⁰⁶).

Genotyp	Wildtyp CS	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	6,9e ⁻⁰⁷	-
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y	0,178	0,5974

8.1.5 Statistische Analyse des Stammes *ebo*⁶⁷⁸UAS-SD3282²³/Y;UAS-3282^{M7}/CyO

Tab. 18. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 23 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612	Wilcoxon-Test	0,0001287
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	p=0,666	t-Test	1
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /II	p=0,3447	t-Test	0,3107

Tab. 19. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 23 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	Wildtyp CS	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /II	p=9,241e ⁻⁰⁷

Tab. 20. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 23 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(2,N=400)=29,8639; p=3,274e⁻⁰⁷.

Genotyp	Wildtyp CS	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸	6,9e ⁻⁰⁷	-
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /II	0,0017	0,5974

8.1.6 Expression der wildtypischen cDNA von *ebo*⁺ in einem *ebo*⁶⁷⁸-mutanten Hintergrund

Tab. 21. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 24 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ /Y	p=0,666	t-Test	1
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /II	p=0,3447	t-Test	0,3107
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /189y-GAL4	p=0,5426	t-Test	0,2647
200/20	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,01864	Wilcoxon-Test	7,954e ⁻⁰⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /II; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	p=0,4529	t-Test	0,4951
200/20	X/Y;; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	p=0,02689	Wilcoxon-Test	0,0005822

Tab. 22. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 24 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ /Y	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /II	p=9,241e ⁻⁰⁷
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /189y-GAL4	p=9,584e ⁻¹²
200/20	X/Y;189y-GAL4/II	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y;UAS-3282 ^{M7} /II; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4	p=2,594e ⁻¹²
200/20	X/Y;; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	p<2,2e ⁻¹⁶

Tab. 23. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 24 B. Multipler Vergleich mit Bonferoni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(5,N=800)=166,32; p<2,2e⁻¹⁶.

Genotyp	X/Y;189y-GAL4/II	(1)	(2)	(3)	(4)
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ /Y (1)	9,8e ⁻¹³	-	-	-	-
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /II (2)	3,3e ⁻¹⁰	1	-	-	-
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /189y-GAL4 (3)	2,9e ⁻⁰⁷	0,26	1	-	-
<i>ebo</i> ⁶⁷⁸ UAS-SD3282 ²³ /Y; UAS-3282 ^{M7} /II; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4 (4)	2,4e ⁻¹¹	1	1	0,68	-
X/Y;; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	1	<2e ⁻¹⁶	1,2e ⁻¹⁴	3,2e ⁻¹⁰	5,6e ⁻¹⁶

8.1.7 *dnc¹/Y, Pka-C1^{H2}, dnc¹/Y;Pka-C1^{H2}*

Tab. 24. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Zufallsniveau=5; Abb. 28 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. In Abhängigkeit des p-Wertes wurde das parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren angewendet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612	Wilcoxon-Test	0,0001287
100/10	<i>dnc¹/Y</i>	p=0,2856	t-Test	0,2165
100/10	<i>X/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=0,008748	Wilcoxon-Test	0,0639
100/10	<i>dnc¹/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=0,1506	t-Test	7,976e ⁻⁰⁷

Tab. 25. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 28 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	Wildtyp CS	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>dnc¹/Y</i>	p=4,655e ⁻¹⁴
100/10	<i>X/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=8,113e ⁻¹⁶
100/10	<i>dnc¹/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=7,987e ⁻¹⁶

Tab. 26. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 28 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(3,N=500)=7,9175; p=0,04775.

Genotyp	Wildtyp CS	<i>dnc¹/Y</i>	<i>X/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>
<i>dnc¹/Y</i>	0,277	-	-
<i>X/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>	0,421	1	-
<i>dnc¹/Y;Pka-C1^{H2}/II</i>	0,096	1	1

8.1.8 CS ♀, homozygote *dnc¹* und doppelt heterozygote *rut¹/X;Pka-C1^{H2}/II*-Mutanten

Tab. 27. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 29 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere. Von jedem Tier wurden zehn Anläufe analysiert.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
100/10	Wildtyp CS ♀	p=0,1178	t-Test	0,0005277
100/10	<i>dnc¹/dnc¹</i>	p=0,02195	Wilcoxon-Test	0,01037
100/10	<i>rut¹/X;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=0,01916	Wilcoxon-Test	0,1674

Tab. 28. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 29 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test
100/10	Wildtyp CS ♀	p=1,411e ⁻¹¹	Wilcoxon-Test
100/10	<i>dnc¹/dnc¹</i>	p=8,543e ⁻¹³	Wilcoxon-Test
100/10	<i>rut¹/X;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=1,548e ⁻¹⁴	Wilcoxon-Test

Tab. 29. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 29 B. Für die statistische Analyse wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Genotyp	Wildtyp CS
<i>dnc¹/dnc¹</i>	p=0,05312
<i>rut¹/X;Pka-C1^{H2}/II</i>	p=0,6407

8.1.9 Knockdown von *rut* in den Ringneuronen

Tab. 30. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 31 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n= Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/III$	p=0,005451	Wilcoxon-Test	0,01219
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/III;$ 198y-GAL4/IV	p=0,1169	t-Test	$3,393e^{-05}$
200/20	X/Y;;;198y-GAL4/IV	p=0,006755	Wilcoxon-Test	0,01462
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/$ VT49921-GAL4	p=0,05096	t-Test	0,5278
200/20	X/Y;;VT49921-GAL4	p=0,06639	t-Test	0,0006677
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/$ 189y-GAL4	p=0,01462	Wilcoxon-Test	0,04505
200/20	X/Y;;189y-GAL4/II	p=0,01864	Wilcoxon-Test	0,0003976
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/$ <i>ftz-(ng)</i> -GAL4	p=0,4509	t-Test	0,00728
200/20	X/Y;; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	p=0,02689	Wilcoxon-Test	0,0005822

Tab. 31. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 31 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/III$	p=0,1486
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/III;$ 198y-GAL4/IV	p=0,03788
200/20	X/Y;;;198y-GAL4/IV	p=0,1353
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/VT49921-GAL4$	$p=3,837e^{-13}$
200/20	X/Y;;VT49921-GAL4	$p=1,647e^{-15}$
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/189y-GAL4$	$p<2,2e^{-16}$
200/20	X/Y;;189y-GAL4/II	$p<2,2e^{-16}$
200/20	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-rut^{RNAi}\}/ftz-(ng)-GAL4$	$p<2,2e^{-16}$
200/20	X/Y;; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	$p<2,2e^{-16}$

istischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 31 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Holm-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(8)

	X/Y;;189y- GAL4/II (R3)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
-GAL4/IV (R1)	2,6e ⁻⁰⁶	-	-	-	-	-	-	-
g)-GAL4/III (R4)	0,91236	3,9e ⁻¹⁰	-	-	-	-	-	-
⁺ v ⁺ UAS-rut ^{RNAi} }/III; /IV (R1)	6,7e ⁻¹³	0,03088	< 2e ⁻¹⁶	-	-	-	-	-
⁺ v ⁺ UAS-rut ^{RNAi} }/ (R3)	1,4e ⁻¹⁵	0,00274	< 2e ⁻¹⁶	0,91236	-	-	-	-
⁺ v ⁺ UASrut ^{RNAi} }/ GAL4 (R2)	< 2e ⁻¹⁶	6e ⁻¹⁶	< 2e ⁻¹⁶	2,9e ⁻⁰⁶	1,2e ⁻⁰⁵	-	-	-
⁺ v ⁺ UAS-rut ^{RNAi} }/ AL4 (R4)	< 2e ⁻¹⁶	4,2e ⁻⁰⁸	< 2e ⁻¹⁶	0,01968	0,05784	0,16217	-	-
⁺ v ⁺ UAS-rut ^{RNAi} }/III	0,00012	0,76448	2,8e ⁻⁰⁷	0,00044	1,2e ⁻⁰⁵	< 2e ⁻¹⁶	4,2e ⁻¹¹	-
021-GAL4 (R2)	0,12282	0,01287	0,01287	7,6e ⁻⁰⁸	5,3e ⁻¹⁰	< 2e ⁻¹⁶	2,9e ⁻¹⁶	0,1

8.1.10 *for^R* und *for^S*

Tab. 33. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 32 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
150/15	Wildtyp CS	p=0,03843	Wilcoxon-Test	0,001009
150/15	<i>for^R/for^R</i>	p=0,2381	t-Test	0,07555
150/15	<i>for^S/for^S</i>	p=0,2012	t-Test	0,01144

Tab. 34. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 32 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
150/15	Wildtyp CS	$p < 2,2e^{-16}$
150/15	<i>for^R/for^R</i>	$p < 2,2e^{-16}$
150/15	<i>for^S/for^S</i>	$p < 2,2e^{-16}$

Tab. 35. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 32 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: $H(2, N=450)=11,0035$; $p=0,00408$.

Genotyp	Wildtyp CS	<i>for^R</i>
<i>for^R/for^R</i>	0,0041	-
<i>for^S/for^S</i>	0,0804	1

8.1.11 *ign*^{58/1}/*Y* und *crebB*^{S162}/*X*

Tab. 36. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 34 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	Wildtyp CS	p=0,009612	Wilcoxon-Test	0,0001287
100/10	<i>ign</i> ⁵⁸ / <i>Y</i>	p=0,4726	t-Test	0,7263

Tab. 37. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 34 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	Wildtyp CS	p<2,2e ⁻¹⁶
100/10	<i>ign</i> ⁵⁸ / <i>Y</i>	p=1,627e ⁻⁰⁸

Tab. 38. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 34 B. Für weitere Analysen wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Genotyp	Wildtyp CS
<i>ign</i> ⁵⁸ / <i>Y</i>	3,426e ⁻⁰⁵

Tab. 39. Statistischer Vergleich heterozygoter *CrebB*^{S162}/*X* zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 36 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
100/10	Wildtyp CS ♀	p=0,1178	t-Test	0,0005277
100/10	<i>CrebB</i> ^{S162} / <i>X</i>	p=0,4985	t-Test	0,005472

Tab. 40. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 36 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	Wildtyp CS ♀	p=1,411e ⁻¹¹
100/10	<i>CrebB</i> ^{S162} / <i>X</i>	p=2,728e ⁻¹²

Tab. 41. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 36 B. Für weitere Analysen wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Genotyp	Wildtyp CS ♀
<i>CrebB</i> ^{S162} / <i>X</i>	p=0,5519

8.1.12 Expression wildtypischer cDNA von *ign²⁻¹* im *ign^{58/1}*-mutanten Hintergrund-Detour-Paradigma

Tab. 42. Statistische Analyse in Bezug auf das Zufallsniveau von 58% (vgl. Abb. 37). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. Entsprechend des p-Wertes wurde der Wilcoxon-Test oder der t-Test gegen das Zufallsniveau von 58% verwendet. n=Anzahl der getesteten Tiere.

n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
10	Wildtyp CS	p=0,2582	t-Test	2,435e ⁻⁰⁵
10	$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y$	p=0,09487	t-Test	0,1698
10	$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y;;;$ 198y-GAL4/IV	p=0,5745	t-Test	0,3618
10	$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y;$ EB1-GAL4/II	p=0,4941	t-Test	0,7075
10	$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y;$ 189y-GAL4	p=0,3283	t-Test	0,0005779
10	$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y;;$ <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III	p=0,01669	Wilcoxon-Test	0,6061

Tab. 43. Statistische Analyse bezüglich der Verteilungsfunktionen untereinander für die Abb. 37. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: $H(5, N=600)=29,637$; $p=1,738e^{-05}$.

Genotyp	Wildtyp CS	(1)	(2)	(3)	(4)
$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y$; 189y-GAL4 (1)	1	-	-	-	-
$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y$; ;;;198y-GAL4/IV (2)	0,0282	0,368	-	-	-
$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y$; EB1-GAL4/II (3)	0,0283	0,3688	1	-	-
$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y$; ; <i>ftz-(ng)</i> -GAL4/III (4)	0,0053	0,0354	1	1	-
$w^mP\{w^mUAS-ign^{2-1}ign^{58/1}\}/Y$	0,003	0,007	1	1	1

8.1.13 Expression wildtypischer cDNA von *ign²⁻¹* im *ign^{58/1}*-mutanten Hintergrund-Memotaxis-Paradigma

Tab. 44. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 31 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
100/10	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y$	p=0,005451	Wilcoxon-Test	0,01219
200/20	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;;;198y-GAL4/IV$	p=0,1169	t-Test	3,393e ⁻⁰⁵
200/20	X/Y;;;198y-GAL4/IV	p=0,006755	Wilcoxon-Test	p=0,01462
200/20	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;EB1-GAL4/II$	p=0,05096	t-Test	0,5278
200/20	X/Y;EB1-GAL4/II	p=0,06639	t-Test	0,0006677
100/10	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;189y-GAL4/II$	p=0,01462	Wilcoxon-Test	0,04505
200/20	X/Y;;189y-GAL4/II	p=0,01864	Wilcoxon-Test	0,0003976
100/10	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;;ftz-(ng)-GAL4/III$	p=0,4509	t-Test	0,00728
200/20	X/Y;;ftz-(ng)-GAL4/III	p=0,02689	Wilcoxon-Test	0,0005822

Tab. 45. Anzahl der Anläufe. Statistischer Vergleich der Verteilungsfunktionen untereinander für die Abb. 39 A. Entsprechend der Verteilungsfunktionen wurde der Zweistichproben-t-Test für parametrisch verteilte Daten oder der Wilcoxon-Test für nichtparametrisch verteilte Daten verwendet.

Genotyp	Statistischer Test	p-Wert
$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;;;198y-GAL4/IV$	Wilcoxon-Test	0,3801
X/Y;;; 198y-GAL4/IV		
$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;EB1-GAL4/II$	Wilcoxon-Test	0,7724
X/Y;EB1-GAL4/II		
$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;189y-GAL4/II$	Wilcoxon-Test	0,1812
X/Y;189y-GAL4/II		
$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;;ftz-(ng)-GAL4/III$	Wilcoxon-Test	0,4356
X/Y;;ftz-(ng)-GAL4/III		

Tab. 46. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 39 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n= Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y$	$p=8,133e^{-12}$
200/20	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;;;198y-GAL4/IV$	$p<2,2e^{-16}$
200/20	X/Y;;;198y-GAL4/IV	$p=9,112e^{-15}$
200/20	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;EB1-GAL4/II$	$p<2,2e^{-16}$
200/20	X/Y;EB1-GAL4/II	$p<2,2e^{-16}$
100/10	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;189y-GAL4/II$	$p=1,066e^{-11}$
200/20	X/Y;;189y-GAL4/II	$p<2,2e^{-16}$
100/10	$w^m P\{w^m UAS-ign^{2-1} ign^{58/1}\}/Y;;ftz-(ng)-GAL4/III$	$p=1,218e^{-11}$
200/20	X/Y;;ftz-(ng)-GAL4/III	$p<2,2e^{-16}$

statischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 39 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Holm-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: $H(8, N=150)$

	X/Y;189y- GAL4/II (R3)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(7)	(6)
GAL4/IV (R1)	$3,1e^{-06}$	-	-	-	-	-	-	-
GAL4/II (R2)	0,19323	$2,2e^{-10}$	-	-	-	-	-	-
GAL4/III (R4)	1	$5e^{-10}$	0,19206	-	-	-	-	-
$\{ign^{2-1};ign^{58/1}\}/Y$	$5,3e^{-13}$	0,00039	$8e^{-16}$	$< 2e^{-16}$	-	-	-	-
$\{ign^{2-1};ign^{58/1}\}/Y;$ (R3)	0,00039	1	$2,9e^{-07}$	$2,6e^{-07}$	0,00033	-	-	-
$\{ign^{2-1};ign^{58/1}\}/Y;;;$ V (R1)	$1,9e^{-08}$	1	$3,1e^{-13}$	$1,1e^{-14}$	0,0007	1	-	-
$\{ign^{2-1};ign^{58/1}\}/Y;$ (R2)	1	$4,4e^{-06}$	0,179	1	$2,4e^{-12}$	0,00037	-	$3,1e^{-05}$
$\{ign^{2-1};ign^{58/1}\}/Y;;$ I/III (R4)	$4,3e^{-05}$	1	$1,8e^{-08}$	$2,3e^{-08}$	0,00429	1	$5e^{-05}$	1

8.1.14 Knockdown von NOS in den R3-Neuronen, Detour-Paradigma

Tab. 48. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau von 58% für die Abb. 40. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. n=Anzahl der getesteten Tiere.

n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
10	Wildtyp CS	p=0,2869	t-Test	0,000739
10	X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} / 189y-GAL4	p=0,2449	t-Test	0,2229

8.1.15 Knockdown von NOS in den R3-Neuronen, Memotaxis-Paradigma

Tab. 49. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 41 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
130/13	Wildtyp CS	p=0,01847	Wilcoxon-Test	0,008229
120/12	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,04107	Wilcoxon-Test	0,02954
100/10	X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} /II	p=0,006854	Wilcoxon-Test	0,007857
120/12	X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} / 189y-GAL4	p=0,2013	t-Test	0,01344

Tab. 50. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 41 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	Wildtyp CS	p=5,251e ⁻¹³
120/12	X/Y;189y-GAL4/II	p=4,574e ⁻¹⁰
100/10	X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} /II	p=9,506e ⁻¹¹
120/12	X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} /189y-GAL4	p=8,923e ⁻¹⁴

Tab. 51. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 41 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(3,N=440)=664,57; p<2,2e⁻¹⁶.

Genotyp	X/Y;189y-GAL4/II	Wildtyp CS	X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} /II
Wildtyp CS	1	-	-
X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} /II	0,5597	0,1433	-
X/Y;UAS-Nos ^{RNAi} /189y-GAL4	0,4285	1	0,002

8.1.16 Konstitutive Überexpression von NOS in den R3-Neuronen

Tab. 52. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 42 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
130/13	Wildtyp CS	p=0,01847	Wilcoxon-Test	0,008229
120/12	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,04107	Wilcoxon-Test	0,02954
100/10	X/Y;UAS-Nos-Mac/II	p=0,5409	t-Test	0,002077
110/11	X/Y;UAS-Nos-Mac/ 189y-GAL4	p=0,1578	t-Test	0,006395

Tab. 53. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 42 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	Wildtyp CS	p=4,574e ⁻¹⁰
120/12	X/Y;189y-GAL4/II	p=4,574e ⁻¹⁰
100/10	X/Y;UAS-Nos-Mac/II	p=1,863e ⁻¹¹
110/11	X/Y;UAS-Nos-Mac/189y-GAL4	p=3,784e ⁻¹⁴

Tab. 54. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 42 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(3,N=430)=0,96605; p=0,8095.

Genotyp	X/Y;189y-GAL4/II	Wildtyp CS	X/Y;UAS-Nos-Mac/II
Wildtyp CS	1	-	-
X/Y;UAS-Nos-Mac/II	1	1	-
X/Y;UAS-Nos-Mac/189y-GAL4	1	1	1

8.1.17 UAS-*dNR1*^{RNAi} mit VT25526-GAL4 (R4m)

UAS-*dNR1*^{RNAi} (Stock-Nr.: 25941)

Tab. 55. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 45 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. In Abhängigkeit des p-Wertes wurde das parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren angewendet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
130/13	Wildtyp CS	p=0,01847	Wilcoxon-Test	0,008229
100/10	X/Y;;VT25526-GAL4/III (R4m)	p=0,1977	t-Test	2,293e ⁻⁰⁵
100/10	<i>y</i> ¹ <i>v</i> ¹ /Y;;P{ <i>y</i> ⁺ <i>v</i> ⁺ UAS <i>dNR1</i> ^{RNAi} }/III	p=0,0494	Wilcoxon-Test	0,00861
100/10	<i>y</i> ¹ <i>v</i> ¹ /Y;;P{ <i>y</i> ⁺ <i>v</i> ⁺ UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi} }/VT25526-GAL4	p=0,1452	t-Test	0,9059

Tab. 56. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 A. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	Wildtyp CS	p=2,983e ⁻¹³
100/10	X/Y;;VT25526-GAL4/III (R4m)	p=2,636e ⁻¹²
100/10	<i>y</i> ¹ <i>v</i> ¹ /Y;;P{ <i>y</i> ⁺ <i>v</i> ⁺ UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi} }/III	p=5,104e ⁻¹³
100/10	<i>y</i> ¹ <i>v</i> ¹ /Y;;P{ <i>y</i> ⁺ <i>v</i> ⁺ UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi} }/VT25526-GAL4	p=5,821e ⁻⁰⁹

Tab. 57. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 A. Multipler Vergleich mit Bonferoni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(3,N=400)=58,1392; p=1,468e⁻¹².

Genotyp	<i>y</i> ¹ <i>v</i> ¹ /Y;; P{ <i>y</i> ⁺ <i>v</i> ⁺ UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi} }/III	(1)	(2)
Wildtyp CS (1)	0,967	-	-
<i>y</i> ¹ <i>v</i> ¹ /Y;; P{ <i>y</i> ⁺ <i>v</i> ⁺ UAS- <i>dNR1</i> ^{RNAi} }/ VT25526-GAL4 (R4m) (2)	9,0e ⁻⁰⁹	7,6e ⁻⁰⁷	-
X/Y;;VT25526-GAL4/III	0,773	0,079	5,6e ⁻¹⁰

UAS-dNR1^{RNAi} (Stock-Nr.: 41666)

Tab. 58. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 45 B). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. In Abhängigkeit des p-Wertes wurde das parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren angewendet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
130/13	Wildtyp CS	p=0,01847	Wilcoxon-Test	0,008229
100/10	X/Y;;VT25526-GAL4/III (R4m)	p=0,1977	t-Test	2,293e ⁻⁰⁵
100/10	y ¹ v ¹ /Y;;P{y ⁺ v ⁺ UAS-dNR1 ^{RNAi} }/III	p=0,7824	t-Test	0,04509
110/11	y ¹ v ¹ /Y;;P{y ⁺ v ⁺ UAS-dNR1 ^{RNAi} }/VT25526-GAL4	p=0,8797	t-Test	0,5656

Tab. 59. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	Wildtyp CS	p=2,983e ⁻¹³
100/10	X/Y;;VT25526-GAL4/III (R4m)	p=2,636e ⁻¹²
100/10	y ¹ v ¹ /Y;;P{y ⁺ v ⁺ UAS-dNR1 ^{RNAi} }/III	p=2,197e ⁻⁰⁹
110/11	y ¹ v ¹ /Y;;P{y ⁺ v ⁺ UAS-dNR1 ^{RNAi} }/VT25526-GAL4	p=3,582e ⁻¹⁴

Tab. 60. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 45 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(3,N=410)=52,1583; p=2,771e⁻¹¹.

Genotyp	y ¹ v ¹ /Y;;P{y ⁺ v ⁺ UAS-dNR1 ^{RNAi} }/III	(1)	(2)
Wildtyp CS (1)	1	-	-
y ¹ v ¹ /Y;;P{y ⁺ v ⁺ UAS-dNR1 ^{RNAi} }/VT25526-GAL4 (R4m) (2)	9,4e ⁻⁰⁵	2,7e ⁻⁰⁶	-
X/Y;;VT25526-GAL4/III	0,0053	0,0788	1,1e ⁻⁰⁹

8.1.18 Knockdown der dNR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors (Stock-Nr.: 25941) und Analyse im Memotaxis-Paradigma

Tab. 61. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5, Abb. 47 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
200/20	CS	0,0009799	Wilcoxon-Test	0,002095
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III$	p=0,0494	Wilcoxon-Test	0,00861
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III;$ 198y-GAL4/IV	p=0,9083	t-Test	0,647
100/10	X/Y;;;198y-GAL4/IV	p=0,002252	Wilcoxon-Test	0,03997
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ VT49921-GAL4	p=0,6482	t-Test	0,6783
100/10	X/Y;;VT49921-GAL4/III	p=0,1264	t-Test	0,007501
130/13	$y^1v^1/Y;189y-GAL4/II;$ $P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III$	p=0,332	t-Test	0,3268
120/12	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,04107	Wilcoxon-Test	0,02954
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ VT043679-GAL4	p=0,2045	t-Test	0,8321
100/10	X/Y;;VT043679-GAL4/III (R4d)	p=0,318	t-Test	0,004277

Tab. 62. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 47 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
200/20	CS	$p < 2,2e^{-16}$
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III$	$p = 5,104e^{-13}$
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III;198y-GAL4/IV$	$p = 5,843e^{-14}$
100/10	X/Y;;;198y-GAL4/IV	$p = 9,882e^{-13}$
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/VT49921-GAL4$	$p = 2,83e^{-10}$
100/10	X/Y;;VT49921-GAL4/III	$p = 5,112e^{-08}$
130/13	$y^1v^1/Y;189y-GAL4/II;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III$	$p = 4,924e^{-12}$
120/12	X/Y;189y-GAL4/II	$p = 4,574e^{-10}$
100/10	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/VT043679-GAL4$	$p = 1,478e^{-11}$
100/10	X/Y;;VT043679-GAL4/III (R4d)	$p = 2,802e^{-09}$

statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken zu der Abb. 47 B). Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(9,N=1

	X/Y;189y- GAL4/II (R3)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
-GAL4/IV (R1)	1	-	-	-	-	-	-	-
$v^+UAS-dNR1^{RNAi}$ /III	1	1	-	-	-	-	-	-
	1	1	1	-	-	-	-	-
$v^+UAS-dNR1^{RNAi}$ /III; /IV (R1)	1,7e ⁻⁰⁷	6,5e ⁻⁰⁸	1,4e ⁻⁰⁸	6e ⁻¹⁰	-	-	-	-
$v^+UAS-dNR1^{RNAi}$ / GAL4 (R2)	4,6e ⁻¹⁴	4,6e ⁻¹⁴	3,2e ⁻¹⁴	<2e ⁻¹⁶	0,9225	-	-	-
y-GAL4/II; $dNR1^{RNAi}$ /III (R3)	0,02045	0,00896	0,00429	0,00144	0,02094	4,5e ⁻⁰⁷	-	-
$v^+UAS-dNR1^{RNAi}$ / GAL4 (R4d)	1,7e ⁻¹⁰	7,3e ⁻¹²	2,1e ⁻¹²	7,9e ⁻¹⁵	1	0,22874	0,00276	-
3679-GAL4/III (R4d)	0,22874	0,08522	0,05179	0,06147	0,00137	4e ⁻⁰⁸	1	8,3e ⁻⁰⁵
GAL4/III (R2)	0,22874	0,36818	0,30081	0,22874	0,00114	1,2e ⁻⁰⁷	1	0,00031

8.1.19 Codon Substitution innerhalb der dNR1-Untereinheit (Stamm: UAS-dNR1(N631Q))-Memotaxis-Paradigma

Tab. 63. Statistischer Vergleich zum Zufallsniveau (Anzahl der Anläufe=5; Abb. 48 A). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. In Abhängigkeit des p-Wertes wurde das parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren angewendet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
130/13	Wildtyp CS	p=0,01847	Wilcoxon-Test	0,008229
100/10	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,04107	Wilcoxon-Test	0,03236
100/10	UAS-dNR1(N631Q)/II	p=0,1559	t-Test	0,0001074
100/10	UAS-dNR1(N631Q)/189y-GAL4	p=0,2045	t-Test	0,0007252

Tab. 64. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 48 B. Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. N=Anzahl der Läufe, n=Anzahl der getesteten Tiere.

N/n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test
100/10	Wildtyp CS	p=2,983e ⁻¹³
100/10	X/Y;189y-GAL4/II	p=6,151e ⁻¹⁰
100/10	UAS-dNR1(N631Q)/II	p=1,349e ⁻¹³
100/10	UAS-dNR1(N631Q)/189y-GAL4	p=1,369e ⁻¹²

Tab. 65. Statistischer Vergleich der zurückgelegten Strecken für die Abb. 48 B. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test: H(3,N=400)=3,046; p=0,3846.

Genotyp	Wildtyp CS	UAS-dNR1(N631Q)/189y-GAL4	X/Y;189y-GAL4/II
UAS-dNR1(N631Q)/189y-GAL4	1	-	-
X/Y;189y-GAL4/II	1	1	-
UAS-dNR1(N631Q)/II	0,45	1	1

8.1.20 Knockdown der dNR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors (Stock-Nr.: 25941) und Analyse im Detour-Paradigma

Tab. 66. Statistische Analyse Detour-Paradigma (Zufallsniveau=58%; Abb. 49). Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. Entsprechend des p-Wertes wurde der Wilcoxon-Test oder der t-Test gegen das Zufallsniveau von 58% verwendet. n=Anzahl der getesteten Tiere.

n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
15	Wildtyp CS	p=0,03346	Wilcoxon-Test	0,00437
15	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III$	p=0,107	t-Test	0,0001459
15	X/Y;;;198y-GAL4/IV (R1)	p=0,3345	Wilcoxon-Test	0,004503
15	X/Y;;;VT49921-GAL4/IV (R2)	p=0,006065	t-Test	0,001408
15	X/Y;;;189y-GAL4/III (R3)	p=0,04183	Wilcoxon-Test	0,0006126
15	X/Y;;;VT043679-GAL4/III (R4d)	p=0,1161	t-Test	1,633e ⁻⁰⁵
15	X/Y;;;VT25526-GAL4/III (R4m)	p=0,06084	t-Test	8,907e ⁻⁰⁶
15	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III;$ 198y-GAL4/IV (R1)	p=0,2624	t-Test	0,01299
15	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ VT49921-GAL4 (R2)	p=0,2698	t-Test	0,02966
15	$y^1v^1/Y;$ 189y-GAL4/II; $P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/III$ (R3)	p=0,2465	t-Test	0,08134
15	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ VT043679-GAL4 (R4d)	p=0,2299	t-Test	0,003164
15	$y^1v^1/Y;;P\{y^+v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ VT25526-GAL4 (R4m)	p=0,0824	t-Test	0,445

statistische Analyse bezüglich der Verteilungsfunktionen untereinander für die Abb. 49. Multipler Vergleich mit Bonferroni-Holm-Korrektur. Kruskal-Wallis-Test (df=10; n=80,795; p=1,123e⁻¹³). Darstellung aller Irrtumswahrscheinlichkeiten p.

	CS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$\{v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\{v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ GAL4 (R4d)	0,00393	0,00156	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\{v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ GAL4 (R4m)	0,03803	0,01411	1	-	-	-	-	-	-	-	-
$\{v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ GAL4/IV (R1)	0,00468	0,00205	1	1	-	-	-	-	-	-	-
$\{v^+UAS-dNR1^{RNAi}\}/$ GAL4 (R2)	0,01454	0,00897	1	1	1	-	-	-	-	-	-
$\{v-GAL4/II;$ $dNR1^{RNAi}\}/III$ (R3)	0,01411	0,00467	1	1	1	1	-	-	-	-	-
GAL4/IV (R1)	1	1	0,00923	0,27356	0,01508	0,07260	0,06402	-	-	-	-
GAL4/IV (R2)	1	1	0,00119	0,01069	0,00151	0,00774	0,00381	1	-	-	-
GAL4/III [®]	1	1	0,00083	0,00492	0,00095	0,00415	0,00208	1	1	-	-
GAL4/IV (R3)	1	1	0,00069	0,00381	0,00085	0,00271	0,00162	0,77373	1	1	-
GAL4/III	1	1	0,00081	0,00436	0,00092	0,00373	0,00192	1	1	1	1

8.1.21 Codon Substitution innerhalb der dNR1-Untereinheit (Stamm: UAS-dNR1(N631Q))–Detour-Paradigma

Tab. 68. Statistischer Vergleich Detour-Paradigma (Zufallsniveau=58%; Abb. 50) Mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests wurde auf Normalverteilung getestet. In Abhängigkeit des p-Wertes wurde das parametrische oder nicht-parametrische Testverfahren angewendet. n=Anzahl der getesteten Tiere.

n	Genotyp	Shapiro-Wilk-Test	Statistischer Test	p-Wert
15	Wildtyp CS	p=0,03346	Wilcoxon-Test	0,00437
15	X/Y;189y-GAL4/II	p=0,04107	Wilcoxon-Test	0,0006126
15	UAS-dNR1(N631Q)/II	p=0,1337	t-Test	1,589e ⁻⁰⁵
15	UAS-dNR1(N631Q)/189y-GAL4	p=0,2576	t-Test	0,02852

8.2 Histologische Präparate

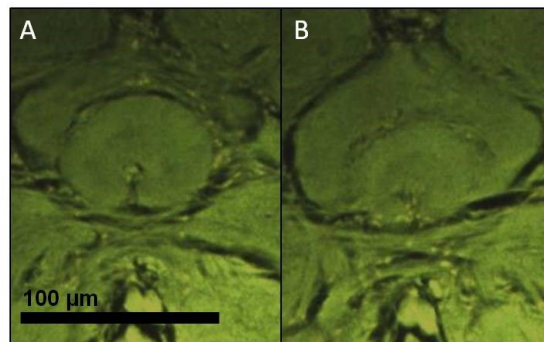


Abb. 54. Gehirnschnittpräparat *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*Y*;*UAS-3282*^{M7}/*CyO*. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 31. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

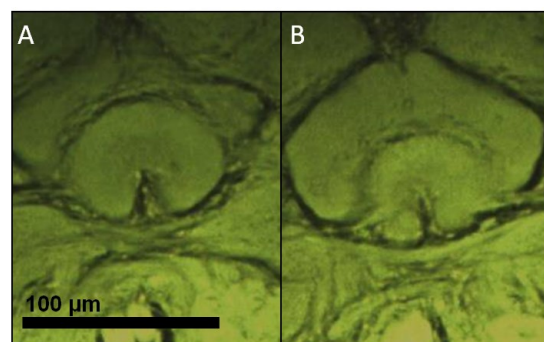


Abb. 55. Gehirnschnittpräparat *ebo*⁶⁷⁸*UAS-SD3282*²³/*Y*;*UAS-3282*^{M7}/*CyO*. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 31 (vgl. Abb. 21 C und D). Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

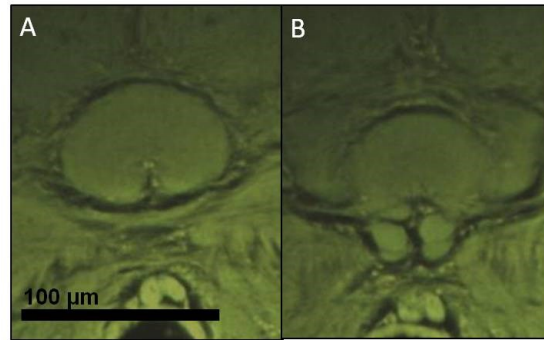


Abb. 56. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 31. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

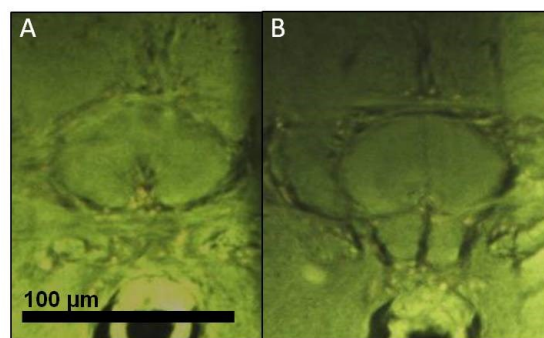


Abb. 57. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 40. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

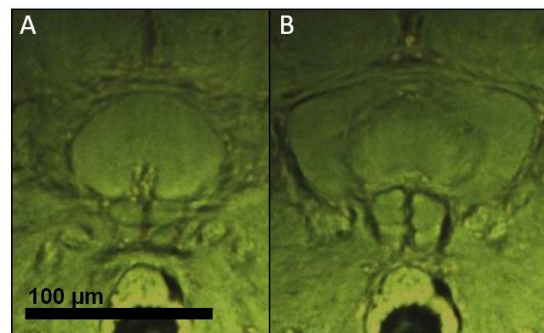


Abb. 58. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 40. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

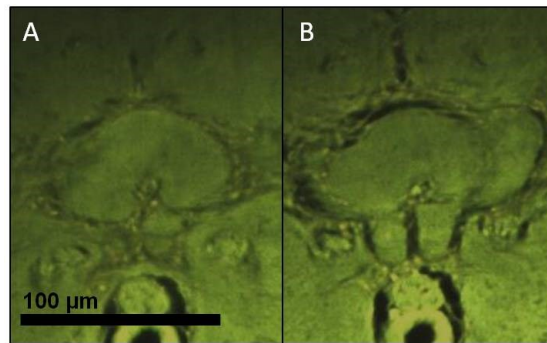


Abb. 59. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 40. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

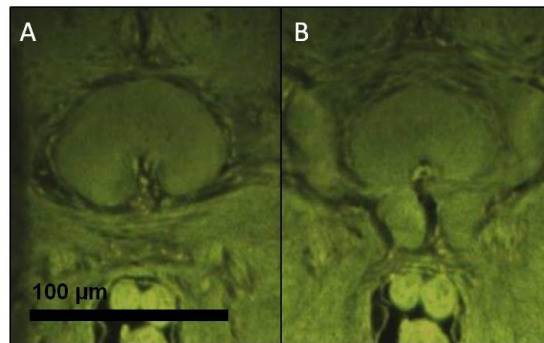


Abb. 60. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 40. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

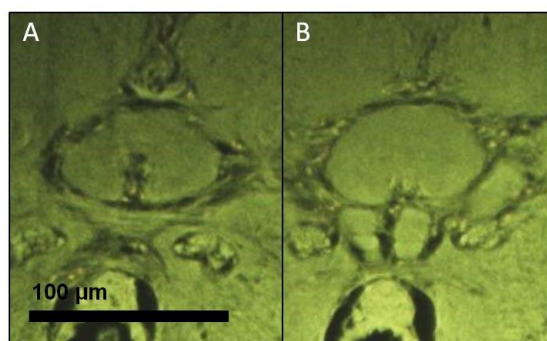


Abb. 61. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 40. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

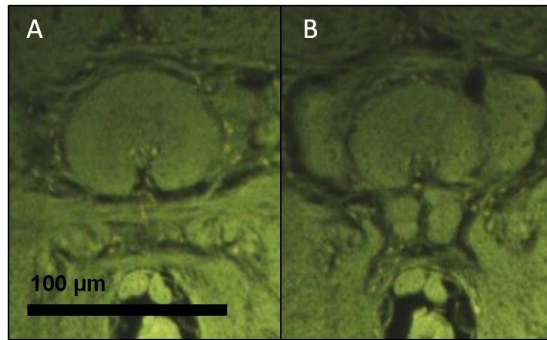


Abb. 62. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 177. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

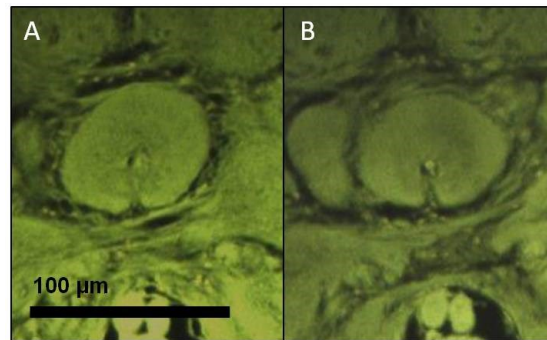


Abb. 63. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 177. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.

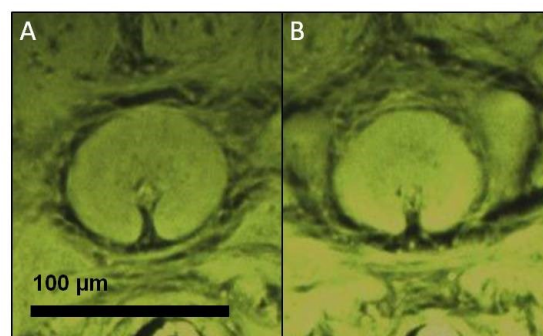


Abb. 64. Gehirnschnittpräparat $ebo^{678}UAS-SD3282^{23}/Y;UAS-3282^{M7}/CyO$. Histologische Paraffinschnittpräparate, aufgrund der Eigenfluoreszenz erscheinen die Neuropile des Gehirns grün. Aufsicht auf Frontalschnitte von anterior A nach posterior B. Objektträger 177. Der Ellipsoidkörper ist ventral geöffnet.