



„Ein räumliches Orientierungsgedächtnis im Zentralkomplex von  
*Drosophila melanogaster*  
und  
die spezifische Rolle von *ellipsoid-body-open*“

Dissertation zur Erlangung des  
naturwissenschaftlichen Doktorgrades des Fachbereichs Biologie der  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von Julia Thran  
geboren in Achim / Verden  
Mainz im Februar 2013

„Daß man sich verliert, ist noch nicht schlimm,  
sondern daß man sich hinterher nicht wieder zurechtfinden  
kann.“

(Marcel Proust)

---

# Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>INHALTSVERZEICHNIS .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1. EINLEITUNG .....</b>   | <b>4</b>  |
| 1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> als Versuchsorganismus .....   | 4         |
| 1.2. Methoden der Genmanipulation bei <i>Drosophila</i> .....  | 4         |
| 1.3. Entwicklungsstadien von <i>Drosophila</i> .....   | 6         |
| 1.4. Anatomie des Gehirns von <i>Drosophila</i> .....  | 7         |
| 1.4.1. Strukturelle Komponenten und Funktionen des Zentralkomplexes .....                                      | 8         |
| 1.4.1.1. Die Protocerebralbrücke .....   | 8         |
| 1.4.1.2. Der fächerförmige Körper .....  | 9         |
| 1.4.1.3. Der Ellipsoidkörper .....   | 9         |
| 1.4.1.4. Die Noduli .....  | 10        |
| 1.4.2. Strukturelle Komponenten und Funktionen der Pilzkörper .....  | 10        |
| 1.4.3. Die Antennalloben .....   | 11        |
| 1.5. Visuelle Orientierung und Laufverhalten bei <i>Drosophila</i> .....                                       | 11        |
| 1.6. Molekulare Mechanismen für Lernen und Gedächtnis .....  | 12        |
| 1.6.1. Lernmutanten bei <i>Drosophila</i> .....  | 13        |
| 1.7. Das Gen <i>ellipsoid-body-open (ebo)</i> .....  | 14        |
| 1.8. Das Gen <i>gurkenflieger<sup>C31</sup></i> .....  | 15        |
| 1.9. Zielsetzung .....   | 16        |
| <b>2. MATERIAL UND METHODE .....</b>   | <b>17</b> |
| 2.1. Fliegenhaltung .....  | 17        |
| 2.2. Verwendete Stämme .....   | 17        |
| 2.3. Verhaltensexperimente .....   | 19        |
| 2.3.1. Buridan'sches Paradigma .....   | 19        |
| 2.3.2. Detour-Paradigma .....  | 21        |
| 2.3.3. Schnelle Phototaxis .....   | 23        |
| 2.4. Histologie .....  | 23        |
| 2.4.1. Autofluoreszenz-Paraffinschnitte .....  | 24        |
| 2.4.2. Immunhistochemische Paraffinschnitte .....  | 25        |
| 2.4.3. Speicheldrüsenpräparation an <i>Drosophila</i> -Larven .....  | 25        |
| 2.4.4. Präparation und immunhistochemische Färbung von Ganzpräparaten adulter <i>Drosophila</i> -Gehirne ..... | 26        |
| 2.4.5. Antikörper und deren Konzentrationen sowie Standardlösungen .....                                       | 27        |
| 2.5. Statistik .....   | 27        |
| <b>3. ERGEBNISSE .....</b>   | <b>29</b> |

|  |            |
|--|------------|
| <b>3.1. Die Gehirnstrukturmutante <i>gurkenflieger</i><sup>C31</sup></b> .....                                 | <b>29</b>  |
| 3.1.1. Verhalten im Buridan`schen Paradigma .....  | 29         |
| 3.1.1.1. Laufverhaltensanalyse und Rettungsversuche im <i>grf</i> <sup>C31</sup> -mutanten Hintergrund .....   | 29         |
| 3.1.2. Ergebnisse des Detour-Paradigmas .....  | 37         |
| 3.1.2.1. Orientierungsgedächtnis und Rettungsversuche im <i>grf</i> <sup>C31</sup> -mutanten Hintergrund ..... | 37         |
| 3.1.3. Histologie .....  | 41         |
| 3.1. 4. Flügelphänotyp .....   | 42         |
| <b>3.1. Das Gen <i>ellipsoid-body-open</i></b> .....   | <b>43</b>  |
| 3.1.1. Ergebnisse des Buridan`schen Paradigmas .....   | 43         |
| 3.1.2. Mit dem Detour-Paradigma erzielte Ergebnisse .....  | 58         |
| 3.1.3. Schnelle Phototaxis .....   | 76         |
| 3.1.4. Genetische Interaktion .....  | 79         |
| 3.1.5. Präparation von Speicheldrüsen bei <i>ebo</i> -mutanten-Tieren .....                                    | 83         |
| 3.1.6. Mit Aktin im Zusammenhang stehende Transkriptionsfaktoren .....   | 85         |
| 3.1.7. Histologie zu allen durchgeführten Experimenten .....   | 90         |
| <b>4. DISKUSSION</b> .....   | <b>97</b>  |
| <b>4.1. <i>gurkenflieger</i><sup>C31</sup></b> .....   | <b>97</b>  |
| 4.1.1. Buridan`sches Paradigma .....   | 97         |
| 4.1.2. Detour-Paradigma .....  | 99         |
| 4.1.3. Flügelphänotyp .....  | 99         |
| 4.1.4. Resümee der <i>gurkenflieger</i> <sup>C31</sup> -Ergebnisse .....                                       | 100        |
| <b>4.2. <i>ellipsoid-body-open</i></b> .....   | <b>101</b> |
| 4.2.1. Buridan`sches Paradigma .....   | 101        |
| 4.2.2. Schnelle Phototaxis .....   | 103        |
| 4.2.3. Detour-Paradigma .....  | 103        |
| 4.2.4. Genetische Interaktion .....  | 105        |
| 4.2.5. Präparation von Speicheldrüsen sowie Gehirnen bei <i>ebo</i> -mutanten-Tieren .....                     | 107        |
| 4.2.6. Detour-Analyse von <i>blistered</i> - und <i>Mrtf</i> -Mutanten .....                                   | 107        |
| <b>5. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....  | <b>110</b> |
| <b>6. SUMMARY</b> .....  | <b>111</b> |
| <b>7. LITERATURVERZEICHNIS</b> .....   | <b>112</b> |
| <b>8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....  | <b>126</b> |
| <b>9. TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....  | <b>129</b> |
| Einleitung .....   | 129        |
| Ergebnisse .....   | 130        |
| Diskussion .....   | 133        |
| Anhang .....   | 133        |
| <b>10. ANHANG</b> .....  | <b>I</b>   |
| <b>10.1. FMRFamid-Rezeptormutanten im Buridan`schen Paradigma</b> .....  | <b>I</b>   |
| <b>10.2. Photos der im Detour Paradigma getesteten <i>bs</i>- und <i>Mrtf</i>-Mutanten</b> .....               | <b>II</b>  |

---

**10.3. Statistische Angaben ..... IV**

---

## 1. Einleitung

### 1.1. *Drosophila melanogaster* als Versuchsorganismus

Das mit einer durchschnittlichen Körperlänge von ca. 2,5mm relativ kleine Fluginsekt *Drosophila melanogaster* dient bereits seit 1910 als Versuchsobjekt für genetische Experimente (KÖHLER, 1994). Seit im Jahr 2000 das Genom von *Drosophila* vollständig sequenziert wurde (ADAMS et al., 2000), sind die methodischen Möglichkeiten in der entwicklungsbiologischen sowie neurogenetischen Forschung erweitert worden. Neurogenetik beschäftigt sich en Detail mit der Funktionsweise zeitlicher und räumlicher neuronaler Aktivitäten, den dieser zugrunde liegenden genetischen Abläufen und den daraus resultierenden Auswirkungen auf das regulierte Verhalten (KITAMOTO, 2001).

Zwar besteht keine anatomische Homologie zwischen Fruchtfliegen und Menschen, jedoch ähneln viele entwicklungsbiologische und zelluläre Prozesse der Tauffliege denen des Menschen (ADAMS et al., 2000). Zudem bietet *Drosophila* als Modellorganismus noch weitere Vorteile im Vergleich zu anderen Versuchstieren, die nicht nur in der extrem kurzen Generationszeit oder den geringen Haltungskosten zu finden sind. Fruchtfliegen zeigen außerdem ein äußerst vielfältiges Repertoire an Verhaltensweisen (BENZER, 1967), so dass z. B. durch gezielte Mutationen einzelner Gene deren verhaltensmodifizierende Wirkung in *Drosophila* untersucht werden kann. Hierzu gibt es bereits zahlreiche Verhaltensexperimente, die beispielsweise Balzabläufe, Aggressionsverhalten, Lokomotion, Orientierung, Gedächtnisbildung und Lernen untersuchen (HEISENBERG et al., 1985; HALL, 1994; STRAUSS & PICHLER, 1998; UEDA & KIDOKORO, 2000; CHEN et al., 2002; STRAUSS, 2002). Da viele Gene von *Drosophila* auch als Orthologe bei Säugetieren exprimiert werden, können, zumindest begrenzt, Rückschlüsse auf den Zusammenhang zwischen Genen, neuronalen Prozessen und Verhalten bei einigen Säugern gezogen werden (KANDEL et al., 1996).

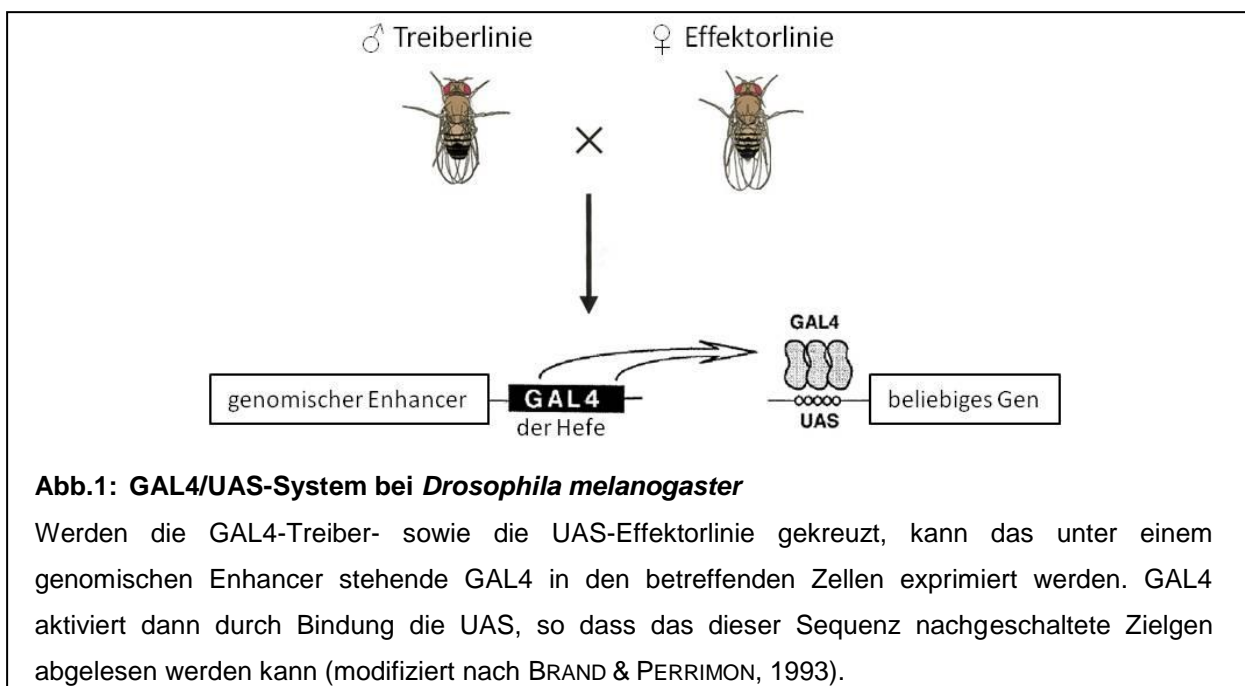
### 1.2. Methoden der Genmanipulation bei *Drosophila*

Die bereits erwähnte Möglichkeit von Genmanipulation bei *Drosophila* kann durch verschiedene Methoden der modernen Genetik erfolgen. Besonders das GAL4/UAS-System, die Tetanus-Toxin-Light-Chain (TeTxLC)-Methode, Heat-Shock-Systeme sowie

die RNA-Interferenz (RNAi) ermöglichen auf elegante Art und Weise einen gezielten Eingriff in molekulare Vorgänge bei Fruchtfliegen.

Mittels des binären GAL4/UAS-Systems kann ein beliebiges Gen ektopisch in einem spezifischen Bereich exprimiert werden (BRAND & PERRIMON, 1993). So wird es u.a. durch die gezielte Expression von Farbstoffen wie z.B. Green Fluorescent Protein (GFP) möglich, spezielle Neurone histologisch zu visualisieren (YEH et al., 1995; DUFFY, 2002). Bei dieser Methode bedient man sich des Transkriptionsfaktors GAL4 sowie dessen Bindungsstelle, der Upstream Activating Sequence (UAS), welche beide ursprünglich aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* isoliert wurden. Von diesen zwei Komponenten wird durch P-Element-Insertion jeweils eine Komponente in das Genom einer transgenen Fliegenlinie eingebracht, so dass es schließlich eine GAL4-Treiberlinie sowie eine UAS-Effektorlinie gibt, bei der sich hinter der UAS das jeweilige Zielgen befindet. Beide Linien bleiben für sich alleine bezüglich des Zielgens wirkungslos. Erst durch die Kreuzung beider Linien kann das exprimierte Protein GAL4 an die regulatorische Einheit UAS binden, wodurch schließlich das Zielgen abgelesen wird (Abb.1). Da GAL4-Treiberlinien bezüglich ihres zeitlichen sowie räumlichen Expressionsmusters zum Teil sehr spezifisch sind, eignen sie sich unter Umständen hervorragend für spezielle Fragestellungen (DAHMAN, 2008).

Auf diese Art ist es möglich, dass nur, wenn sich beide Konstrukte in einer Zelle befinden, die selektive Expression des jeweiligen Zielgens erfolgt, wobei das Expressionsmuster durch die GAL4-Linie bestimmt wird.



Bei der TeTxLC-Methode wird die synaptische Ausschüttung des Vesikelproteins Synaptobrevin verhindert. Hierfür wird das Gen für Tetanus-Toxin gezielt in bestimmten neuronalen Bereichen exprimiert, wodurch ausschließlich die Spaltung von Synaptobrevin und keine weitere Entwicklungsbeeinträchtigungen erfolgen. Indem also die neuronale Kommunikation bestimmter Bereiche ausgeschaltet wurde, kann in Verhaltensexperimenten ein eventueller Verhaltensdefekt der Fliegen untersucht und erklärt werden (SWEENEY et al., 1995).

Heat-Shock-Systeme ermöglichen räumlich und zeitlich definierte Expressionen von Zielgenen, da diese Technik auf Temperaturabhängigkeit basiert (MCGUIRE et al., 2003). So liegt z.B. das hitzesensitive GAL80<sup>ts</sup> bei 18°C in seiner inaktiven Form vor und bindet daher an die Transaktivierungsdomäne von GAL4. Dadurch kann GAL4 nicht mehr exprimiert werden, wodurch wiederum keine Transkription des Zielgens erfolgt. Bei 29°C hingegen wird GAL80<sup>ts</sup> aktiviert und diffundiert von GAL4 ab, so dass das nun exprimierte Protein GAL4 an die UAS binden kann (DAHMAN, 2008).

Die RNA-Interferenz stellt in der Neurogenetik ebenfalls ein sehr wichtiges Werkzeug dar, um molekulare Vorgänge mit Verhaltensabläufen in Verbindung zu bringen. Diese Methode beruht auf der spezifischen Unterbrechung der Proteinbiosynthese, wofür natürlich vorkommende zelleigene Mechanismen benutzt werden. Die RNAi beginnt in Anwesenheit von doppelsträngigen RNA-Molekülen (dsRNA). Bei *Drosophila* spaltet das Enzym Dicer die dsRNA in kurze doppelsträngige RNA-Fragmente, die nur 21 bis 22 Basenpaare lang sind, so dass small-interfering-RNA (siRNA)-Moleküle entstehen. Anschließend wird ein Einzelstrang der siRNA in den so genannten RNA-induced-silencing-complex (RISC) aufgenommen, wo der Einzelstrang an einen zum Leitstrang komplementären mRNA-Bereich bindet und schließlich die Zerschneidung der Ziel-mRNA erfolgt (FIRE et al., 1998; DAHMANN, 2008). Somit kann die Proteintranslation des jeweiligen Zielgens dadurch gestoppt werden, dass künstlich hergestellte dsRNA-Moleküle, die eine komplementäre Sequenz des betreffenden Gens aufweisen, in bestimmte Zellen hinzugefügt werden.

### **1.3. Entwicklungsstadien von *Drosophila***

Der Lebenszyklus von Fruchtfliegen gliedert sich in sieben verschiedene Abschnitte. Angefangen als Embryo geht die Entwicklung über ein erstes, zweites und drittes Larvalstadium in die Präpupalphase über, nach der sich die Larve verpuppt, bis sie



schließlich zum Imago herangewachsen ist. Diese Entwicklungszyklen benötigen je nach Temperatur unterschiedliche lange Zeiträume. So dauert die Entwicklung vom Embryo zum Imago bei 25 °C zehn bis zwölf Tage, bei 18 °C hingegen ca. 20 bis 22 Tage. Bei 25 °C benötigt die Embryogenese etwa einen Tag, ebenso verhält es sich bei dem ersten und zweiten Larvenstadium. Das dritte Larvenstadium hingegen dauert ca. zwei bis drei Tage und die Präpupal- sowie die Pupalphase dauern insgesamt fünf bis sechs Tage (<http://flymove.uni-muenster.de/22.12.2011;12:19h>). Bereits ab dem späten Embryonalstadium findet sich bei *Drosophila* eine Miniaturform des Pilzkörper-Neuropils, einer Gehirinstruktur, die in verschiedene Formen von Lernen und Gedächtnis eingebunden ist (s. 1.4.2.) (BOQUET et al., 2000). Relativ spät in der Entwicklung, genauer gegen Ende des dritten Larvenstadiums bzw. zu Beginn der Verpuppung differenziert sich der Zentralkomplex aus der larvalen Interhemisphärenkommissur (s. 1.4.1.) (HANESCH, 1987; YOUNG & ARMSTRONG, 2010a).

#### **1.4. Anatomie des Gehirns von *Drosophila***

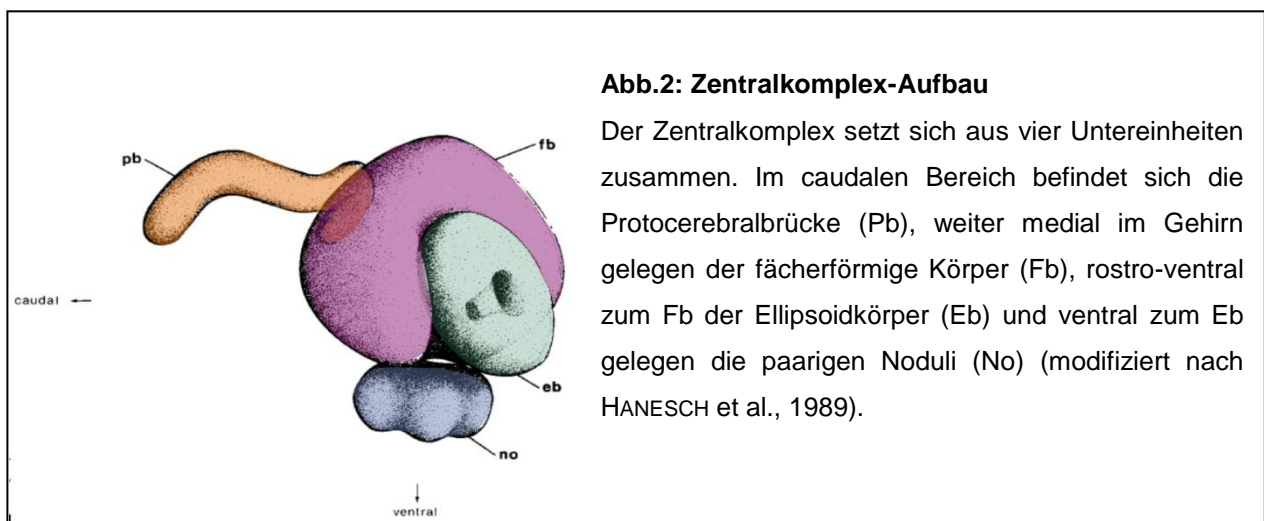
Man bezeichnet das ca. 200.000 Neurone umfassende Fruchtfliegengehirn als Oberschlundganglion und dieses besteht aus verschiedenen Unterstrukturen. Zu letzteren zählen das Protocerebrum, Deutocerebrum und Tritocerebrum. Das Protocerebrum ist eine Ansammlung einzelner miteinander in Verbindung stehender Neuropile. Zu ihnen gehören u. a. die optischen Loben, welche mit etwa 140.000 Neuronen das größte Neuropil ausmachen, die Pilzkörper und der Zentralkomplex. Das Deutocerebrum umfasst die Antennal-Loben sowie das Antenno-mechanosensorische und motorische Zentrum (AMMC) (FISCHER, 2003). Die Funktionen des Tritocerebrums stehen im Zusammenhang mit Geschmackswahrnehmung sowie der Mundwerkzeug-Kontrolle (RAJASHEKHAR & SINGH, 1994).

Der Zentralkomplex sowie die Pilzkörper sind essentiell, um Lernvorgänge und koordinierte Verhaltensweisen auszubilden (WESSNITZER & WEBB, 2006). Die Funktionen des gesamten Protocerebrums konnten bislang noch nicht ausreichend geklärt werden. Das laterale Deutocerebrum besteht aus mechanosensorischen Neuropilen und den Efferenzen der optischen Loben. Die optischen Loben ihrerseits setzen sich aus vier in Reihe angeordneten Neuropilen zusammen: der Lamina, der äußeren und inneren Medulla, der Lobula sowie der Lobulaplatte (FLYBRAIN, 2011).

### 1.4.1. Strukturelle Komponenten und Funktionen des Zentralkomplexes

In der Mitte des Fruchtfliegengehirns ist der Zentralkomplex zu finden, welcher sich aus vier untereinander verschalteten Neuropilen zusammensetzt. Diese Verschaltungen erfolgen über kolumnare Interneurone und gewährleisten eine Informationsweiterleitung zwischen der Protocerebralbrücke, dem fächerförmigen Körper, dem Ellipsoidkörper und den paarigen Noduli (Abb.2) (HANESCH et al., 1989). Großfeldneurone vermitteln den einzelnen Zentralkomplex-Komponenten Informationen aus weiteren protocerebralen Bereichen, wohingegen intrinsische Kleinfeldneurone hauptsächlich kleinere Untereinheiten der Zentralkomplex-Neuropile miteinander verbinden. Daher ist beispielsweise die Protocerebralbrücke in 16 Glomeruli unterteilt (RENN et al., 1999).

Die Funktionen des Zentralkomplexes umfassen einen vielfältigen Bereich, da jede Untereinheit für spezielle Aufgaben zuständig ist. Demnach wird er bezüglich der lokomotorischen Aktivitätskontrolle mit dem Informationsaustausch zwischen beiden Gehirnhemisphären in Verbindung gebracht (HANESCH et al., 1989; STRAUSS, 2002). Außerdem ist er für die visuelle Orientierung, dem visuellen Lernen sowie der Ausbildung eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses zuständig (LIU et al., 2006; NEUSER et al., 2008; POECK et al., 2008).



#### 1.4.1.1. Die Protocerebralbrücke

Im caudalen Bereich des Gehirns und zwischen den Calices der Pilzkörper befindet sich die Protocerebralbrücke. Sie besteht aus 16 einzelnen untereinander verbundenen Glomeruli, von denen jeweils acht in einer der zwei Hemisphären positioniert sind.

---

Damit dient die Protocerebralbrücke als Verbindung beider Hirnhälften und gilt als Struktur der meisten kolumnaren Informationseingänge. Mutationen, die dazu führen, dass die Brücke unterbrochen ist, beeinträchtigen ebenfalls die lokomotorische Kontrolle. Fliegen mit einer derartigen Störung können zwar das Laufverhalten initiieren, selbiges allerdings nicht aufrechterhalten. Zudem zeigen Fliegen mit durchbrochener Brücke ein unnatürliches Drehverhalten und können zum Teil nicht fliegen. Demnach liegt die Funktion der Protocerebralbrücke darin, Bewegungen zu koordinieren und zu regulieren (STRAUSS et al., 1992; MARTIN et al., 1999; STRAUSS, 2002).

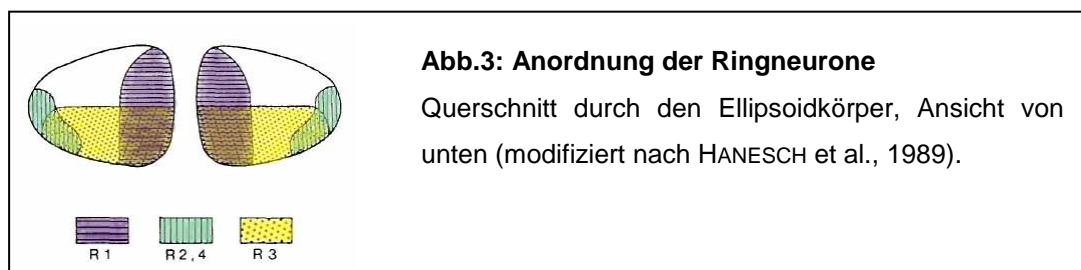
#### **1.4.1.2. Der fächerförmige Körper**

Der fächerförmige Körper liegt ventro-rostral zur Protocerebralbrücke und befindet sich damit relativ mittig im Gehirn. Die Funktion dieses Neuropils betrifft einerseits das visuelle Mustergedächtnis, also das Erlernen von Objekteigenschaften, z.B. der Form oder der Höhe einer Landmarke (LIU et al., 2006; WANG ET AL., 2008; PAN ET AL., 2009). Andererseits zeigte sich durch Experimente mit einer Strukturmutantenlinie, die u.a. die Form des fächerförmigen Körpers beeinträchtigt, dass die Tiere während des Laufens kleine Drehungen durchführten (STRAUSS, 2002). Das lässt darauf schließen, dass der fächerförmige Körper auch für einen Rechts-Linksabgleich zwischen den Hemisphären zuständig ist.

#### **1.4.1.3. Der Ellipsoidkörper**

Diese Toroid-förmige Zentralkomplex-Untereinheit befindet sich relativ medial im Fliegengehirn und liegt ventro-rostral zum fächerförmigen Körper. In der Mitte dieser Struktur zeigt sich ein durchgängiger Kanal, durch den Axone zentral in den Ellipsoidkörper hinein ziehen und somit projizieren können. Der Ellipsoidkörper wird durch GABAerge Großfeldneurone, so genannte Ringneurone (R-Neurone), gebildet, welche je nach ihrer Position im Neuropil in die Untergruppen R1 bis R4 (R4m und R4d: medial und distal) eingeteilt werden (Abb.3) (TOMCHIK & DAVIS, 2008). So beschränken sich die R1-Neurone lediglich auf den inneren Bereich des Ellipsoidkörpers und ziehen von dem Mittelkanal in die innere Peripherie, wohingegen die R2-Neurone ebenfalls von innen nach außen verlaufen, allerdings bis in den Außenrand des Ellipsoidkörpers

hinein. Die R3-Untergruppe ist in der rostralen Region des Neuropils aufzufinden und R4-Neurone ziehen von außen in den inneren Bereich des Ellipsoidkörpers (HANESCH et al., 1989; RENN et al., 1999). Intrinsische Kleinfeldneurone wiederum unterteilen den Ellipsoidkörper in radiale Einheiten. Die Ringneurone des Ellipsoidkörpers sind unter anderem essentiell für die Ausbildung eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses (RENN et al., 1999; NEUSER et al., 2008). Des Weiteren sind NMDA-Rezeptoren in cholinergen R4m-Großfeldneuronen für die Konsolidierung eines olfaktorischen Langzeitgedächtnisses verantwortlich (WU et al., 2007). Es wurde außerdem mittels Flugsimulator-Experimenten gezeigt, dass die Ringneurongruppen R2 und R4m im visuellen Mustergedächtnis eine wichtige Rolle spielen (WANG et al., 2008; PAN et al., 2009).



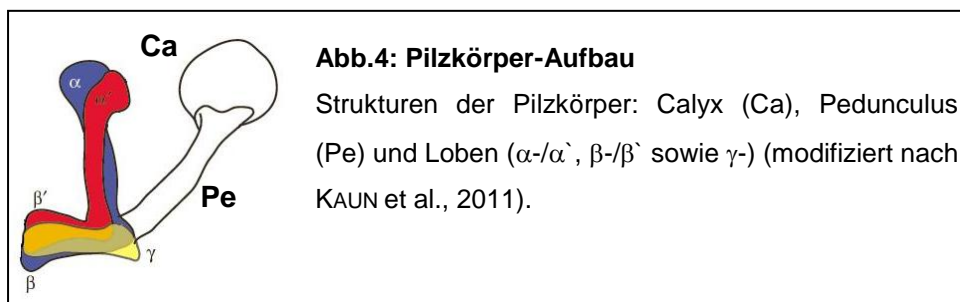
#### 1.4.1.4. Die Noduli

Ventral zum fächerförmigen und zum Ellipsoidkörper gelegen befinden sich die paarig angeordneten kugelförmigen Noduli. Sie bestehen aus konzentrischen Schichten und sind in einen dorsalen und ventralen Bereich unterteilt. Hinsichtlich seiner Funktion ist dieses kleinste Zentralkomplex-Neuropil noch nicht ausreichend erforscht und möglicherweise spezifisch für die Verfolgung bewegter Objekte (FLYBRAIN, 2011; BAUSENWEIN et al., 1994).

#### 1.4.2. Strukturelle Komponenten und Funktionen der Pilzkörper

Dieses paarige Neuropil nimmt einen großen Anteil am Gesamtvolumen des *Drosophila*-Gehirns ein. Die Pilzkörper bestehen aus jeweils ca. 2500 Neuronen, welche als Kenyon-Zellen bezeichnet werden (DE BELLE & HEISENBERG, 1994; ZARS et al., 2000). Außerdem können die Pilzkörper in weitere kleinere Strukturen unterteilt werden, in die runden Calices, die Pedunculi und die  $\alpha$ -/ $\alpha'$ ,  $\beta$ -/ $\beta'$  sowie  $\gamma$ -Loben.

Demnach ziehen sich die Eingänge (Dendriten) der Kenyon-Zellen durch die Calices, ihre Ausgänge (Axone) verlaufen durch die Pedunculi und spalten sich schließlich in die verschiedenen Loben auf (Abb.4) (HEISENBERG et al., 1985). Die Funktionen der Pilzkörper bestehen im olfaktorischen Lernen, der Gedächtnisbildung sowie der Kontrolle spontaner Laufaktivitäten (ITO et al., 1998; ZARS et al., 2000). Zudem spielen die Pilzkörper eine wichtige Rolle im Balz- und Entscheidungsverhalten (HALL, 1979; TANG & GUO, 2001), sowie in der Regulation des Schalfs (GUO et al., 2011).



### 1.4.3. Die Antennalloben

Durch den Antennalnerv projizieren olfaktorische Rezeptorneurone (ORN) in die ebenfalls paarig angeordneten Antennalloben. Diese stellen damit die primären Verarbeitungszentren olfaktorischer Informationen dar (STÖCKER et al., 1990) und bestehen aus 43 verschiedenen Glomeruli, die via Projektions- und lokale Interneurone miteinander verschaltet sind. Die vorverarbeiteten olfaktorischen Informationen werden anschließend über Projektionsneurone in übergeordnete Hirnregionen, wie die Calices der Pilzkörper und das laterale Horn, weitergeleitet (JEFFERIS et al., 2002).

## 1.5. Visuelle Orientierung und Laufverhalten bei *Drosophila*

Adulte Fliegen verwenden raffinierte Mechanismen zur Orientierung in ihrer Umgebung (SCHÖNE, 1983). Das zeigt sich nicht nur in Versuchen mit Flugsimulatoren, mittels derer nachgewiesen wurde, dass *Drosophila* verschiedene Muster erkennt und diese Bilder in spezifischen visuellen Regionen abspeichert (DILL et al., 1993), sondern auch dadurch, dass die Fruchtfliege in der Lage ist optomotorische Folgeaktionen durchzuführen, d.h., visuelle Drehreize wahrzunehmen und selbige durch das eigene Mitdrehen zu kompensieren (STRAUSS et al., 1997). Außerdem vermögen Fliegen ein räumliches Orientierungsgedächtnis auszubilden (NEUSER et al., 2008). Letzteres

erreicht sie mittels Pfadintegration, bei welchem der Winkel der Fliege zum jeweiligen Objekt gespeichert und wieder abgerufen wird. Das Phänomen der Orientierung durch Pfadintegration konnte bereits an Bienen sowie Ameisen erläutert werden (MÜLLER & WEHNER, 1987). Des Weiteren verhält es sich bei Fruchtfliegen so, dass sie diejenigen Landmarken bevorzugt anlaufen, welche sich näher beim Tier befinden (SCHUSTER et al., 2002; MRONZ, 2004). Wildtypische Fliegen laufen hauptsächlich im tripodalen Gang, was bedeutet, dass das Vorder- und Hinterbein der einen Körperseite gleichzeitig mit dem Mittelbein der anderen Körperseite in die Laufrichtung schwingen.

## 1.6. Molekulare Mechanismen für Lernen und Gedächtnis

Fruchtfliegen sind in der Lage, zu lernen und für unterschiedliche Aufgaben ein Gedächtnis zu entwickeln. Diese Fähigkeit ist bei *Drosophila* derart komplex ausgebildet, dass männliche Fliegen z.B. ihr Balzverhalten reduzieren, wenn sie zuvor mit einem verpaarten Weibchen in eine Kammer positioniert und durch Tritte selbigen Weibchens zurückgewiesen wurden (WADDELL & QUINN, 2001a; SIEGEL & HALL, 1979). Des Weiteren können Fliegen durch operante Konditionierung lernen, bestimmte Düfte mit Bestrafungsreizen zu assoziieren und letztere zu meiden (TULLY et al., 1994). Mittels selbiger Experimente konnten TULLY et al. weiterhin ein mindestens sieben Tage andauerndes Langzeitgedächtnis nachweisen. Bei *Drosophila* können außerdem ein über vier Tage vorhandenes und kälteresistentes Gedächtnis, ein Kurzzeitgedächtnis von zwei Stunden und ein Mittelzeitgedächtnis, das etwa fünf Stunden andauert, nachgewiesen werden (TULLY et al., 1994). Operantes Lernen wurde an *Drosophila* ebenfalls von PUTZ & HEISENBERG (2002) gezeigt, welche einzelne Fruchtfliegen in einer „Hitze-Box“ zwei unterschiedlich temperierten Seiten aussetzten. Betrat die Fliege eine zuvor festgelegte Seite der Kammer, so wurde sie mit einem für sie unangenehmen Hitzestimulus bestraft. Dadurch lernten die Tiere, die bestrafte Seite zu vermeiden. Weiterhin können Fruchtfliegen durch Zuckerbelohnung klassisch auf einen Duft konditioniert werden (HEISENBERG et al., 1985).

Zur Gedächtnisausbildung sind persistente synaptische Umgestaltungen essentiell, denen umfangreiche molekulare Vorgänge zu Grunde liegen. Für *Drosophila* wurden diese Vorgänge am Beispiel des olfaktorischen Vermeidungslernens in Pilzkörperneuronen durch die gleichzeitige Gabe eines Duftreizes und eines Elektroschocks von WADDELL & QUINN (2001b) beschrieben. Dieses assoziative Lernen

wird über die cAMP-Signaltransduktionskaskade vermittelt. Einerseits gelangt eine olfaktorische Information über Interneurone des Antennoglomerulartrakts (AGT) zu Neuronen der Pilzkörper-Calices. Andererseits sind die Axon-Terminalen der Pilzkörper durch modulatorische DPM (dorsal-paired-medial)-Neurone innerviert, welche bei Auftreten eines Elektroschocks die sensorischen Informationen dieser Schocks erhalten und daher das Neuropeptid AMN ausschütten. Daraufhin bindet ein AMN-Rezeptor-gekoppeltes G-Protein an die zweifach regulierte Adenylatcyclase, welche für die cAMP-Synthese verantwortlich ist. Bindet an dieses Enzym außerdem noch Calcium-Calmodulin, was durch die Aktivität des Neurons auf den Dufteingang hin aktiviert wird, befindet sich auch die Adenylatcyclase in ihrem aktiven Zustand. Dadurch wird überdurchschnittlich viel ATP in cAMP umgewandelt, was wiederum zur Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) führt. Die PKA zerfällt in ihre katalytischen Untereinheiten und kann somit Substrate phosphorylieren, zu denen auch Transkriptionsfaktoren wie das cAMP response-element binding protein (CREB) zählen. CREB sorgt im phosphorylierten Zustand für synaptische Veränderungen, welche schließlich zum Aufbau eines Langzeitgedächtnisses führen (WADDELL & QUINN, 2001a; WADDELL & QUINN, 2001b).

### 1.6.1. Lernmutanten bei *Drosophila*

Es gibt mehrere Lernmutantenstämme, die den cAMP-Signalweg betreffen, von denen im Folgenden zwei Linien näher beschrieben werden, *rutabaga*<sup>1</sup> (*rut*<sup>1</sup>) und *dunce*<sup>1</sup> (*dnc*<sup>1</sup>). Das Gen *rutabaga* codiert für die Ca<sup>2+</sup>-Calmodulin sensitive Adenylatcyclase, welche die cAMP-Synthese vermittelt (LEVIN, 1992; WADDELL & QUINN, 2001a). Mutationen im Gen *rut* verhindern die assoziative Gedächtnisbildung. Entgegen der naheliegenden Vermutung ist bei der *rut*<sup>1</sup>-Mutante die basale cAMP-Konzentration nicht reduziert, weshalb die Funktion von *rut* in der Regulation und nicht in der Aufrechterhaltung der cAMP-Menge liegt (DAVIS, 1993). Des Weiteren scheint *rut* eine Rolle bezüglich der Pilzkörperentwicklung zu spielen, da MCGUIRE et al. 2003 von einem strukturellen Defekt in der Pilzkörperplastizität sowie einer Volumenreduktion der Dendriten berichteten.

Auch *dnc*<sup>1</sup>-Fliegen haben Defekte im assoziativen Lernen. Erstmals beschrieben DUDAI et al. 1976 diese Mutanten, indem sie ein olfaktorisches Lernexperiment durchführten, bei dem Elektroschocks und Gerüche kombiniert wurden. Wildtypische Fliegen zeigten

ein Vermeidungsverhalten gegenüber bestrafte Düften, *dnc*<sup>1</sup> hingegen nicht. Allerdings wurde 1993 von DAVIS gezeigt, dass dieses anormale Verhalten nicht darauf beruht, dass *dnc*<sup>1</sup> nicht lernen kann, sondern darauf, dass ihr Gedächtnis extrem schnell wieder zerfällt. Das Gen *dnc* codiert für die cAMP-Phosphodiesterase, welche für den Umbau von cAMP in 5'AMP verantwortlich ist und damit einen Gegenspieler zur Proteinfunktion der Adenylylcyclase darstellt, so dass in *dnc*<sup>1</sup>-Fliegen die Menge an cAMP stark erhöht ist (DAVIS & KIGER, 1981). Eine besonders hohe Konzentration der Phosphodiesterase findet sich in den Pilzkörpern, die u.a. für olfaktorisches Lernen zuständig sind (NIGHORN et al., 1991).

Eine weitere wichtige Lernmutantenlinie, die allerdings nicht den cAMP-Signalweg beeinträchtigt, ist *ignorant* (*ign*). Dieses Gen codiert für die Protein Kinase S6KII, welche mit MAP-Kinasen interagiert und in den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers essentiell ist, um ein räumliches Orientierungsgedächtnis auszubilden (KIM et al., 2006; NEUSER et al., 2008). *ign* unterscheidet sich in seinen Auswirkungen auf das Lernen in Abhängigkeit der jeweilig betroffenen Allele. So zeigt beispielsweise die Nullmutante *ign*<sup>58/1</sup> keine Defizienzen im operanten Lernen, verhält sich bei der klassischen Konditionierung allerdings nicht wildtypisch (PUTZ et al., 2004), wohingegen die Mutantenlinie *ign*<sup>P1</sup>, welche einer P-Element-Insertion unterliegt, einen Defekt in der operanten Konditionierung hat, aber klassisch konditionierbar ist (BREMBS, 2003).

### 1.7. Das Gen *ellipsoid-body-open* (*ebo*)

Das Gen *ellipsoid-body-open* (*ebo*) ist X-chromosomal rezessiv, befindet sich in der Region 1B4 nahe am Telomer des Chromosoms und codiert für das Protein Exportin6 (Exp6) (pers. Korrespondenz POECK, 2009), einen Transportrezeptor, der für den nukleären Export von Aktin-Profilin-Komplexen in höheren Eukaryoten zuständig ist. Hauptsächlich interagiert Exp6 mit G-Aktin, d.h. mit Aktinmonomeren, wobei Profilin als Verstärker der Exp6-Aktivität wirkt (STÜVEN et al., 2003). Es sind verschiedene Allele der *ebo*-Mutation bekannt, darunter befinden sich *ebo*<sup>1041</sup>, *ebo*<sup>678</sup>, *ebo*<sup>KS263</sup> (STRAUSS & HEISENBERG, 1993) sowie die durch P-Element-Insertion entstandene Mutation *ebo*<sup>EY</sup> (pers. Komm. POECK, 2009). Bei *ebo* sind sowohl strukturelle Defekte als auch Verhaltensdefizite bekannt. Die Störung in der Anatomie betrifft den Ellipsoidkörper und den fächerförmigen Körper, wobei die Stärke der Missbildungen unter den verschiedenen Allelen variiert. So zeigt *ebo*<sup>1041</sup> sowohl eine mediale Spaltung des



Ellipsoid- als auch des fächerförmigen Körpers, demnach eine starke Ausprägung, *ebo*<sup>KS263</sup> hingegen häufig nur eine ventrale Öffnung des Ellipsoidkörpers (STRAUSS & HEISENBERG, 1993). *ebo*<sup>678</sup> und *ebo*<sup>EY</sup> ähneln sich in ihrem Strukturdefekt, beide Allele zeigen einen gespaltenen fächerförmigen Körper sowie einen nierenförmig deformierten Ellipsoidkörper, welcher allerdings auch vollständig geteilt sein kann.

Die Verhaltensdefizite von *ebo* sind ebenfalls vielfältig. Im Buridan'schen Paradigma konnte nachgewiesen werden, dass *ebo*<sup>KS263</sup> einen signifikanten Abfall bezüglich der Laufaktivität über die Experimentdauer betrachtet zeigt. Des Weiteren sind bei *ebo*<sup>KS263</sup>, *ebo*<sup>678</sup> und *ebo*<sup>1041</sup> die horizontale Laufgeschwindigkeit sowie die Geschwindigkeit in der negativen Geotaxis im Vergleich zu den wildtypischen Vergleichsstämmen verringert (STRAUSS & HEISENBERG, 1993). Eine weitere wichtige Verhaltensanomalie zeigt *ebo* im Detour-Paradigma, denn *ebo*-defekte Tiere sind nicht in der Lage, ein Orientierungsgedächtnis auszubilden (NEUSER et al., 2008). Auch die schnelle Phototaxis ist bei dieser Zentralkomplexmutante beeinträchtigt (STRAUSS & HEISENBERG, 1993) und es bestehen mehrere Phänotypen in der Kontrolle des Flugverhaltens. Letztere betreffen beispielsweise die optomotorische Antwort. *ebo*-defekte Tiere benötigen mehr Zeit zum Wenden als wildtypische Fliegen, wenn die gestreifte Trommel, in die die Fliege aufgehängt wurde, ihre Rotationsrichtung ändert. Außerdem ist die Dauer der Fixierung einer einzelnen Landmarke bei *ebo* erniedrigt und die Tiere fliegen teilweise sogar von diesen weg, was Antifixation genannt wird (ILIUS et al., 1994).

### 1.8. Das Gen *gurkenflieger*<sup>C31</sup>

Der Zentralkomplex-Mutantenstamm *grf*<sup>C31</sup> wurde in einem Screen für langsam laufende Fliegen isoliert (STRAUSS, 1995; POECK et al., 2008). Er zeigt Einschnürungen an der Mittellinie des Ellipsoid- sowie des fächerförmigen Körpers. Die Einkerbung des fächerförmigen Körpers verläuft dorsal und die des Ellipsoidkörpers ventral. Zudem erscheinen die Noduli fragmentiert. Weitere Neuropile sind nicht betroffen (STRAUSS, 2002). *grf*<sup>C31</sup> weist zusätzlich zur Gehirnanatomie noch einen weiteren deutlich sichtbaren Phänotyp auf. Die *grf*<sup>C31</sup>-defekten Tiere strecken ihre Flügel seitwärts aus, was ihnen den offiziellen Namen für das Gen *gurkenflieger* (*grf*) eingehandelt hat. Auch im adulten Verhalten sind Defizite vorhanden, diese betreffen das Laufverhalten. Fliegen im *grf*<sup>C31</sup>-mutanten Hintergrund sind deutlich langsamer und auch weniger

---

motiviert zu laufen als wildtypische Fliegen. Zudem bewegen sie sich oft in kleinen Kreisen, was dadurch bedingt ist, dass bei *grf<sup>C31</sup>* ungewollte Seitenasymmetrien während des Laufens nicht ausgeglichen werden können (STRAUSS, 2002). Des Weiteren weist *grf<sup>C31</sup>* kein Orientierungsgedächtnis auf.

### 1.9. Zielsetzung

Zwar ist bereits bekannt, dass das Gen *ign*, welches für die S6-Kinase II in den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers eine zentrale Rolle bezüglich des visuellen Orientierungsgedächtnisses bei *Drosophila* spielt (NEUSER et al., 2008), doch fehlen zur vollständigen Aufklärung der molekularen Vorgänge dieses wichtigen Verhaltens noch weitere Bausteine. Daher befasst sich die vorliegende Arbeit mit der Frage, ob bzw. welche Bedeutung den Genen *ebo* und *grf<sup>C31</sup>* im Zusammenhang mit den neuronalen Grundlagen eines Orientierungsgedächtnisses zugeschrieben werden können. Des Weiteren wird angestrebt, das Gen *ebo* generell molekular sowie funktionell zu charakterisieren.

Hierzu wurden vielfältige Rettungsversuche mittels des UAS/GAL4-Systems in einem *ebo*- bzw. *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund durchgeführt. Zudem wurden genetische Interaktionsstudien bezüglich des *ebo*-Gens durchgeführt. Die Tiere aus den jeweiligen Kreuzungen wurden in verschiedenen Lauf- respektive Orientierungsparadigmen getestet und ihre Gehirnstrukturen anschließend histologisch untersucht.

## 2. Material und Methode

### 2.1. Fliegenhaltung

Die Fliegenstämme wurden in durchsichtigen Polystyrolröhrchen mit einer Höhe von 80mm und einem Durchmesser von 35mm aufgezogen. Diese waren mittels luftdurchlässiger Stopfen verschlossen, die die Kontamination der Zuchtgläser durch Milben verhindern sollten. Alle Tiere wurden bei einem Hell-/Dunkelrhythmus von 14h/10h, einer Temperatur von 25°C, einer Luftfeuchtigkeit von 60% und auf Standardmedium, bestehend aus Maisgries, Bierhefe, Agar-Agar, Sojamehl, Zuckerrübensirup, Malzextrakt, Wasser und Nipagin, gehalten.

Für das Detour sowie das Buridan`sche Paradigma wurden den 3-5 Tage alten Versuchstieren am Vortag der Experimente die Flügel auf etwa ein Drittel ihrer ursprünglichen Länge gekürzt. Das erfolgte unter Kälteanästhesie bei 4° C mittels einer Iridektomieschere. Des Weiteren wurden, soweit nicht anders angegeben, aufgrund der Rezessivität der untersuchten Mutanten ausschließlich Männchen getestet. 30 bis 60 Minuten vor Versuchsbeginn wurden die Fliegen vom Futterbrei herunter in Gläser mit feuchtem Filterpapier umgesetzt, um ihre Bewegungsmotivation zu steigern.

### 2.2. Verwendete Stämme

Als Referenz für die getesteten Mutanten wurden entweder der Laborwildstamm Canton-Spezial (C-S), Wildtyp-Berlin (WT-B) oder Oregon-R (O-R) aus der Mainzer Stammsammlung verwendet. Alle verwendeten Mutationslinien werden in Tab.1 und Tab.2 zusammengefasst.

**Tab.1: Klassische Mutationslinien**

| Linie                            | Allel | Chr. | Referenz            | Herkunft         |
|----------------------------------|-------|------|---------------------|------------------|
| <i>blistered (sp bs)</i>         | 2     | III  | WADDINGTON, 1940    | Bloomington      |
| <i>chickadee (chic)</i>          | 1320  | II   | COOLEY et al., 1992 | Bloomington      |
| <i>ellipsoid body open (ebo)</i> | 678   | X    | ILIUS et al., 1994  | Poeck Uni. Mainz |

|  |        |     |                     |      |
|--|--------|-----|---------------------|------|
| <i>Ran Guanine nucleotide Exchange Factor (RanGEF)</i> | NP4610 | III | KUSANO et al., 2001 | DGRC |
|--|--------|-----|---------------------|------|

**Tab.2: Transgene Mutationslinien**

| Linie  | Allel      | Chr. | Referenz                | Herkunft    |
|--|------------|------|-------------------------|-------------|
| <i>Dromyosuppressin Receptor 2 (DmsR-2)</i>          | MB05984    | III  | HEWES & TAGHERT, 2001   | Bloomington |
| <i>slingshot (ssh)</i>                               | 1-63       | III  | NG & LUO, 2004          | Bloomington |
| <i>twinstar (tsr)</i>                                | N121       | II   | NG & LUO, 2004          | Bloomington |
| <i>Fmrf Receptor (FR)</i>                            | MB04659    | III  | HEWES & TAGHERT, 2001   | Bloomington |
| <i>Ran GTPase Activating Protein (RanGAP)</i>        | EP1173     | II   | POWERS & GANETZKY, 1991 | Bloomington |
| <i>Myocardin-related transcription factor (Mrtf)</i> | $\Delta 7$ | III  | SOMOGYI & RØRTH, 2004   | P. Rørth    |
| <i>blistered (bs)</i>                                | 1348       | III  | MARENDA et al., 2004    | Bloomington |

**Tab.3: Transgene UAS-Linien im mutanten Hintergrund**

| Linie   | Chr. | Herkunft                |
|---|------|-------------------------|
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/FM7a</i>                                       | X    | Poeck Universität Mainz |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/FM7a;UAS-mCD8:GFP/CyO</i>                      | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>grf<sup>C31</sup>/FM7a;UAS-mCD8:GFP/CyO</i>                              | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>grf<sup>C31</sup>/FM7a;UAS-grf/CyO</i>                                   | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a</i>                           | X    | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>678</sup>/FM7a;;3282<sup>M5</sup>/TM3,Sb</i>                     | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/FM7a;3282<sup>M7</sup>/CyO</i>                          | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/FM7a;3282<sup>M7</sup>/CyO</i>                       | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a;UAS-mCD8:GFP/CyO</i>          | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>678</sup>/FM7a;UAS-mCD8:GFP/CyO</i>                              | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a;UAS-3282<sup>M7</sup>/CyO</i> | X;II | Poeck Universität Mainz |
| <i>+/+;;UAS-mCD8:GFP/TM3,Sb</i>   | III  | Bloomington             |
| <i>+/+;;UAS-ebo-RNAi</i>  | III  | VDRC                    |
| <i>+/+;;UAS-npf-RNAi/UAS-npf-RNAi</i>                                       | III  | Bloomington             |
| <i>+/+;UAS-FMRFa-RNAi/UAS-FMRFa-RNAi</i>                                    | II   | VDRC                    |
| <i>+/+;UAS-Act::GFP</i>   | II   | Bloomington             |

|                    |     |             |
|--------------------|-----|-------------|
| + / + ; ; UAS - bs | III | M. Affolder |
|--------------------|-----|-------------|

Tab.4: Transgene Treiberlinien

| Linie                           | Chr. | Referenz                                 | Expressionsort   | Herkunft         |
|---------------------------------|------|--|--|------------------|
| 189Y-GAL4                       | II   | RENN et al., 1999                        | R3, Pk, Antennalloben,<br>zwei horizontale<br>Schichten des Fb | Bloomington      |
| 198Y-GAL4                       | IV   | MANSEAU et al., 1997                     | R1   | Bloomington      |
| a19-GAL4                        | III  | PEREANU et al., 2011                     | R4m  | J. Simpson       |
| <i>App1</i> -GAL4               | III  | LUO & WHITE, 1990                        | panneural  | Poeck Uni. Mainz |
| c232-GAL4                       | III  | RENN et al., 1999                        | R3, R4d  | Bloomington      |
| c305-GAL4                       | II   | KRASHES et al., 2007                     | R2,R4d, Pk   | Bloomington      |
| c42-GAL4                        | III  | RENN et al., 1999                        | R2, R4m  | Poeck Uni. Mainz |
| c547-GAL4                       | III  | RENN et al., 1999                        | R2, R4d  | Poeck Uni. Mainz |
| Cha-GAL4                        | II   | SALVATERRA &<br>KITAMOTO, 2001           | cholinerg  | Bloomington      |
| EB1-GAL4                        | II   | YOUNG &<br>ARMSTRONG, 2010b              | R2   | Poeck Uni. Mainz |
| <i>elav+App1</i> -<br>GAL4      | III  | -  | panneural  | Poeck Uni. Mainz |
| <i>fz(ftz2)-ng</i> -<br>GAL4    | III  | PEREANU et al., 2011                     | R4m, R4d   | J. Simpson       |
| GAD1-GAL4                       | III  | NG et al., 2002                          | GABAerg  | Poeck Uni. Mainz |
| <i>hsp70</i> -GAL4              | III  | ASHBURNER, 1970                          | panneural  | Bloomington      |
| mb247-GAL4                      | III  | ZARS et al., 2000;<br>POECK et al., 2008 | Pk, mittlere Schicht des<br>Fb, äußere Schicht des<br>Eb       | Poeck Uni. Mainz |
| NP2320-GAL4                     | II   | LIU et al., 2006                         | kolumnare Neurone des<br>Fb, laterale Triangel                 | Poeck Uni. Mainz |
| Or83b-GAL4                      | III  | LARSSON et al., 2004                     | Antennalloben,<br>olfaktorische<br>Rezeptorneurone             | Poeck Uni. Mainz |
| <i>Tub</i> -GAL80 <sup>ts</sup> | III  | MCGUIRE et al., 2003                     | -  | Bloomington      |

## 2.3. Verhaltensexperimente

### 2.3.1. Buridan'sches Paradigma

GÖTZ etablierte 1980 einen Objekt-Fixations-Versuchsaufbau, um die Spontanpräferenz von *Drosophila* für verschiedene Objekte zu analysieren. Das so genannte Buridan'sche Paradigma wurde später von STRAUSS & HEISENBERG (1993) genutzt, um die Qualität sowie die Quantität des Laufverhaltens und der Fähigkeit, Objekte zu fixieren, bei *Drosophila* zu analysieren. Hierfür werden die Bewegungen einer Fliege eine definierte Zeit lang mit Hilfe einer Kamera aufgezeichnet und anschließend ausgewertet (BÜLTHOFF & GÖTZ, 1982; STRAUSS & HEISENBERG, 1993; MARTIN, 2004).

Das Buridan'sche Paradigma besteht aus einem gleichmäßig ausgeleuchteten (3000 cd/m<sup>2</sup>) weißen, 16cm hohen Zylinder, in dessen Mitte sich eine runde Lauffläche (Durchmesser: 8,5cm) umgeben von einem 4cm breiten Wassergraben befindet. An der Innenseite des Zylinders sind zwei sich gegenüberliegende schwarze Balken angebracht (Abb.5). Diese unerreichbaren Landmarken von 11° Sichtbreite und 54° Höhe erscheinen dem Versuchstier aufgrund der negativen Geotaxis von Fruchtfliegen so attraktiv, dass eine wildtypische Fliege meist stundenlang zwischen ihnen hin- und herläuft. Fliegen hingegen, die einen strukturellen Defekt im Zentralkomplex besitzen, weisen ein verändertes Laufverhalten im Buridan'schen Paradigma auf (STRAUSS & HEISENBERG, 1993). Die über der Arena montierte Kamera zeichnet für 15 Minuten verschiedene Laufparameter auf, welche wiederum per Computer mit einer Frequenz von 5Hz gespeichert werden, wodurch 4500 Datenpunkte zur Auswertung vorhanden sind (STRAUSS & PICHLER, 1998).

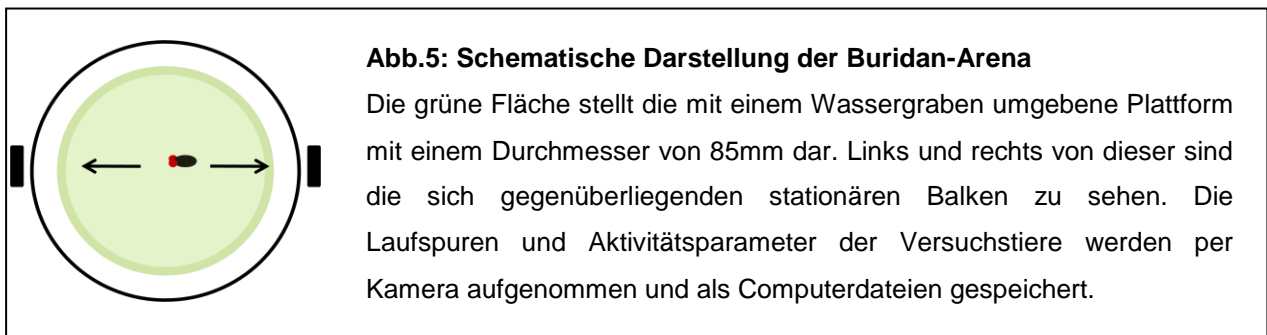
Bei den aufgezeichneten Daten zur Analyse des Laufverhaltens handelt es sich um die genauen Laufspuren jeder einzelnen Fliege, sowie folgenden Aktivitätsparametern:

1. Zurückgelegte Distanz [cm]
2. Durchschnittliche Laufgeschwindigkeit [mm/s]
3. Aktivität in Bezug zur Gesamtzeit [%]
4. Orientierung zur Zielposition [°]
5. Anzahl der Übergänge von einem Balken zum anderen

Der Parameter, welcher die Orientierung der Fliege zu ihrer Zielposition angibt, wird dadurch ermittelt, dass alle 0,2 Sekunden die Position der Fliege ermittelt wird. Das Weginkrement zwischen der 0,2 Sekunden vergangenen Position und der momentanen Position der Fliege wird in Beziehung gesetzt zur Richtung auf den Balken, der mit diesem Weginkrement der Fliege den kleinsten Winkel bildet. So entstehen über die

gesamte Messdauer für eine Fliege 4500 Daten, welche mittels des Buridan-Programms dahingehend ausgewertet werden, dass für jede Fliege eine Fehlerwinkel-Häufigkeitsverteilung aufgestellt wird.

Von jedem untersuchten Stamm wurden mindestens zehn Individuen im Buridan'schen Versuchsaufbau getestet. Außerdem wurden Mutantenlinien alternierend mit einem wildtypischen Referenzstamm in der Arena untersucht, damit Tageszeit-, Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsänderungen einen möglichst geringen Einfluss auf das Verhalten der Tiere nehmen.



### 2.3.2. Detour-Paradigma

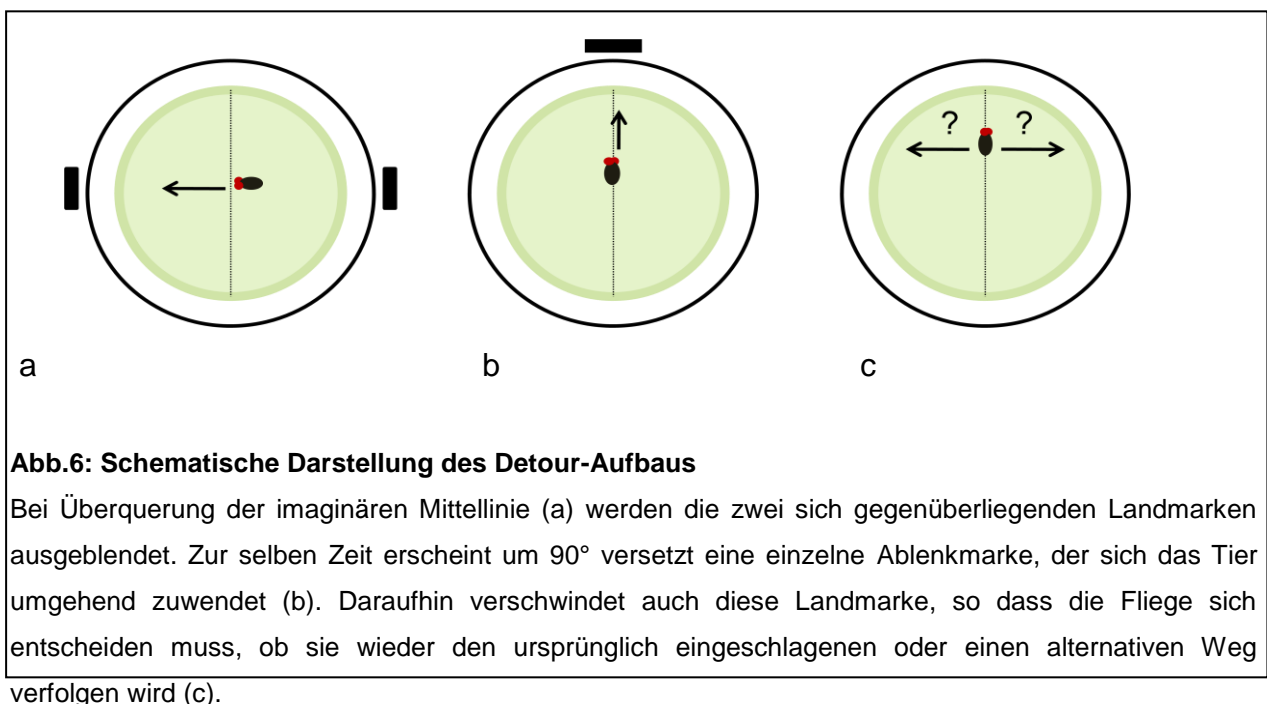
Der Versuchsaufbau des Detour-Paradigmas wurde entwickelt, um zu testen, ob bestimmte Genotypen von *Drosophila melanogaster* ein räumliches Orientierungsgedächtnis besitzen. Die Apparatur ist eine LED-Arena bestehend aus 5760 Einzel-LEDs (STRAUSS et al., 1997). In der Mitte dieser Arena befindet sich eine runde Lauffläche mit einem Durchmesser von 26cm, welche ihrerseits durch einen 2cm breiten Wassergraben begrenzt ist, so dass die Fliege während des Versuchs nicht davonlaufen kann. Das Detour-Experiment wird in einem abgedunkelten Raum durchgeführt, um so den Kontrast zwischen an- und ausgeschalteten LEDs zu erhöhen (Abb.6).

Zu Versuchsbeginn stellt der Experimentator mittels eines Computerprogramms zwei sich gegenüberliegende vertikale schwarze Balken in der LED-Arena dar. Anschließend wird eine Fliege mittig in die Arena platziert. Bevor die Aufzeichnungen beginnen, muss das Versuchstier zwischen den zwei Balken mindestens einmal hin- und herlaufen, damit davon ausgegangen werden kann, dass es beide Balken wahrnimmt. Bei erneuter Überquerung der Laufflächenmitte verschwinden nun die Balken und es erscheint eine neue Marke, die sich 90° links bzw. rechts neben dem verschwundenen

Balken befindet, dessen Richtung die Fliege ursprünglich ansteuerte (NEUSER et al., 2008). Auf diese Weise wird die Fliege von ihrem alten Weg abgelenkt und bewegt sich auf das neue Objekt zu. Nach ca. einer Sekunde wird diese Ablenkmarke ebenfalls ausgeschaltet, so dass kein Balken mehr vorhanden und die Arena vollständig ausgeleuchtet ist. Die Fliege wird sich daraufhin entscheiden, ob sie sich wieder ihrem ersten Ziel zuwendet oder einen alternativen Weg wählt. Ein Ablenkungsdurchlauf ist abgeschlossen, wenn die Körperlängsachse des Versuchstiers um mehr als  $\pm 15^\circ$  vom ablenkenden Balken abweicht. Nachdem das Versuchstier eine Richtung gewählt hat, erscheinen erneut zwei sich gegenüberliegenden Balken, so dass eine weitere Ablenkung erfolgen kann (NEUSER et al., 2008).

Pro Fliege wurden zehn Entscheidungen aufgezeichnet, zudem mussten mindestens zehn Tiere aus jedem Stamm getestet werden.

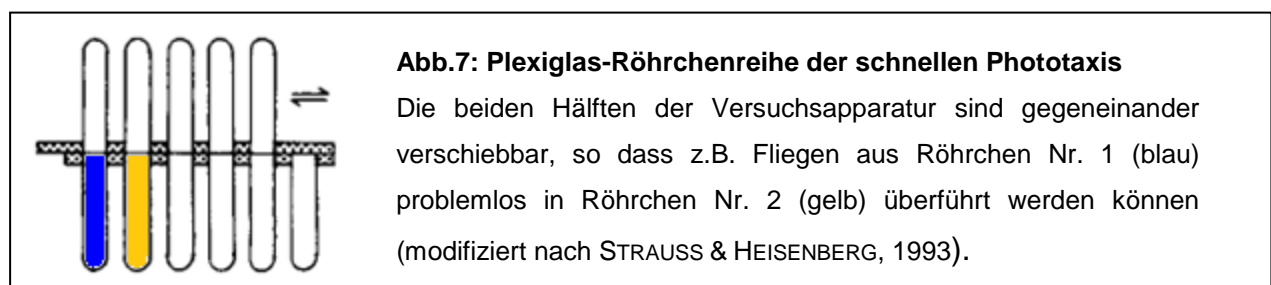
Für die Datenauswertung ist es notwendig zu wissen, dass das Zufallsniveau, in welche Richtung die Fliege läuft, nicht bei 50% sondern bei 58% liegt (NEUSER et al., 2008). Der Grund hierfür liegt darin, dass es für eine Fruchtfliege wahrscheinlicher ist, sich nach z.B. einer Rechtsdrehung nach links zu bewegen als wieder nach rechts (sog. turn compensation). Das ist biologisch durchaus sinnvoll, da so die Wahrscheinlichkeit neue Futterquellen oder auch potentielle Sexualpartner zu finden erhöht wird.





### 2.3.3. Schnelle Phototaxis

Um herauszufinden, ob bzw. wie erfolgreich ein Fliegenstamm auf Licht zulaufen kann, wurde der Versuchsaufbau der schnellen Phototaxis entwickelt, welcher sich die Fluchtreaktion auf Licht zu Nutze macht (BENZER, 1967). Dieses Anlaufen zum Licht hin wird von Fliegen absolviert, um anschließend losfliegen zu können. Demnach zeigen Tiere, die entweder nicht fliegen können, oder blind sind, keine schnelle Phototaxis. Der Versuchsaufbau besteht aus einer durchsichtigen Plexiglas-Röhrchenreihe (Abb.7), welche in der Mitte gegeneinander verschiebbar ist, einer Stoppuhr sowie einer Leuchtstoffröhre. Die Experimente werden in einem abgedunkelten Raum durchgeführt, so dass die Leuchtstoffröhre als einzige Lichtquelle dient. Zu Beginn einer Messung werden 20 Fliegen des zu testenden Genotyps in das erste Röhrchen überführt und vorsichtig auf den Boden des Röhrchens geklopft. Die Röhrchen werden nach Übereinanderschieben beider Hälften horizontal vor die Lichtquelle positioniert, so dass die Tiere nun sechs Sekunden Zeit haben, um auf das Licht und damit die andere Röhrchenhälfte zu zulaufen. Diese Zeit wurde von STRAUSS & HEISENBERG (1993) gewählt, um das Paradigma sensitiv für die Laufgeschwindigkeit zu machen; BENZER hatte noch 30 Sekunden pro Röhrchen gegeben. Nach Ablauf der Zeit betätigt man den Schieber erneut, klopft die Apparatur wieder vorsichtig auf einen Tisch und hat nun auf zwei Röhrchenböden eine gewisse Anzahl an Fliegen, je nachdem, wie gut letztere auf das Licht zuliefen. Diesen Vorgang wiederholt man fünf Mal, so dass die Fliegen theoretisch das sechste und damit letzte Röhrchen erreichen können. Zuletzt werden die Tiere, die sich in den verschiedenen Sektoren befinden, unter Kälteanästhesie ausgezählt. Pro Genotyp misst man mindestens 100 Tiere.



## 2.4. Histologie

Um die Gehirnstrukturen der untersuchten Mutationslinien zu analysieren, wurden zwei verschiedene Möglichkeiten, neuroanatomische Präparate anzufertigen, angewendet. Diese werden im Folgenden eingehend beschrieben.

#### **2.4.1. Autofluoreszenz-Paraffinschnitte**

Diese Methode dient der Herstellung von (durch den Augenfarbstoff bedingten) Autofluoreszenz-Gehirnschnitten. Auf diese Weise erkennt man prominente Strukturen wie beispielsweise die Pilzkörper oder den Zentralkomplex, so dass Unterschiede zwischen wildtypischen und anatomisch veränderten Gehirnen identifizierbar werden.

Es wird die sogenannte Kragenmethode verwendet, bei der bis zu 20 Köpfe gleichzeitig untersucht werden können (HEISENBERG & BÖHL, 1979). Die Vorgehensweise dieser Methode beginnt damit, dass mit einer Dumont-Feinpinzette kältebetäubte Fliegen am Flügelansatz gegriffen und am Hals in den Kragen gehängt werden. Nach Anfertigung eines Kragenprotokolls, welches die Position eines jeden Genotyps im jeweiligen Kragen festhält, wird der vollständig aufgefüllte Kragen vier Stunden lang in Carnoy-Lösung (99,8%iges Ethanol, 99,8%iges Chloroform, 90%iges Eisessig im Verhältnis 6:3:1) fixiert. Anschließend setzt man den Kragen zweimal für je 30 Minuten in 99,8%igem Ethanol, eine Stunde lang in Ethanol trocken und zuletzt in Methylbenzoat um. Die Fixierung in Methylbenzoat muss mindestens über Nacht erfolgen. Diese Fixierungsabläufe dienen dem Entwässern der Präparate sowie der Denaturierung von Proteinen und Nukleinsäuren (<http://histologycourse.com/Tissue%20Fixation-Lecture%2012.pdf>;6.1.2012;14:10h).

Nach der Lagerung in Methylbenzoat werden die Präparate für eine Stunde bei 64°C in einem 1:1-Methylbenzoat-Paraffin-Gemisch aufbewahrt, um anschließend bei gleichbleibender Temperatur acht Mal für je 20 Minuten in reines Paraffin überführt zu werden. Zuletzt übergießt man die in einer Silikonform befindlichen Krägen mit flüssigem Paraffin, so dass Blöcke entstehen, welche nach Aushärtung mit einem Mikrotom in 7µm dünne Schichten in frontaler Ausrichtung geschnitten werden. Die Hirnschnitte befinden sich nun in einem Paraffinband und können daher auf einen mit Eiweißglycerin beschichteten Objektträger überführt werden. Nach einer einstündigen Entparaffinierung per Xylol deckelt man die Objektträger schließlich mittels Entellan ein.

### 2.4.2. Immunhistochemische Paraffinschnitte

Diese Methode ermöglicht durch Verwendung zweier Antikörper und einem Avidin-Biotin-Komplex (ABC) die explizite Anfärbung spezifischer Bereiche im Fliegengehirn.

Die Herstellung der Paraffinblöcke erfolgt wie in Abschnitt 2.4.1. beschrieben. Nach Entparaffinierung der Objektträger erfolgen jedoch im Gegensatz zu Autofluoreszenzpräparaten Waschschriffe für je drei Minuten bei Raumtemperatur in fünf verschiedenen Ethanolösungen mit den absteigenden Konzentrationen von 99%, 96%, 90%, 80% sowie 70%. Nach weiterer dreiminütiger Inkubation bei Raumtemperatur in destilliertem Wasser sowie in PBS erfolgen Überschichtungen der Präparate mit Pferdeserum-PBT (Phosphate buffered saline + Triton X-11, 0,1%ig; Pferdeserum der Firma Vector Laboratories, 4%) und anschließend eine Über-Nacht-Inkubation mit dem jeweiligen primären Antikörper (1:200). Am darauffolgenden Tag werden nach mehreren Waschschriffen mit 0,1%igem PBT der zweite Antikörper (1:200) sowie die Vectastain ABC-Reagenz aufgetragen. Zuletzt färbt man bei Raumtemperatur die behandelten Präparate mit DAB-Urea-Wasserstoffperoxid (jeweils eine DAB- und eine Urea-Wasserstoffperoxid-Tablette der Firma Sigma in 2mL destilliertem Wasser), stoppt dieses nach fünf Minuten mittels 0,5%igem Glutaraldehyd-PBS-Gemischs und deckelt die mit Wasser benetzten Präparate in Glycergel der Firma Merck ein. Das Prinzip dieser Antikörperfärbung besteht darin, dass der primäre Antikörper an das jeweilige Protein, welches dargestellt werden soll, bindet. An diesen Antikörper wiederum bindet spezifisch der sekundäre Antikörper, welcher seinerseits mit dem Avidin-Biotin-Komplex gekoppelt ist. Letzterer wird durch DAB-Urea-Wasserstoffperoxid bräunlich angefärbt.

Zur mikroskopischen Auswertung wurden das UV-Lichtmikroskop BX50 der Firma Olympus sowie das UV-Lichtmikroskop Axioplan der Firma Zeiss verwendet. Um interessante Ergebnisse zu dokumentieren, wurden digitale Photos mittels des Programms Motic Images Plus 2.0 erstellt und in den Anwendungen Adobe Photoshop CS5 sowie Corel Draw X4 weiterbearbeitet.

### 2.4.3. Speicheldrüsenpräparation an *Drosophila*-Larven

Zur Präparation von larvalen Speicheldrüsen werden Larven des dritten Stadiums verwendet und in eiskaltem PBS mittels zweier Dumont-Feinpinzetten bearbeitet. Eine

Pinzette greift die Mundhaken, die andere setzt in der Körpermitte an und mit einem ruckartigen Auseinanderziehen trennt man schließlich den anterioren Bereich, an dem die Speicheldrüsen hängen, vom Rest des Körpers. Nun werden die Speicheldrüsen frei präpariert, bis kein anderes Gewebe wie mehr zu sehen ist. Anschließend werden die Speicheldrüsen für 15 Minuten bei 4°C auf einem Schüttler in 4%-igem Paraformaldehyd-PBS-Gemisch fixiert. Nach zwei fünfminütigen Waschschritten mit PBS sowie vier zehnminütigen Waschschritten mit 0,3%-igem PBT werden die Präparate in Glycergel sowie DAPI, was selektiv an doppelsträngige DNA bindet und dadurch blau fluoreszierende Komplexe bildet, eingedeckelt und zuletzt gekühlt aufbewahrt. Die Präparate wurden sowohl mittels eines UV-Lichtmikroskops Axioplan der Firma Zeiss als auch eines konfokalen SP5 Mikroskops der Firma Leica sowie der dazugehörigen Software LAS AF Lite ausgewertet.

#### **2.4.4. Präparation und immunhistochemische Färbung von Ganzpräparaten adulter *Drosophila*-Gehirne**

Das Freilegen eines adulten Gehirns von *Drosophila* erfolgt bis zur ersten Fixierung nach demselben Protokoll wie in 2.4.3., lediglich das zu entfernende Gewebe unterscheidet sich. In eiskaltem PBS werden der Rüssel, die Luftsäcke sowie die Kopfkapsel entfernt. Anschließend befreit man das Gehirn von sämtlichen außen befindlichen Tracheen, so dass es mittels 4%-igem Paraformaldehyd-PBS-Gemisch für vier Stunden bei 4°C fixiert werden kann. Die darauffolgenden Waschschrritte in 0,5%-igem PBT erfolgen bei Raumtemperatur. Zunächst wird das Gewebe zwei Mal für je fünf Minuten, dann drei Mal für je 30 Minuten gewaschen. Da eine Antikörper-bedingte Färbung des Gewebes durchgeführt wird, muss nun ebenfalls bei Raumtemperatur für eine Stunde das so genannte Blocken mittels eines Pferdeserum-PBT-Gemischs stattfinden. Dieses soll eine unspezifische Proteinbindung der nachzuweisenden Antikörper im Präparat verhindern. Anschließend wird der jeweilige primäre Antikörper in seiner individuellen Verdünnung (in diesem Fall 1:2000) zusammen mit 4%-igem Pferdeserum-PBT-Gemisch für 72 Stunden bei 4°C auf das Gewebe gegeben. Nach dieser Inkubation wird erneut bei Raumtemperatur und mittels 0,5%-igen PBT gewaschen. Hierbei handelt es sich um zwei Mal fünf und sechs Mal 20 Minuten. Daraufhin wird das Gewebe mit dem sekundären Antikörper (in diesem Fall 1:2000) in einem 4%-igen Pferdeserum-PBT-Gemisch für 48 Stunden bei 4°C inkubiert. Zuletzt

erfolgen dieselben Waschschr tte wie nach der Inkubation des primären Antikörpers mit dem Unterschied, dass zusätzlich zwei Mal für fünf Minuten in PBS gewaschen wird, bevor die einzelnen Gehirne auf Objektträger mit Abstandshaltern übertragen und eingedeckelt werden. Die Fixierung erfolgt durch Glycergel. Ganzpr parate werden mittels eines konfokalen SP5 Mikroskops der Firma Leica sowie der dazugehörigen Software LAS AF Lite ausgewertet.

### 2.4.5. Antikörper und deren Konzentrationen sowie Standardlösungen

Die Bezeichnungen der verwendeten Antikörper sowie deren Konzentration werden in Tab.5a zusammengefasst. Tab.5b erläutert die Zusammensetzung der verwendeten Standardlösungen.

**Tab.5a: Konzentrationen verwendeter primärer sowie sekundärer Antikörper**

|               | Primärer Antikörper                               | Sekundärer Antikörper                                     |
|---------------|---|---|
| Konzentration | Anti-GFP (rabbit IgG) der Firma Invitrogen; 1:200 | Vectastain Anti-Rabbit IgG biotinylated; 1:200            |
|               | Anti-pro-FMRFa (rabbit IgG); 1:2000               | Alexa Fluor 488 (rabbit IgG) der Firma Invitrogen; 1:2000 |
|               | Anti-fasciclinII (mouse IgG); 1:100               | Cy3 (mouse IgG) der Firma Dianova; 1:2000                 |

**Tab.5b: Zusammensetzung der Standardlösungen**

| Lösung       | Zusammensetzung   |
|--------------|---|
| PBS (pH 7,4) | 3,8g/500mL NaCl<br>0,625g/500mL Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *H <sub>2</sub> O<br>0,207g/500mL NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> *H <sub>2</sub> O |
| PBT 0,1%     | 5mL einer 10%igen Triton X-11 (Merck)-Stammlösung-ddH <sub>2</sub> O in 500mL PBS   |

## 2.5. Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels der Computerprogramme Sigma Plot 11.0 und Statistica 8.0. Als Test auf Normalverteilung wurden der KOLGOMOROV-SMIRNOV-Test oder der SHAPIRO-WILK-Test mit einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  gewählt. Der STUDENT'SCHE t-Test wurde angewendet, um bei normalverteilten Daten

---

statistisch signifikante Unterschiede festzustellen. Bei nicht-normalverteilten Daten wurden der Mann-Whitney-Rank-Sum-Test bzw. der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Die Wahl des Tests hing davon ab, ob die Daten, welche miteinander verglichen wurden, am selben Tag alternierend zueinander erhoben wurden oder nicht. Handelte es sich um Datensätze, die zur selben Zeit entstanden und nicht normalverteilt waren, wurde der Mann-Whitney-Rank-Sum-Test angewendet. Andernfalls musste der Kruskal-Wallis-Test die Stichproben miteinander vergleichen. Dieser Test stellt eine nichtparametrische Alternative zur einfaktoriellen ANOVA, welche bei normalverteilten Daten verwendet wird, dar, basiert daher auf Medianen und berechnet Post-hoc-Wahrscheinlichkeiten für einen zweiseitigen Signifikanztest (angegeben als p-Werte). D.h., dass durch den Kruskal-Wallis-Test die Berechnung multipler Vergleiche der mittleren Ränge für jedes Paar von Gruppen bereits post-hoc korrigiert wird.

Um die erhobenen Datensätze aus den Detour-Experimenten gegen das Zufallsniveau von 58% zu testen, wurden entweder der One-Sample-t-Test oder der Sign-Test angewandt. Die Signifikanzdarstellung in den nicht-parametrischen Median-Graphiken erfolgte mittels Sternchen (signifikant  $p < 0,05 = *$ ; hoch signifikant  $p < 0,01 = **$ ; höchst signifikant  $p < 0,001 = ***$ , nicht signifikant  $p \geq 0,05 = \text{n.s.}$ ).

Jeder angewandte statistische Test samt aller notwendigen Angaben sowie der p-Werte findet sich im Anhang 10.3.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Die Gehirnstrukturmutante *gurkenflieger*<sup>C31</sup>

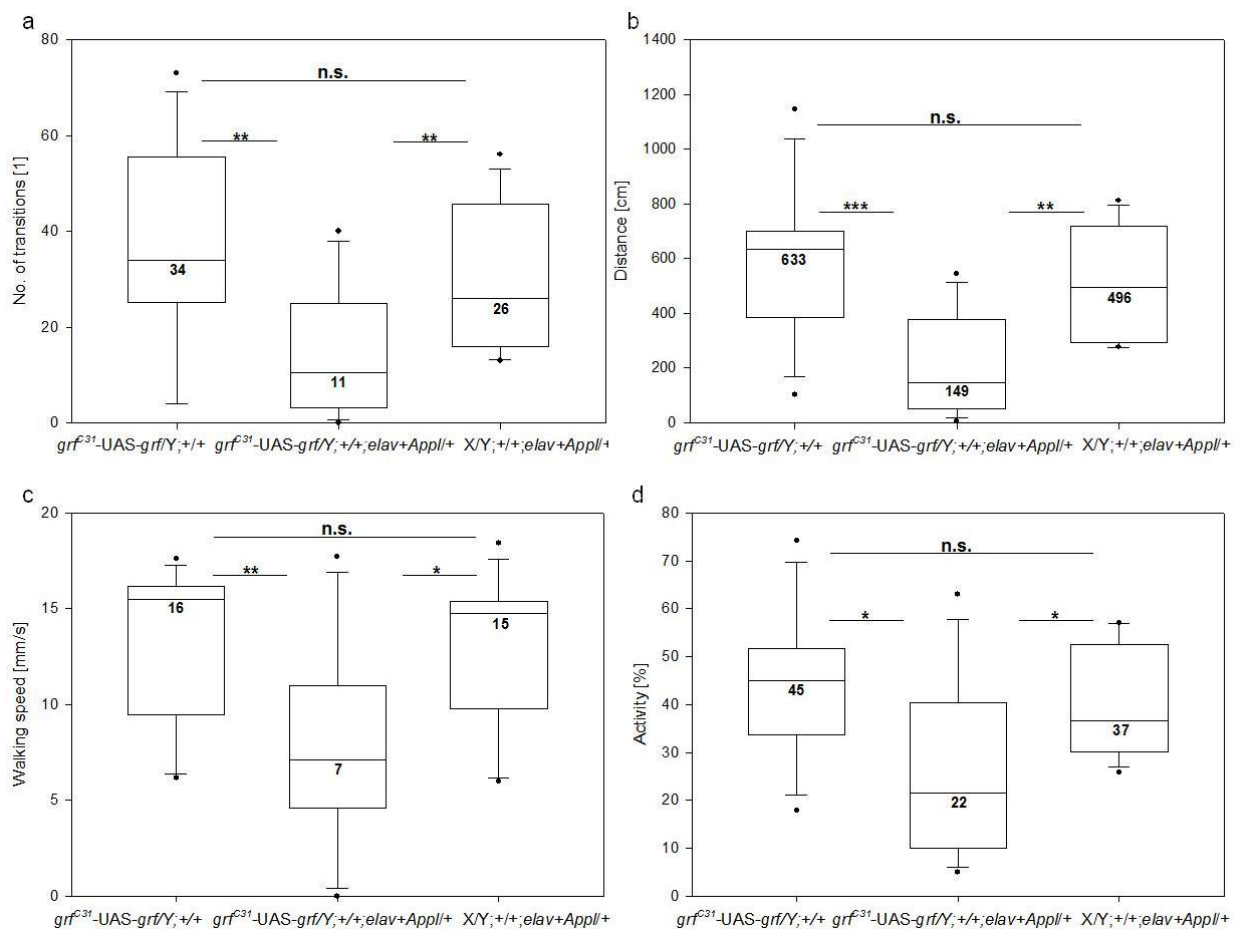
#### 3.1.1. Verhalten im Buridan`schen Paradigma

Wie in Abschnitt 2.3.1. bereits erläutert wurde, dient das Buridan`sche Paradigma standardmäßig der Laufanalyse einer Fliege über 15 Minuten. Die Parameter „Anzahl der Übergänge zwischen zwei Balken“, „zurückgelegte Distanz“, „Durchschnittsgeschwindigkeit“ sowie „Durchschnittsaktivität“ werden mittels einer nicht-parametrischen Median-Graphik dargestellt. Diese Art der Darstellung wird deshalb gewählt, weil einerseits nicht alle Daten innerhalb einer Graphik normalverteilt sind, aber alle Abbildungen miteinander vergleichbar sein sollen, und eine mediane Abbildung andererseits eine weitaus breitere Aussage über die Verteilung der Daten bietet. Die Testergebnisse der Normalverteilung sowie die Ergebnisse aller übrigen angewandten statistischen Tests sind im Anhang zu finden. Bei der Median-Graphik zeigen die Boxen die 25%- und 75%-Quartile der Verteilung und die Fehlerbalken die 5%-95%-Quantile an. Ausreißer werden als Einzelpunkte dargestellt. Dieses Paradigma liefert weiterhin Informationen über die Qualität der Orientierung zum jeweils angelaufenen Balken sowie die individuellen Laufspuren der getesteten Fliegen.

##### 3.1.1.1. Laufverhaltensanalyse und Rettungsversuche im *grf*<sup>C31</sup>-mutanten Hintergrund

Fliegen der Strukturmutante *grf*<sup>C31</sup> zeigen ein signifikant schlechteres Laufverhalten als intakte Fliegen ihres wildtypischen Hintergrunds WT-B (Thran, 2008). Ihre durchschnittliche Geschwindigkeit sowie Aktivität sind mit einem Median von 6mm/s und 25% der Gesamtzeit im Paradigma stark reduziert im Vergleich zu ihrem genetischen Hintergrund WT-B, so dass dementsprechend auch die Anzahl an Übergängen zwischen den beiden Landmarken und die insgesamt zurückgelegte

Distanz in der Buridan-Arena bei  $grf^{C31}$  geringer sind. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden mittels des UAS/GAL4-Systems Rettungsversuche im  $grf^{C31}$ -mutanten Hintergrund durchgeführt. Hierzu wurden die panneurale Treiberlinie  $elav+AppI-GAL4$  sowie NP2320-GAL4 verwendet; letztere treibt die Expression des jeweiligen Gens in den kolumnaren Neuronen des fächerförmigen Körpers sowie in den lateralen Triangeln. Der Laufparameter-Phänotyp konnte bei der UAS-Linie  $grf^{C31}-UAS-grf/Y;+/+$  (heterozygot für WT-B) nicht in dem Ausmaß wiedergefunden werden, wie er bei der Strukturmutante  $grf^{C31}$  aufgetreten war, was allerdings erst nach Beendigung des Experiments festgestellt werden konnte, so dass eine Rettung mittels  $elav+AppI-GAL4$  nicht mehr nötig gewesen wäre (Abb.8).



**Abb.8: Laufverhaltensanalyse im Buridan'schen Paradigma**

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; die Boxen zeigen die 25%- und 75%-Quartile der Verteilung, die Fehlerbalken geben die 5%-95%-Quantile an, N= 12 für alle Gruppen, t-Test für ungepaarte Stichproben, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A1.

**a** Die Anzahl der Übergänge ist zwischen  $grf^{C31}-UAS-grf/Y;+/+$  und  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  nicht signifikant verschieden ( $p= 0,473$ ), zwischen  $grf^{C31}-UAS-grf/Y;+/+$  und  $grf^{C31}-UAS-grf/Y;+/+;elav+AppI/+$  jedoch

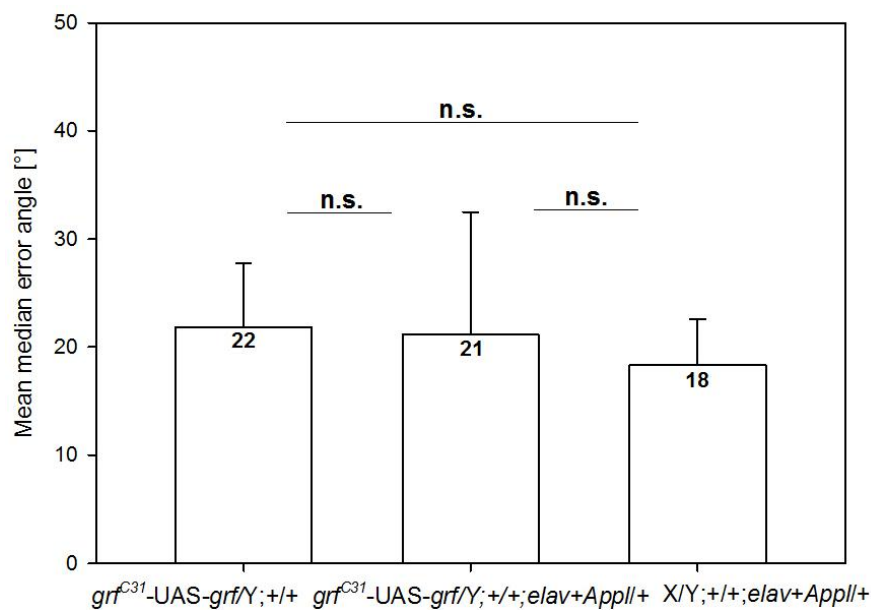


hoch signifikant unterschiedlich ( $p=0,006$ ). Auch die Daten von  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$  und  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  unterscheiden sich hoch signifikant voneinander ( $p=0,009$ ).

**b** Die Distanz ist nicht signifikant unterschiedlich zwischen  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  und  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p=0,405$ ), doch  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  läuft höchst signifikant mehr als  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p<0,001$ ).  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$  ist hoch signifikant anders als  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p=0,001$ ).

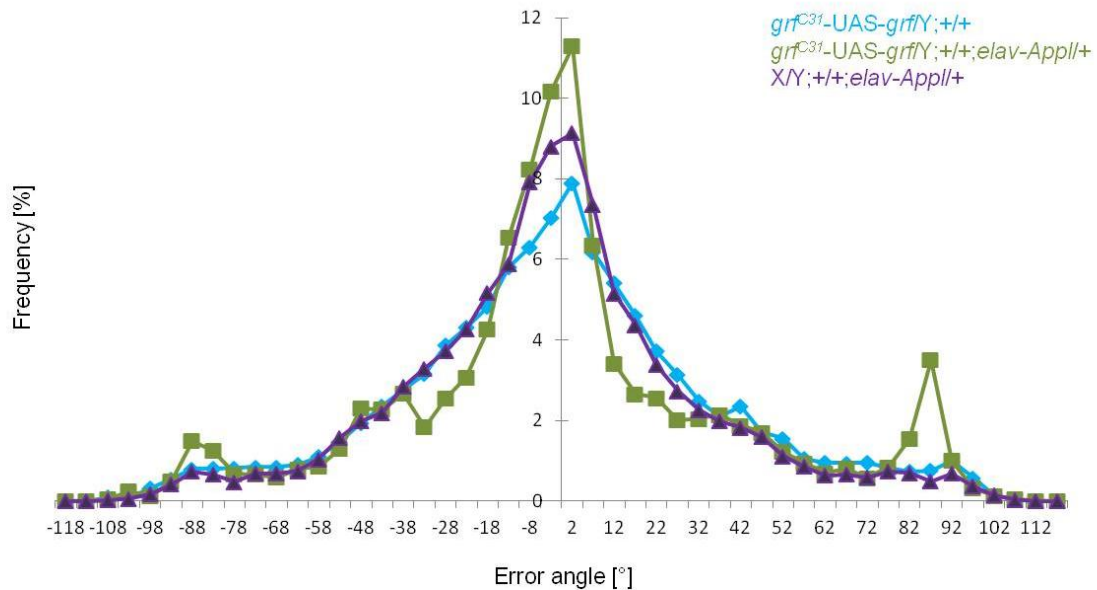
**c** Die Geschwindigkeit von  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  unterscheidet sich statistisch nicht von der bei  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p=0,285$ ). Es gibt aber einen hoch signifikanten Unterschied zwischen  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$  und  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  ( $p=0,007$ ) und einen signifikanten Unterschied zu  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p=0,011$ ).

**d** Die Aktivität von  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  ist nicht verschieden zu der von  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p=0,518$ ). Doch  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$  hat eine signifikant geringere Aktivität als  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  ( $p=0,012$ ) und als  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  ( $p=0,024$ ).



**Abb.9: Orientierungsleistung im Buridan'schen Paradigma**

Der Wert des mittleren medianen Fehlerwinkels für  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  beträgt  $22^\circ$ , für  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$   $21^\circ$  und für  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$   $18^\circ$  (Experiment wie für Abb.8;  $N=12$  für alle Gruppen, t-Test für ungepaarte Stichproben, bei allen drei Tests  $p>0,05$ , Mittelwertdarstellung und Standardabweichung. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A2.).



**Abb.10: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan'schen Paradigma**

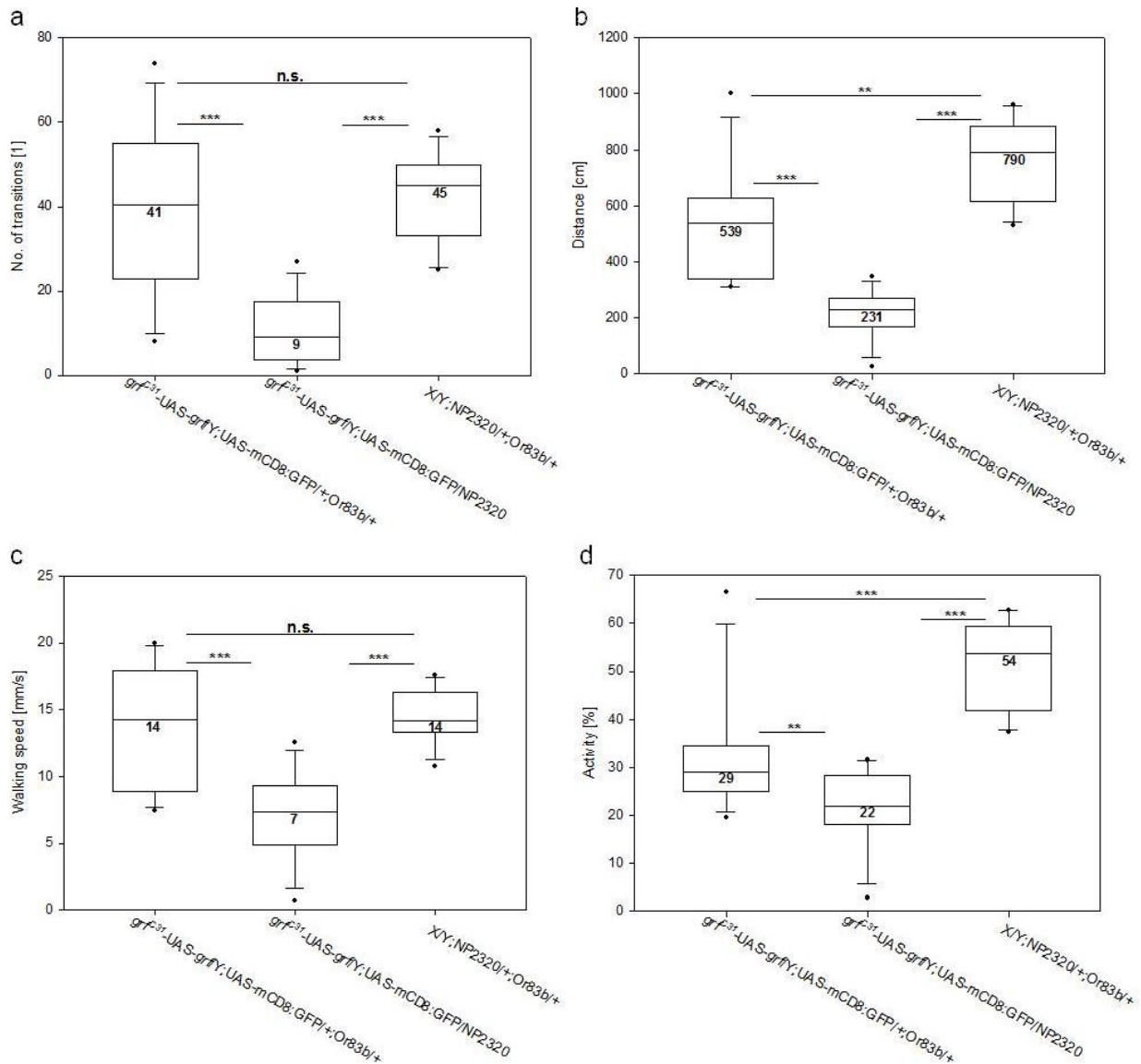
Es ist deutlich zu erkennen, dass bei allen drei Kreuzungen das Maximum der Orientierung bei ca. 0° liegt. Die Häufigkeit des Objektanlaufens mit einem Fehlerwinkel von 0° beträgt bei  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;+/+ 8%, bei  $X/Y$ ;+/+; $elav+AppII$ + ca. 9% und bei  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;+/+; $elav+AppII$ + ca. 11% (Experiment wie für Abb.8; N= 12 für alle Gruppen, Mittelwertdarstellung).

Die Anzahl der Übergänge, die Distanz, die Laufgeschwindigkeit sowie die Aktivität sind bei  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;+/+ nicht signifikant verschieden zu selbigen Parametern der GAL4-Kontrolle  $X/Y$ ;+/+; $elav+AppII$ +. Interessanterweise sieht man jedoch in Abb.8, dass Tiere mit dem Genotyp  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;+/+; $elav+AppII$ + eine signifikante Verschlechterung aller Laufleistungen im Buridan'schen Paradigma aufweisen. Diese Tiere unterscheiden sich in jedem Laufparameter signifikant bis höchst signifikant sowohl von der UAS- als auch von der GAL4-Kontrollkreuzung.

Zusätzlich zu den Laufparametern wurde ebenfalls die Orientierung der Fliege zum angelaufenen Balken bei allen getesteten Kreuzungen betrachtet, obwohl der mittlere mediane Fehlerwinkel bei  $grf^{C31}$  wildtypisch ist (Thran, 2008). Dieser Fehler in der Orientierung wird zunächst betragsmäßig für die Verteilung jeder einzelnen Fliege als Median ermittelt und anschließend zu einer mittleren Verteilung des getesteten Genotyps errechnet. Auch nach der Untersuchung von  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;+/+ (heterozygot für WT-B),  $X/Y$ ;+/+; $elav+AppII$ + und  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;+/+; $elav+AppII$ + waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Fehlerwinkels zu verzeichnen (Abb.9 und 10).

Nachdem beim ersten panneuralen Rettungsversuch festgestellt wurde, dass die verwendete  $grf^{C31}$ -UAS- $grf$ -Linie keine Defekte in den Buridan'schen Laufparametern

zeigte, wurde erneut ein Rettungsexperiment angesetzt. Bei diesem wurde nun eine andere *grf<sup>C31</sup>*-UAS-*grf*-Linie genutzt, die zusätzlich ein UAS-mCD8:GFP-Konstrukt auf dem zweiten Chromosom enthielt, um nach den Versuchen mittels Antikörperfärbung die Tiere histologisch zu untersuchen (s. 3.1.1.3.). Außerdem wurde diese UAS-Linie im *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund mit einer GAL4-Linie gekreuzt, um so bei den zu testenden Fliegen einen doppelt-heterozygoten Zustand zu erschaffen, welcher auch bei den Tieren aus der Rettungskreuzung vorherrschte. Für diese Kreuzung wurde Or83b-GAL4 verwendet, welche nur in den Antennalloben und olfaktorischen Rezeptorneuronen treibt und somit keine Rettung des *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Laufverhaltens bewirken sollte. Als GAL4-Linie zur Rettung des Verhaltensphänotyps wurde NP2320-GAL4 ausgewählt, da diese Linie ein wesentlich kleineres Expressionsmuster als *elav+AppI*-GAL4 aufweist (s.o.). Abb.15 zeigt, dass der Verhaltensphänotyp von *grf<sup>C31</sup>* zumindest bezüglich der Laufdistanz sowie der Aktivität bei *grf<sup>C31</sup>*-UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ wieder gefunden werden konnte. Die zurückgelegte Distanz ist mit 539cm hoch signifikant geringer als bei der Kontrolle X/Y;NP2320/+;Or83b/+ mit 790cm. Die Aktivität beträgt bei der UAS-Linien-Kontrolle 29% im Gegensatz zu wildtypischen 54% bei X/Y;NP2320/+;Or83b/+, was einen höchst signifikanten Unterschied darstellt. Die anderen Parameter wie Anzahl der Überquerungen und durchschnittliche Laufgeschwindigkeit sind zwischen den beiden Kreuzungen nicht signifikant verschieden voneinander.



**Abb.11: Laufverhaltensanalyse im Buridan'schen Paradigma**

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 12 für alle Gruppen, t-Test für ungepaarte Stichproben, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A3.

**a** Die Überquerungsanzahl ist nicht signifikant unterschiedlich zwischen *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* und *X/Y;NP2320/+;Or83b/+* ( $p = 0,795$ ), jedoch jeweils höchst signifikant verschieden zwischen *C31-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* und *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320* ( $p < 0,001$ ) sowie zwischen *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320* und *X/Y;NP2320/+;Or83b/+* ( $p < 0,001$ ).

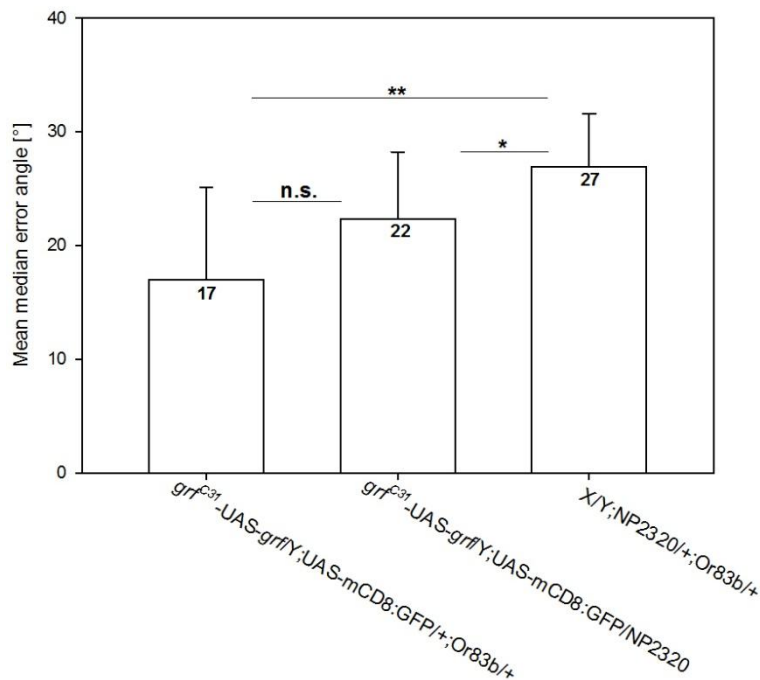
**b** Die Laufdistanz von *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* ist hoch signifikant niedriger als die von *X/Y;NP2320/+;Or83b/+* ( $p = 0,002$ ) und höchst signifikant geringer als bei *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320* ( $p < 0,001$ ). Der Unterschied bezüglich der Distanz ist ebenfalls höchst signifikant verschieden zwischen *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320* und *X/Y;NP2320/+;Or83b/+* ( $p < 0,001$ ).

**c**  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ läuft durchschnittlich höchst signifikant schneller als  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320 ( $p < 0,001$ ), aber nicht signifikant verschieden zu X/Y;NP2320/+;Or83b/+ ( $p = 0,751$ ). Die Laufgeschwindigkeit von  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320 ist höchst signifikant erniedrigt im Vergleich zu X/Y;NP2320/+;Or83b/+ ( $p < 0,001$ ).

**d** Die Aktivität betreffend unterscheidet sich X/Y;NP2320/+;Or83b/+ sowohl zu  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320 als auch zu  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ höchst signifikant ( $p < 0,001$ ). Der Unterschied bezüglich der Aktivität zwischen  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ und  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320 ist hoch signifikant ( $p = 0,007$ ).

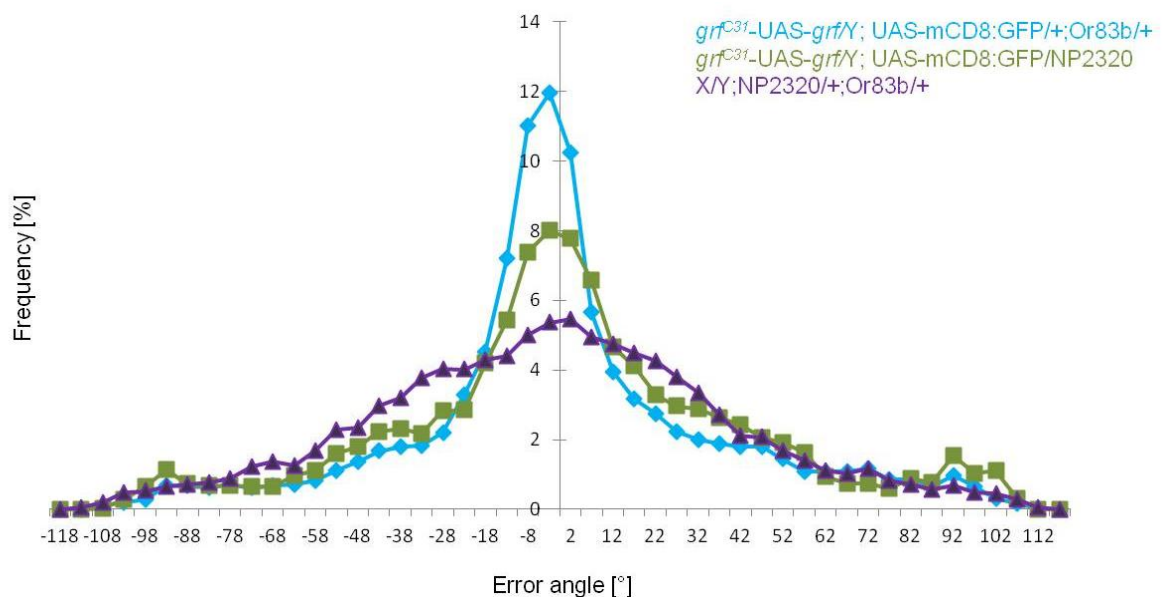
Bezüglich des Versuchs der Phänotyprettung mittels NP2320-GAL4 ist erneut festzustellen, dass bei allen vier Parametern ähnlich den Ergebnissen von  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;+/+;elav+*App*//+ eine deutliche Verschlechterung zu verzeichnen ist (Abb.11). Die Anzahl der Übergänge ist bei  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;NP2320/UAS-mCD8:GFP sowohl zu  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ als auch zu X/Y;NP2320/+;Or83b/+ höchst signifikant geringer. Bei der insgesamt zurückgelegten Laufdistanz sowie der durchschnittlichen Geschwindigkeit verhält es sich genauso wie bei der Anzahl der Übergänge. Die Aktivität ist bei  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;NP2320/UAS-mCD8:GFP signifikant geringer als bei  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ und höchst signifikant niedriger als bei X/Y;NP2320/+;Or83b/+.

Die Orientierung der getesteten Tiere betreffend fällt auf, dass  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ mit  $17^\circ$  den kleinsten mittleren medianen Fehlerwinkel aller drei Kreuzungen aufweist, die Tiere sich also sehr gut auf die Landmarken ausrichten können. Dieser Fehlerwinkel unterscheidet sich jedoch nicht signifikant von den  $22^\circ$  bei  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320. Die Kontrollkreuzung der GAL4-Linie hingegen hat einen mittleren medianen Fehlerwinkel von  $27^\circ$  und somit eine signifikant schlechtere Orientierung als  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320 Tiere und eine hoch signifikant schlechtere als  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ Tiere (Abb.12). D.h., dass die GAL4-Linie *per se* die schlechteste Orientierung bezüglich des Objktanlaufs bei den angesetzten Kreuzungen zeigt, was auch in Abb.13 sichtbar wird.



**Abb.12: Orientierungsleistung im Buridan'schen Paradigma**

Die mittleren medianen Fehlerwinkel von *grf<sup>C31</sup>-UAS-grfY;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* und *grf<sup>C31</sup>-UAS-grfY;UAS-mCD8:GFP/NP2320* unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ( $p = 0,078$ ). Zwischen *grf<sup>C31</sup>-UAS-grfY;UAS-mCD8:GFP/NP2320* und *X/Y;NP2320/+;Or83b/+* besteht jedoch ein signifikanter ( $p = 0,045$ ) sowie zwischen *grf<sup>C31</sup>-UAS-grfY;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* und *X/Y;NP2320/+;Or83b/+* ein hoch signifikanter Unterschied ( $p = 0,001$ ) (Experiment wie für Abb.11;  $N = 12$  für alle Gruppen, t-Test für ungepaarte Stichproben, Mittelwertdarstellung und Standardabweichung. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A4).



**Abb.13: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung**

Alle Genotypen haben ihr Maximum bei einem Fehlerwinkel von ca. 0°, dennoch sind Unterschiede in den Verteilungen vorhanden. Die Häufigkeit, ein Objekt perfekt anzulaufen, ist bei *grf<sup>C31</sup>-UAS-grfY;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* mit 12% am höchsten und bei *grf<sup>C31</sup>-UAS-grfY;UAS-mCD8:GFP/NP2320* mit 8%

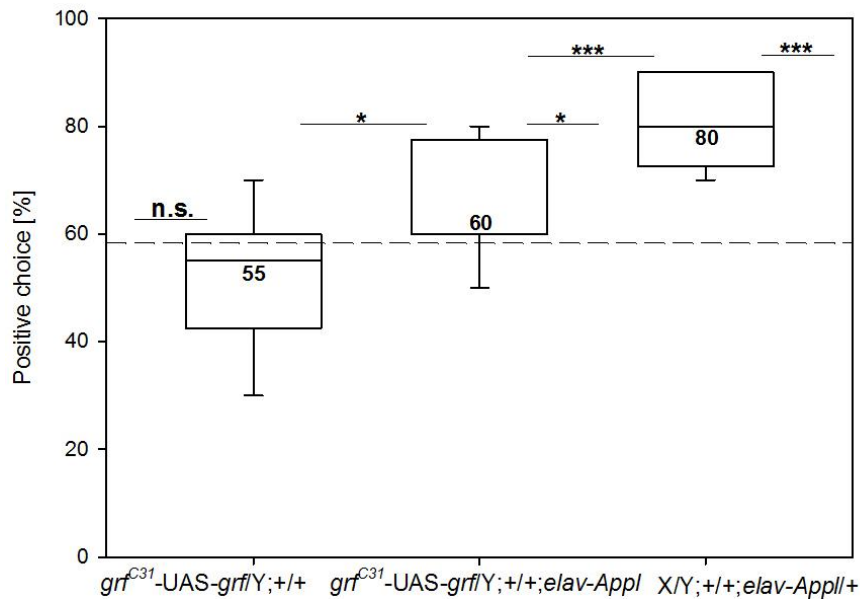
immer noch im wildtypischen Bereich. Die Verteilung der Fehlerwinkel-Wahlhäufigkeiten von X/Y;NP2320/+;Or83b/+ ist hingegen wesentlich flacher und zeigt sein Maximum bei 0° mit nur ca. 5,3% (Experiment wie für Abb.11; N= 12 für alle Gruppen, Mittelwertdarstellung).

### 3.1.2. Ergebnisse des Detour-Paradigmas

Die Ergebnisse des Detour-Experiments werden ebenso wie die Laufparameter des Buridan'schen Paradigmas als nicht-parametrische Median-Darstellungen mit Fehlerbalken und Ausreißerdaten vorgestellt. Die Konventionen, welche für die Boxen, Fehlerbalken und Ausreißer gelten, sind dieselben wie in 3.1.1. beschrieben. Abb.14 und 15 zeigen die Entscheidungen der getesteten Fliegen für die zuerst eingeschlagene Richtung vor der Ablenkung in eine neue Richtung in Prozent (positive choice). Das Zufallsniveau der Richtungswahl ist als gestrichelte Linie bei 58% eingetragen (nach einer Rechtswendung folgt häufiger eine Linkswendung und umgekehrt), so dass die statistischen Unterschiede zwischen dem Median des jeweilig getesteten Genotyps und dem Zufallsniveau in der Graphik dargestellt werden können.

#### 3.1.2.1. Orientierungsgedächtnis und Rettungsversuche im *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund

Zunächst wurde eine panneurale Rettungskreuzung samt ihrer Kontrollen getestet, die im *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund mit *elav+AppI-GAL4* getrieben wurde. Die Negativkontrolle der UAS-Linie *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y* (WT-B) unterscheidet sich mit 55% Rückkehr zum ersten Zielobjekt bezüglich ihrer Orientierungswahl nicht signifikant vom Zufallsniveau (Abb.14), besitzt demnach kein Orientierungsgedächtnis. Die Positivkontrolle der GAL4-Linie *X/Y;+/+;elav+AppI/+* läuft zu 80% auf den ursprünglichen Weg zurück und unterscheidet sich hoch signifikant vom Zufallsniveau. Der Genotyp des Rettungsversuchs *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+AppI/+* zeigt zwar nur einen Median von 60%, verhält sich aber dennoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau und zur Negativkontrolle (Abb.14). D.h., mittels der panneuralen Expression von wildtypischen *grf<sup>C31</sup>* konnte das Orientierungsgedächtnis im *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund zumindest zum Teil wieder hergestellt werden.



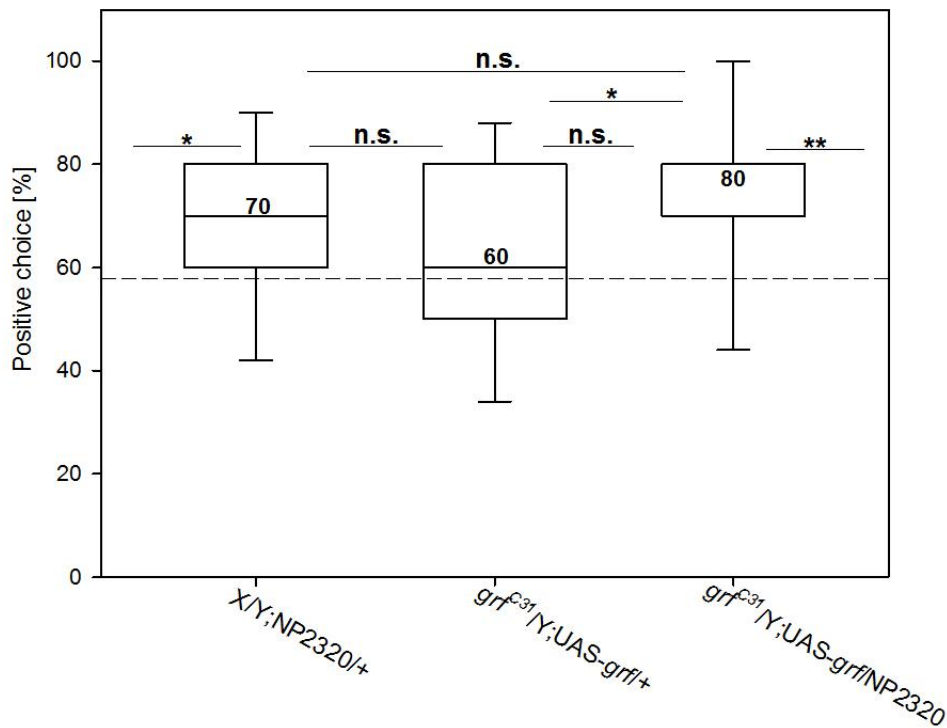
**Abb.14: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 12 für alle Gruppen, One-Sample-t-Test, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test, t-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A5.

Die Negativkontrolle *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y* liegt mit 55% auf dem Zufallsniveau ( $p= 0,188$ ). *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+AppI+* unterscheidet sich knapp signifikant vom Zufallsniveau ( $p= 0,047$ ) und *X/Y;+/+;elav+AppI+* ist hoch signifikant verschieden zum Zufall ( $p= 0,001$ ). Die Rettungskreuzung *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+AppI+* verhält sich höchst signifikant schlechter als *X/Y;+/+;elav+AppI+* ( $p < 0,001$ ) und signifikant besser als *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y* ( $p= 0,021$ ).

Nach der panneuralen Rettung des Detour-Phänotyps wurde die gewebespezifischere GAL4-Linie NP2320-GAL4 eingesetzt, welche in den kolumnaren Neuronen des fächerförmigen Körpers sowie den lateralen Triangeln Expression treibt (Abb.17). Bei diesem Experiment unterschied sich die Negativkontrolle *grf<sup>C31</sup>/Y;UAS-grf/+* (heterozygot für WT-B) mit 60% ebenfalls nicht signifikant vom Zufallsniveau. Die Kontrolle der GAL4-Linie *X/Y;NP2320/+* (heterozygot für WT-B) zeigte einen Median von 70%, unterschied sich allerdings signifikant vom Zufallsniveau (Abb.15). Der Genotyp *grf<sup>C31</sup>/Y;UAS-grf/NP2320*, welcher im *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund sowohl die UAS-Sequenz als auch das GAL4-Konstrukt enthält, zeigte einen Median von 80%, was eine deutliche Rettung des Orientierungsgedächtnisses beweist. Dieses Ergebnis ist hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau.





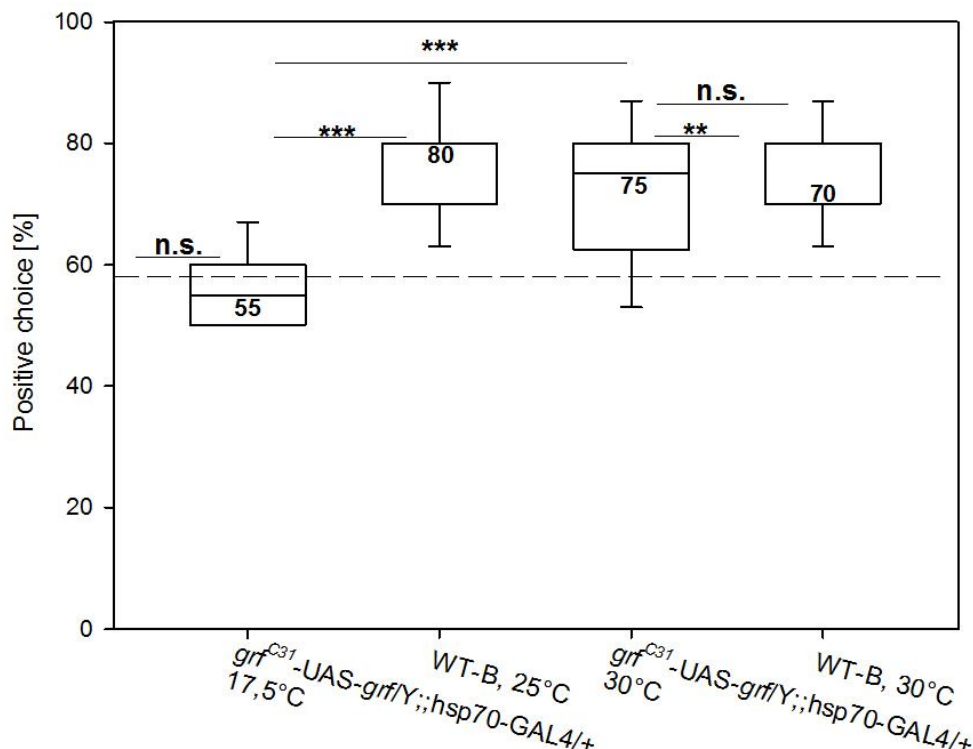
**Abb.15: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=11 für alle Gruppen, One-Sample-t-Test, t-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A6.

Die Negativkontrolle  $grf^{C31}/Y;UAS-grf/+$  (heterozygot für WT-B) sowie die Positivkontrolle  $X/Y;NP2320/+$  (heterozygot für WT-B) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ( $p=0,176$ ).  $grf^{C31}/Y;UAS-grf/+$  verhält sich nicht signifikant verschieden zum Zufallsniveau ( $p=0,710$ ),  $X/Y;NP2320/+$  hingegen signifikant verschieden ( $p=0,033$ ).  $grf^{C31}/Y;UAS-grf/NP2320$  ist hoch signifikant verschieden zum Zufall ( $p=0,007$ ), nicht unterschiedlich zu  $X/Y;NP2320/+$  ( $p=0,448$ ) und signifikant verschieden zu  $grf^{C31}/Y;UAS-grf/+$  ( $p=0,047$ ).

Die Kreuzungsexperimente im  $grf^{C31}$ -mutanten Hintergrund mit  $elav+App/$ - und NP2320-GAL4 machten nur von der Gewebespezifität des UAS/GAL4-Systems Gebrauch, weshalb noch weitere Untersuchungen im Detour-Paradigma erfolgten. Diese befassten sich mit der zeitlichen Komponente der Genexpression, weshalb die zum Heat-Shock-System gehörende hsp70-GAL4-Linie verwendet wurde. Mittels hsp70-GAL4 wird das nachgeschaltete Gen, hier  $grf^{C31}$ , ab 25°C exprimiert, jedoch nicht bei Temperaturen bis 18°C. Auf diese Weise wurde untersucht, ob  $grf^{C31}$  bezüglich des räumlichen Orientierungsgedächtnisses bereits während der Entwicklung benötigt wird oder nicht. Die Ergebnisse sind in Abb.16 zu sehen und zeigen deutlich, dass  $grf^{C31}$  nicht während der Entwicklung exprimiert werden muss, damit ein Orientierungsgedächtnis ausgebildet werden kann. Fliegen des Genotyps  $grf^{C31}-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+$ , die

bei 17,5°C aufgewachsen sind, haben kein Orientierungsgedächtnis. Werden dieselben Tiere allerdings für 24 Stunden bei 30°C inkubiert, so sind sie wieder in der Lage, sich daran zu erinnern, welchen Weg sie im Detour-Paradigma ursprünglich verfolgten. Als Kontrolle sind WT-B-Fliegen alternierend getestet worden, auch um auszuschließen, dass die Erhöhung der Temperatur *per se* eine Verhaltensveränderung auslöst. Das ist nicht der Fall, da bei einem gepaarten t-Test zwischen den Wildtypen, die bei 25°C aufgewachsen sind und nach dem Experiment für 24 Stunden bei 30°C inkubiert wurden, ein nicht signifikanter Unterschied zu verzeichnen ist ( $p = 0,463$ ; s. Anhang 10.3 Tab.A7). Der gepaarte t-Test darf hierbei angewendet werden, da es sich um normalverteilte Daten handelt, welche von denselben Tieren zu unterschiedlichen Zeitpunkten ermittelt wurden (s. Anhang 10.3 Tab.A7).



**Abb.16: Wärmeinduzierter Rettungsversuch des Orientierungsgedächtnisses im *grf<sup>C31</sup>*-mutanten Hintergrund im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12,  $N = 12$  für alle Gruppen, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test, gepaarter t-Test, Sign-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A7.

Fliegen des Genotyps, die bei 17,5°C aufgezogen wurden, zeigen kein Orientierungsgedächtnis ( $p = 0,773$  zum Zufallsniveau) und sind damit höchst signifikant schlechter im Detour-Verhalten als WT-B ( $p < 0,001$ ). Nach Inkubation derselben Tiere bei 30°C verhalten diese sich hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau ( $p = 0,001$ ) und nicht signifikant zu WT-B ( $p = 0,903$ ). Auch der gepaarte t-Test zeigt, dass *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+*-Fliegen nach der 30°C-Inkubation höchst signifikant besser sind als vor der wärmeinduzierten *grf<sup>C31</sup>*-Expression ( $p < 0,001$ ).

### 3.1.3. Histologie

Die histologische Auswertung der im Buridan- und Detour-Experiment getesteten Tiere erfolgte mittels Autofluoreszenz-Frontalschnitten. Die Verhältnisse zwischen wild-typischen (wt) und deformierten Ellipsoid- (Eb) bzw. fächerförmigen Körpern (Fb) sind in Tab.6 und 7 für jeden Versuchsaufbau getrennt aufgetragen. Außerdem wird angegeben, ob einzelne Gehirne mikroskopisch nicht ausgewertet werden konnten (n.a.), weil die Tiere z.B. bereits vor der Gewebefixierung tot waren.

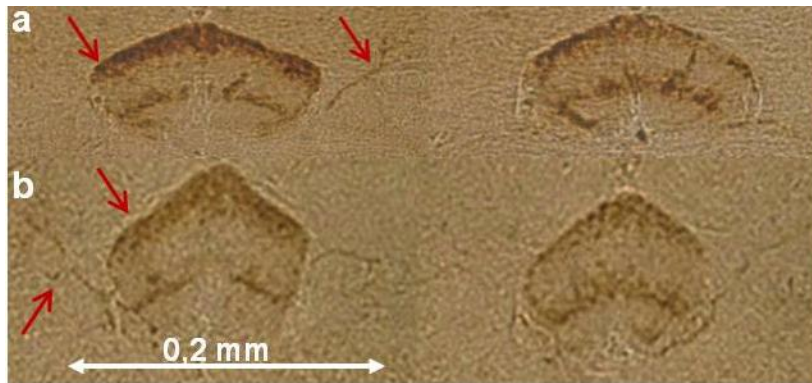
Tab.6 und 7 verdeutlichen, dass es keine Korrelation zwischen der Grobmorphologie und der Ausprägung des Verhaltensphänotyps gibt. Bezüglich des Buridan`schen Paradigmas fällt auf, dass Tiere mit dem Genotyp  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$  zwar häufig Defekte des Eb`s und Fb`s haben, aber im Verhalten keinen Phänotyp zeigen.

**Tab.6: Anatomische Analyse der im Buridan`schen Paradigma getesteten Tiere.**

| Genotyp  | Eb               | Fb               |
|--|------------------|------------------|
|  | wt/mutant ; n.a. | wt/mutant ; n.a. |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$ (heterozygot für WT-B) | 1/5 ; 6          | 3/3 ; 6          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$            | 6/1 ; 5          | 6/0 ; 6          |
| X/Y;+/+;elav+AppI/+                                  | 5/0 ; 7          | 5/0 ; 7          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+$     | 7/2 ; 3          | 5/3 ; 4          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320$        | 5/0 ; 7          | 5/0 ; 7          |
| X/Y;NP2320/+;Or83b/+                                 | 9/0 ; 3          | 10/0 ; 2         |

**Tab.7: Anatomische Analyse der im Detour-Paradigma getesteten Tiere.**

| Genotyp  | Eb               | Fb               |
|--|------------------|------------------|
|  | wt/mutant ; n.a. | wt/mutant ; n.a. |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+$ (heterozygot für WT-B)     | 4/3 ; 3          | 6/2 ; 2          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;+/+;elav+AppI/+$                | 6/0 ; 5          | 5/0 ; 6          |
| X/Y;+/+;elav+AppI/+                                      | 5/0 ; 5          | 5/0 ; 5          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+$         | 7/1 ; 4          | 0/7 ; 5          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320$            | 7/0 ; 5          | 7/0 ; 5          |
| X/Y;NP2320/+;Or83b/+                                     | 6/0 ; 6          | 8/0 ; 4          |
| $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y;;hsp-70-GAL4$ (17,5°C Aufzucht) | 0/7 ; 5          | 4/2 ; 6          |



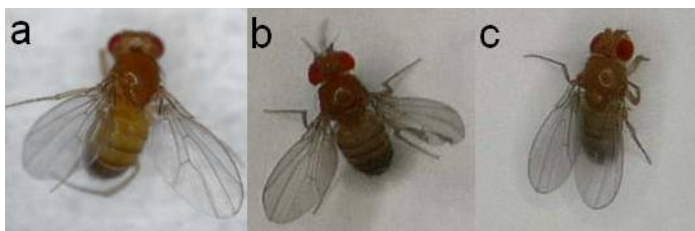
**Abb.17: NP2320-GAL4-Expressionsmuster dargestellt per Antikörperfärbung gegen mCD8:GFP**

**a & b** (Objektträger-Nr. 80, 85, 18.3.2010) Zu sehen sind zwei hintereinander liegende 7µm dünne Frontalschnitte auf Ebene des Fb`s. Man erkennt deutlich die kolumnaren Elemente des Fb`s, außerdem leichte Färbungen in den lateralen Triangeln.

**a** zeigt den Genotyp  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/NP2320, **b** die Kreuzung  $grf^{C31}/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/NP2320.

### 3.1. 4. Flügelphänotyp

Ein weiteres, äußerlich erkennbares Merkmal der  $grf^{C31}$ -Strukturmutante wurde bereits erwähnt (1.8.) und besteht aus einem seitlichen Abspreizen der Flügel (Abb.18b). Bei den Buridan- und Detour-Experimenten wurde festgestellt, dass bei  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ 21 von 25 Fliegen den Flügelphänotyp aufwiesen; bei der Rettungskreuzung  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/NP2320 hingegen 25 von 25 Tiere keine seitlich abstehenden Flügel mehr zeigten (Abb.18a). Daraufhin wurde untersucht, ob ein panneuraler Treiber, in diesem Fall *App1*-GAL4, ebenfalls den Flügelphänotyp retten konnte. Tatsächlich zeigten 43 von 44 Fliegen des Genotyps  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/+;App1/+ keinen abgespreizten Flügel mehr, lediglich ein Tier stellte seine Flügel halbseitlich aus.



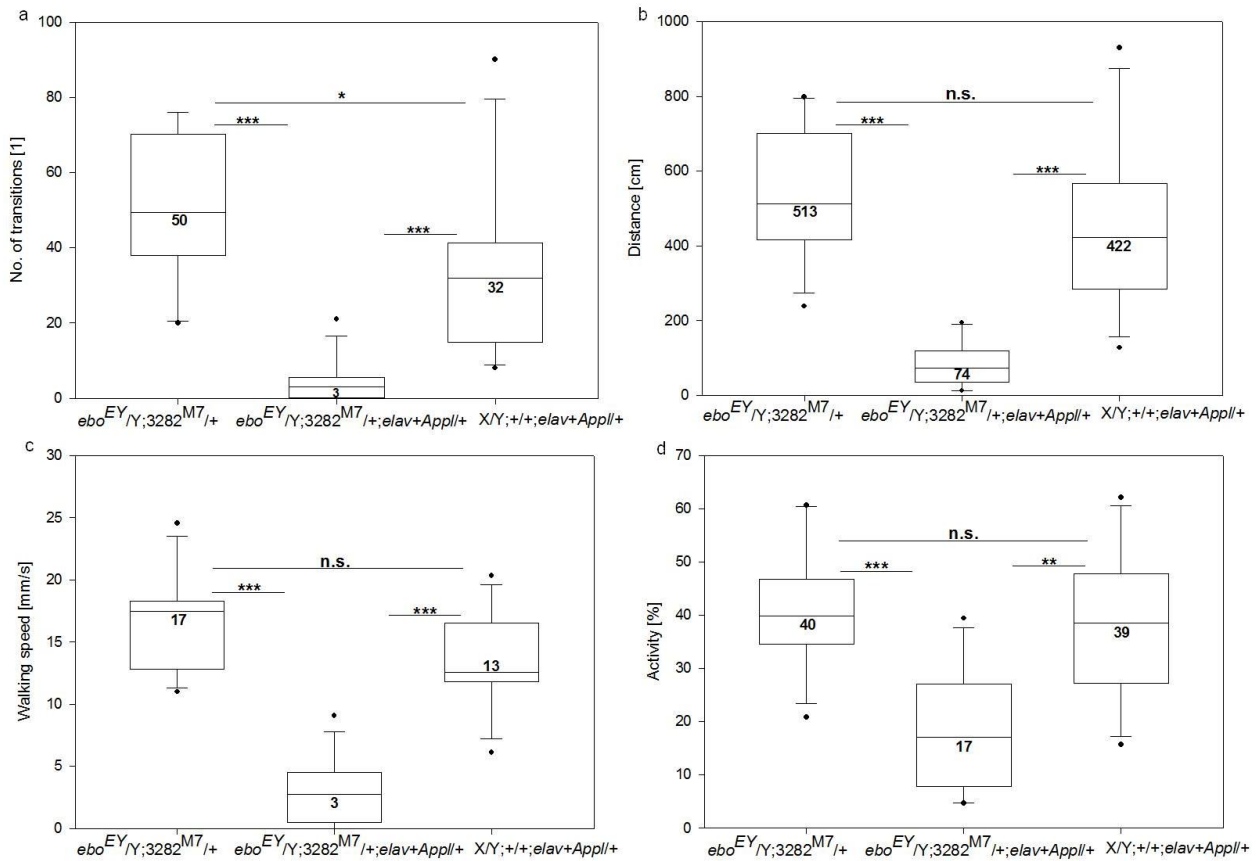
**Abb.18: Adulte Fliegen mit und ohne Flügelphänotyp**

**a** zeigt den Originalphänotyp der abgespreizten Flügel von  $grf^{C31}$ . **b** Man erkennt bei  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ deutlich die seitlich abgespreizten Flügel. **c**  $grf^{C31}$ -UAS- $grf/Y$ ;UAS-mCD8:GFP/NP2320 zeigt keinen Flügelphänotyp mehr.

### 3.1. Das Gen *ellipsoid-body-open*

#### 3.1.1. Ergebnisse des Buridan`schen Paradigmas

Die Analyse des Laufverhaltens im *ebo*-mutanten Hintergrund erfolgte an den drei verschiedenen Allelen *ebo*<sup>678</sup>, *ebo*<sup>KS263</sup> sowie *ebo*<sup>EY</sup> und unter Verwendung des UAS-*ebo*{3282<sup>M7</sup>}-Konstrukts (bei der Genotypbeschreibung als „3282<sup>M7</sup>“ abgekürzt) sowie mittels vier unterschiedlicher GAL4-Linien. Zur ersten panneuralen Untersuchung diente die Treiberlinie *elav+AppI-GAL4*. Die UAS/GAL4-Kreuzung *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;*elav+AppI*+ wurde alternierend mit der Negativkontrolle für den UAS-Stamm und der Positivkontrolle für die GAL4-Linie getestet. Die Negativkontrolle bestand aus dem Genotyp *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+, da Jungfrauen der UAS-Linie mit Männchen des Wildtyps Berlin verpaart wurden. Demnach war diese Kontrolle ebenso wie die UAS/GAL4-Kreuzung auf dem zweiten Chromosom heterozygot, was einen besseren Vergleich zwischen den Genotypen ermöglichen sollte. Die Positivkontrolle entstand ebenfalls durch Kreuzung mit WT-B-Männchen, so dass hier eine Heterozygotie auf dem dritten Chromosom vorlag. Der Genotyp dieser Kontrolle lautet X/Y;+/+;*elav+AppI*+. Die Ergebnisse dieser ersten Untersuchung waren in zweierlei Hinsicht unerwartet. Zunächst fällt auf, dass sich die Negativkontrolle im Buridan`schen Paradigma wildtypisch verhält (Abb.19). Lediglich bezüglich der Anzahl an Übergängen unterscheidet sie sich von der Positivkontrolle, allerdings dahingehend, dass *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ sogar besser ist als X/Y;+/+;*elav+AppI*+. Eine weitere interessante Erkenntnis liefern die Ergebnisse von *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;*elav+AppI*+, da sich diese Kreuzung in jedem der vier Parameter wesentlich schwächer verhält als ihre Kontrollen. Die Anzahl an Übergängen, die Laufdistanz sowie die durchschnittliche Geschwindigkeit sind im Vergleich zu beiden Kontrollen höchst signifikant niedriger. Bezüglich der Aktivität zeigt *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;*elav+AppI*+ eine höchst signifikant geringere Leistung als *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ und eine hoch signifikant niedrigere Aktivität als X/Y;+/+;*elav+AppI*+ (Abb.19). Des Weiteren wird das Laufen bei Tieren des Genotyps *ebo*<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;*elav+AppI*+ häufig durch unregelmäßige und unkontrollierte Sprungsequenzen unterbrochen.



**Abb.19: Laufverhaltensanalyse im Buridan'schen Paradigma bei Rettungsversuchen mit *ebo<sup>EY</sup>/+;3282<sup>M7</sup>/+***

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test, N= 12 für alle Gruppen. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A8.

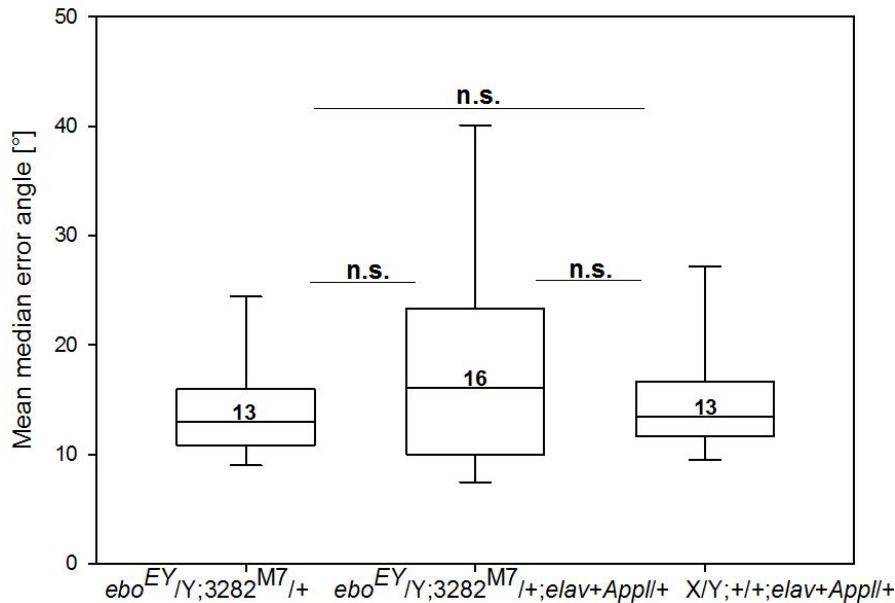
**a** *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+* (mit WT-B gekreuzt) verhält sich bezüglich der Anzahl an Übergängen signifikant verschieden zur Kontrolle der GAL4-Linie, *X/Y;+/+;elav+AppII+* ( $p = 0,026$ ) und höchst signifikant verschieden zum Genotyp *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppII+* ( $p < 0,001$ ). *X/Y;+/+;elav+AppII+* verhält sich im Vergleich zu *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppII+* ebenfalls höchst signifikant verschieden ( $p < 0,001$ ).

**b** Die Laufdistanz betreffend ist kein signifikanter Unterschied zwischen *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+* und *X/Y;+/+;elav+AppII+* erkennbar ( $p = 0,141$ ). Allerdings ist die zurückgelegte Strecke von *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppII+* höchst signifikant geringer als die von *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+* ( $p < 0,001$ ) und *X/Y;+/+;elav+AppII+* ( $p < 0,001$ ).

**c** Die durchschnittliche Laufgeschwindigkeit der Negativkontrolle *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+* ist nicht signifikant unterschiedlich zu der von *X/Y;+/+;elav+AppII+* ( $p = 0,065$ ). Erneut ist festzustellen, dass die Leistung des Genotyps *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppII+* im Vergleich zu *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+* und *X/Y;+/+;elav+AppII+* höchst signifikant schlechter ist ( $p < 0,001$  bei beiden Tests).

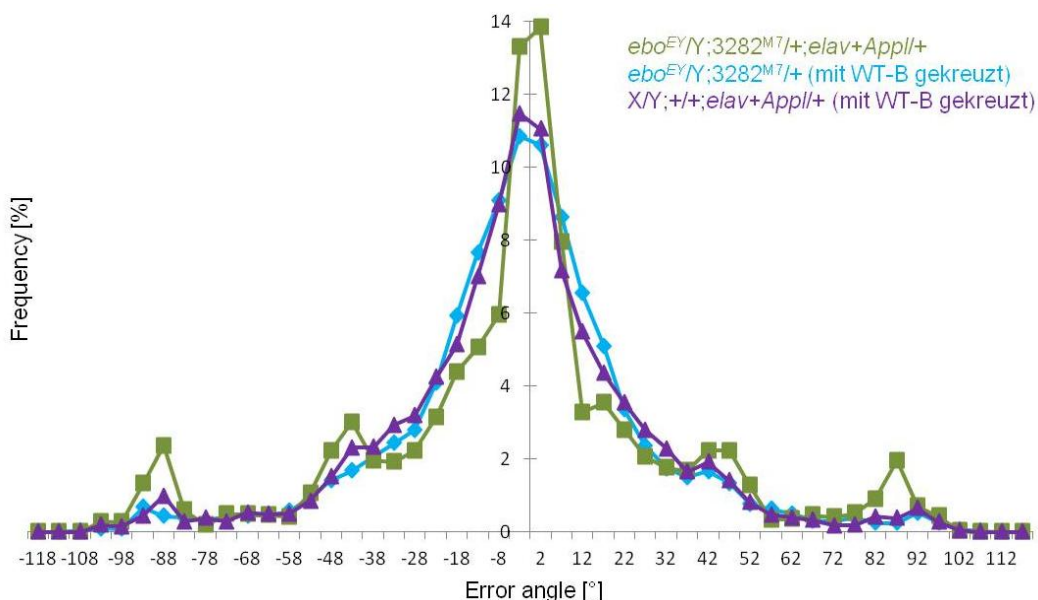
**d** Die Aktivität von *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+* ist nicht signifikant unterschiedlich zu der von *X/Y;+/+;elav+AppII+* ( $p = 0,564$ ), hingegen höchst signifikant größer als bei *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppII+* ( $p < 0,001$ ). *ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppII+* zeigt eine hoch signifikant geringere Aktivität als *X/Y;+/+;elav+AppII+* ( $p = 0,003$ ).

Die Daten der Orientierungsleistung aller drei Genotypen sind auf demselben statistischen Niveau. Der mittlere mediane Fehlerwinkel von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+$  liegt bei  $14^\circ$ , von  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  bei  $15^\circ$  und von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  bei  $19^\circ$  (Abb.20). Abb.21 zeigt ebenfalls diese eindeutig wildtypische Orientierung.



**Abb.20: Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma**

Die mittleren medianen Fehlerwinkel aller drei Genotypen sind nicht signifikant verschieden voneinander (von links nach rechts:  $p = 0,544$ ,  $p = 0,507$ ,  $p = 0,795$ ) (Datensatz wie Abb.19;  $N = 12$  für alle Gruppen, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test; Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A9).



**Abb.21: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan`schen Paradigma**

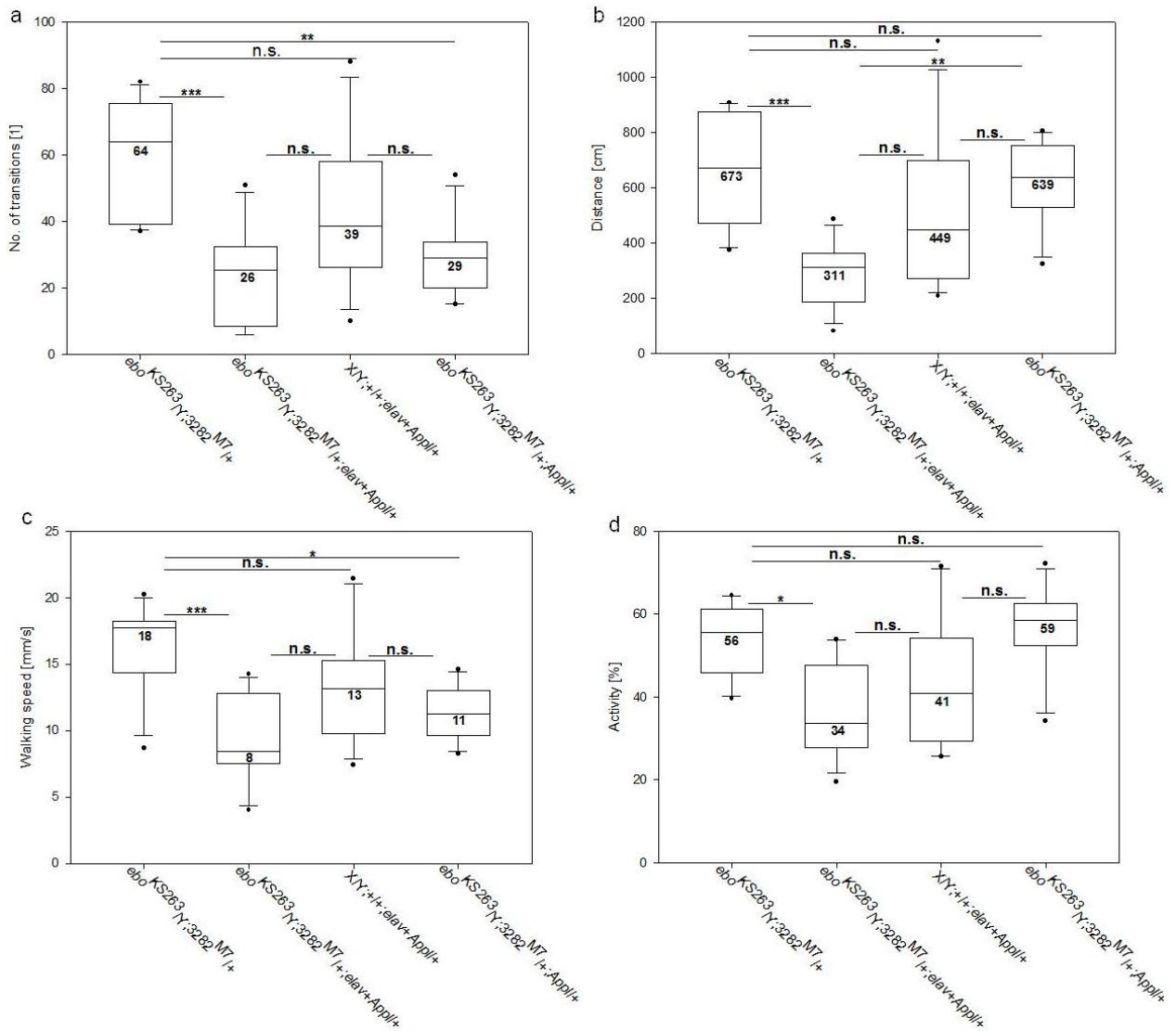
Es ist deutlich zu erkennen, dass sowohl die Negativkontrolle  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+$  als auch die Kontrolle der GAL4-Linie  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  eine extrem ähnliche Verteilung in der Orientierung aufweisen. Sie verhalten sich bezüglich ihrer Orientierungsmaxima wildtypisch.  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  verhält

sich ebenfalls wildtypisch bezüglich seiner Orientierung auf eine Landmarke hin. Allerdings liegt hier das Orientierungsmaximum etwas höher bei ca. 13,6% (Datensatz wie in Abb.19; N= 12 für alle Gruppen, Mittelwertdarstellung).

Aufgrund der unvermuteten Ergebnisse wurden ein zweites Mal die vergleichbaren Kreuzungsexperimente durchgeführt, nun allerdings mit der UAS-Linie  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ , die ein anderes Defekt-Allel des *ebo* Gens beinhaltet. Erneut gab es eine Negativ- sowie Positivkontrolle, welche durch Kreuzungen mit WT-B hergestellt wurden. Des Weiteren wurde zusätzlich eine Kreuzung im  $ebo^{KS263}$ -mutanten Hintergrund mit der panneuralen Treiberlinie *AppI*-GAL4 untersucht. Die Resultate dieser Experimente sind den vorangegangenen sehr ähnlich. Die eigentliche Negativkontrolle  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$  zeigt wieder keinen auffälligen Verhaltensphänotyp und verhält sich in keinem der getesteten Parameter signifikant verschieden zur Positivkontrolle  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  (Abb.22). Zudem zeigt auch  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  im Vergleich zum Genotyp  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$  signifikant bis höchst signifikant schlechtere Leistungen in den vier Laufparametern und erneut die bereits bei  $ebo^{EY}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  beschriebenen Sprungsequenzen. Im Vergleich zur Kontrolle  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Bei Betrachtung der Ergebnisse von  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  fällt auf, dass sie in Bezug auf die Anzahl an Übergängen und die Geschwindigkeit signifikant bis hoch signifikant schlechter als  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$  sind (Abb.22). Lediglich die Distanz sowie die Aktivität sind nicht signifikant verschieden zu den Daten von  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ . Demnach erfolgte auch hier durch die panneurale Expression von UAS- $ebo\{3282^{M7}\}$  eine Verschlechterung der untersuchten Laufparameter mit Ausnahme der Laufdistanz und Aktivität.

Die Orientierungsleistung im Buridan'schen Paradigma betreffend verhalten sich  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ ,  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  und  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  wildtypisch und weisen untereinander keine signifikanten Unterschiede bezüglich ihres mittleren medianen Fehlerwinkels auf (Abb.23).  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  hingegen zeigt eine schwache Orientierungsleistung und hat einen mittleren medianen Fehlerwinkel von 29°, womit letzterer sich hoch bis höchst signifikant von denen der anderen drei Genotypen unterscheidet (Abb.23). Die Häufigkeit, ein Objekt mit 0° Fehlerwinkel anzulaufen, ist mit ca. 5% bei  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  im Vergleich zu den anderen getesteten Genotypen stark herabgesetzt (Abb.24).





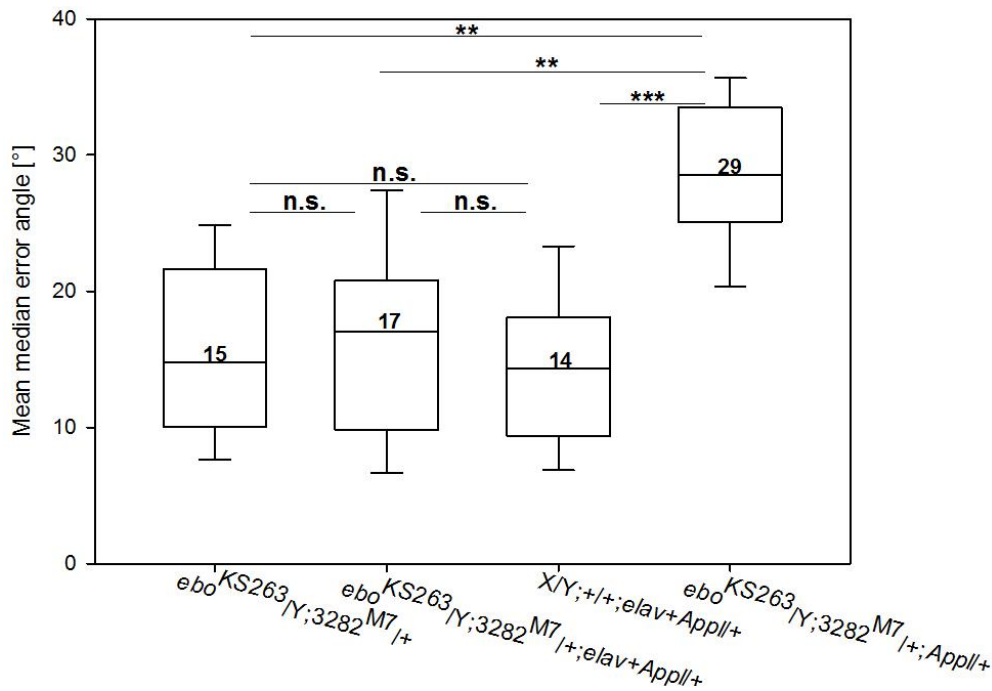
**Abb.22: Laufverhaltensanalyse im Buridan'schen Paradigma bei Rettungsversuchen mit *ebo<sup>KS263</sup>/+;3282<sup>M7</sup>/+***

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, Korrektur auf Mehrfachtestung mittels Kruskal-Wallis-Test, N= 11-12. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A10.

**a-d** p-Werte s. Tab.8

Tab.8: p-Werte des Kruskal-Wallis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.22

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)   | Irrtumswahrscheinlichkeit p |        |        |
|--|-----------------------------|--------|--------|
|  | 1                           | 2      | 3      |
| Test gegen Gruppe:<br><b>a) No. of transitions</b>                       |                             |        |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> (1) (N= 12) |                             |        |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+</i> (2) (N= 12)             | <0,001                      |        |        |
| <i>X/Y;+/+;elav+AppI/+</i> (3) (N= 12)                                   | 0,124                       | 0,430  |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI/+</i> (4) (N= 11)      | ≈1,000                      | 0,003  | 0,510  |
| <b>b) Distance</b>   | 1                           | 2      | 3      |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> (1) (N= 12) |                             |        |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+</i> (2) (N= 12)             | <0,001                      |        |        |
| <i>X/Y;+/+;elav+AppI/+</i> (3) (N= 12)                                   | 0,240                       | 0,231  |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI/+</i> (4) (N= 11)      | 0,003                       | ≈1,000 | 0,838  |
| <b>c) Walking speed</b>  | 1                           | 2      | 3      |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> (1) (N= 12) |                             |        |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+</i> (2) (N= 12)             | <0,001                      |        |        |
| <i>X/Y;+/+;elav+AppI/+</i> (3) (N= 12)                                   | 0,129                       | 0,573  |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI/+</i> (4) (N= 11)      | ≈1,000                      | 0,038  | ≈1,000 |
| <b>d) Activity</b>   | 1                           | 2      | 3      |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> (1) (N= 12) |                             |        |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+</i> (2) (N= 12)             | 0,016                       |        |        |
| <i>X/Y;+/+;elav+AppI/+</i> (3) (N= 12)                                   | ≈1,000                      | 0,318  |        |
| <i>ebo<sup>KS263</sup>/y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI/+</i> (4) (N= 11)      | 0,003                       | ≈1,000 | 0,091  |

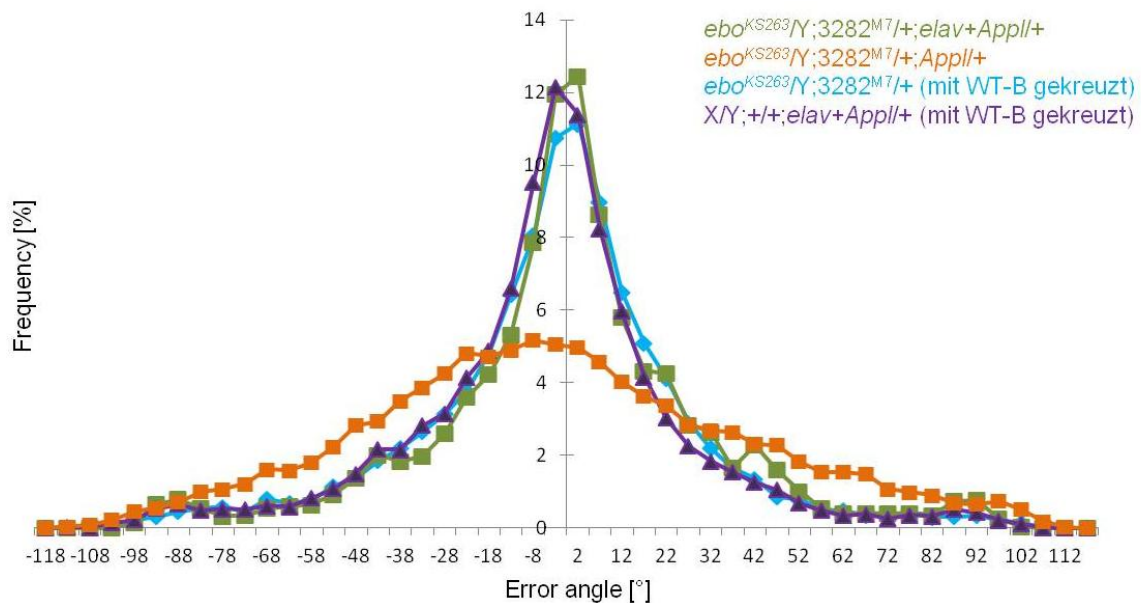


**Abb.23: Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma**

Die mittleren medianen Fehlerwinkel der Genotypen  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ ,  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  und  $X/Y;+/+;elav+AppI/+$  sind alle nicht signifikant verschieden voneinander (p-Werte s. Tab.9). Allerdings unterscheidet sich der mittlere mediane Fehlerwinkel von  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  hoch bis höchst signifikant von allen drei anderen Genotypen (s. Tab.9) (N= 11-12, Kruskal-Wallis-Test; Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A11).

**Tab.9: p-Werte des Kruskal-Wallis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.23**

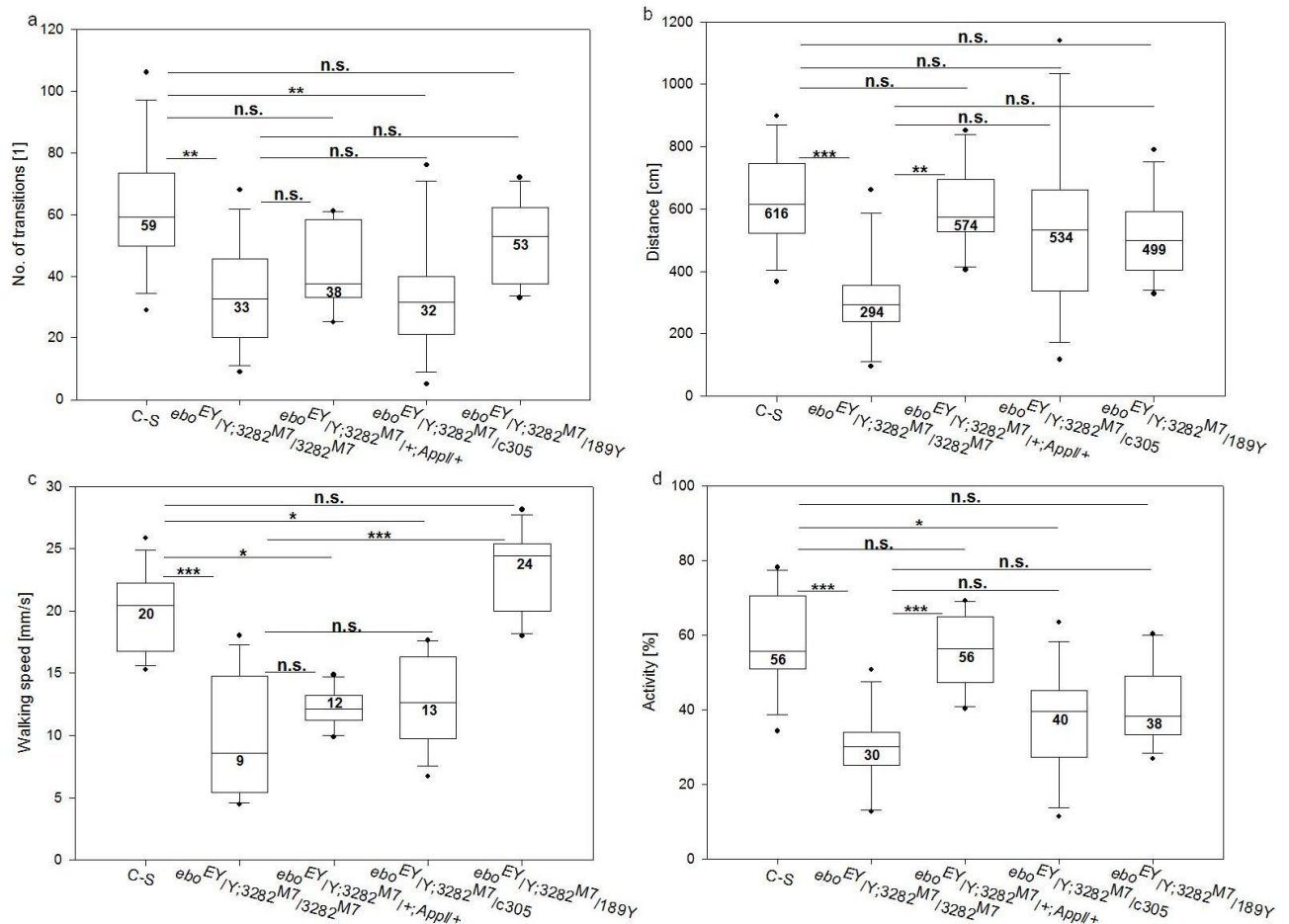
| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)                      | Irrtumswahrscheinlichkeit p    |        |        |
|---|--------------------------------|--------|--------|
|   | Test gegen Gruppe: Orientation |        |        |
|   | 1                              | 2      | 3      |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$ (1) (N= 12) |                                |        |        |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ (2) (N= 12)             | ≈1,000                         |        |        |
| $X/Y;+/+;elav+AppI/+$ (3) (N= 12)                   | ≈1,000                         | ≈1,000 |        |
| $ebo^{KS263}/y;3282^{M7}/+;AppI/+$ (4) (N= 11)      | 0,002                          | 0,002  | <0,001 |



**Abb.24: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan'schen Paradigma**

Die Genotypen  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ ,  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$  sowie  $X/Y,+/+;elav+AppI/+$  weisen beinahe identische Verteilungen bezüglich ihrer Orientierung auf, ihre Orientierungsmaxima liegen alle bei einem Fehlerwinkel von ca.  $0^\circ$ . Ausschließlich  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  zeigt keine wildtypische Verteilung. Letztere ist gestaucht und hat seinen Maximalwert zwar ebenfalls bei ca.  $0^\circ$  Fehlerwinkel, allerdings beträgt dieser lediglich etwa 5% (Datensatz wie in Abb.22; N= 11-12, Mittelwertdarstellung).

Da bei den beiden ersten Experimentdurchläufen keine der verwendeten UAS-Linien einen Verhaltensdefekt im Buridan'schen Paradigma aufwiesen, wurde eine weitere Versuchsreihe angesetzt, bei der keine Kreuzung des UAS-Stamms mit WT-B erfolgte. Somit wurde der genetische Hintergrund der UAS-Linie nicht noch mehr verändert als er im Vergleich zu den Strukturmutanten  $ebo^{EY}$  und  $ebo^{KS263}$  bereits war. Die Vermutung, dass der genetische Hintergrund wichtig für die Ausprägung des Verhaltensphänotyps sein könnte, beruhte auf dem Wissen, dass die Strukturmutanten  $ebo^{KS263}$  sowie  $ebo^{678}$  mit dem genetischen Hintergrund WT-B eine verringerte Laufgeschwindigkeit im Buridan'schen Paradigma zeigten.  $ebo^{KS263}$  wies zudem eine konstant abfallende Laufaktivität auf (STRAUSS & HEISENBERG, 1993). Demnach bestand die dritte Versuchsreihe aus der Negativkontrolle  $ebo^{EY}/Y;3282^{M7}/3282^{M7}$ , der Positivkontrolle männlicher C-S-Fliegen sowie Kreuzungen des UAS-Stamms mit den GAL4-Treiberlinien *AppI*, *c305* und *189Y*. Die beiden letztgenannten GAL4-Linien haben für den Ellipsoidkörper spezifische Expressionsmuster (Tab.4). Die Ergebnisse sind in Abb.25 dargestellt.



**Abb.25: Laufverhaltensanalyse im Buridan'schen Paradigma bei Rettungsversuchen mit  $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/3282^{M7}}$**

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, Korrektur auf Mehrfachtestung mittels Kruskal-Wallis-Test, N= 10-12. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A12.

**a-d** p-Werte s. Tab.10

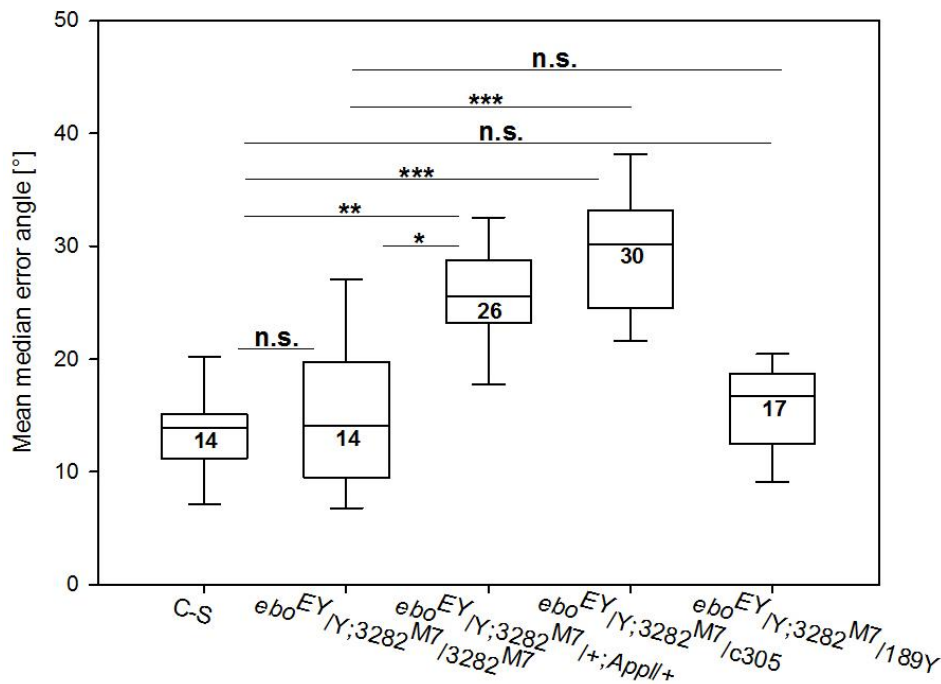
Tab.10: p-Werte des Kruskal-Wallis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.25

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)  | Irrtumswahrscheinlichkeit p |        |        |        |
|---|-----------------------------|--------|--------|--------|
|   | 1                           | 2      | 3      | 4      |
| Test gegen Gruppe:<br><b>a) No. of transitions</b>                        |                             |        |        |        |
| C-S (1) (N= 12)   |                             |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup></i> (2) (N= 12) | 0,005                       |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/c305</i> (3) (N= 12)              | 0,010                       | ≈1,000 |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/189Y</i> (4) (N= 11)              | ≈1,000                      | 0,111  | 0,203  |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI+</i> (5) (N= 10)           | 0,332                       | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |
| <b>b) Distance</b>  | 1                           | 2      | 3      | 4      |
| C-S (1) (N= 12)   |                             |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup></i> (2) (N= 12) | 0,001                       |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/c305</i> (3) (N= 12)              | ≈1,000                      | 0,061  |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/189Y</i> (4) (N= 11)              | ≈1,000                      | 0,097  | ≈1,000 |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI+</i> (5) (N= 10)           | ≈1,000                      | 0,004  | ≈1,000 | ≈1,000 |
| <b>c) Walking speed</b>   | 1                           | 2      | 3      | 4      |
| C-S (1) (N= 12)   |                             |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup></i> (2) (N= 12) | 0,001                       |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/c305</i> (3) (N= 12)              | 0,016                       | ≈1,000 |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/189Y</i> (4) (N= 11)              | ≈1,000                      | <0,001 | <0,001 |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI+</i> (5) (N= 10)           | 0,011                       | ≈1,000 | ≈1,000 | <0,001 |
| <b>d) Activity</b>  | 1                           | 2      | 3      | 4      |
| C-S (1) (N= 12)   |                             |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup></i> (2) (N= 12) | <0,001                      |        |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/c305</i> (3) (N= 12)              | 0,021                       | ≈1,000 |        |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/189Y</i> (4) (N= 11)              | 0,074                       | 0,618  | ≈1,000 |        |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;AppI+</i> (5) (N= 10)           | ≈1,000                      | <0,001 | 0,047  | 0,145  |

Der Genotyp  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  weist im Vergleich zu C-S in allen vier Laufparametern hoch bis höchst signifikant niedrigere Werte auf, d.h., er ist tatsächlich als Negativkontrolle der UAS-Linie zu verstehen (Abb.25). Bei Betrachtung der Daten von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;AppI/+$  fällt auf, dass die Distanz sowie die Aktivität hoch bzw. höchst signifikant gesteigert sind im Vergleich zur Negativkontrolle und nicht signifikant verschieden zu C-S erscheinen (Abb.25). Aufgrund der verminderten Geschwindigkeit, welche nicht signifikant verschieden zu  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  ist, kann auch ein Verhaltensdefizit bezüglich der Anzahl an Übergängen festgestellt werden (Abb.25). Die Kreuzung der UAS-Linie mit c305-GAL4 unterscheidet sich in keinem der getesteten Laufparameter und konnte daher den Verhaltensphänotyp nicht retten (Abb.25). Anders lassen sich die Ergebnisse von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  lesen. Bezüglich der Anzahl an Übergängen, der Distanz und der Aktivität besteht ein intermediärer Phänotyp, d.h., die Daten dieser drei Parameter sind zwar nicht signifikant verschieden zu den wildtypischen Vergleichsdaten, aber auch nicht zu den Ergebnissen der Negativkontrolle (Abb.25, Tab.10). Die verminderte Laufgeschwindigkeit von  $ebo^{EY}$  konnte allerdings durch die Verwendung von 189Y-GAL4 auf ein wildtypisches Niveau angehoben werden (Abb.25).

Die Orientierung von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  ist nicht beeinträchtigt und ihre mittleren medianen Fehlerwinkel unterscheiden sich nicht signifikant von dem wildtypischen (Abb.26). Die anderen zwei Genotypen  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$  und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7};AppI/+$  unterscheiden sich signifikant bis höchst signifikant sowohl von C-S als auch von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  (Abb.26, Tab.11) und sind damit nicht wildtypisch.

Die Orientierungsverteilungen von  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  erscheinen wildtypisch, wohingegen die Genotypen  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;AppI/+$  und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$  eine Landmarke nur zu ca. 5% mit einem Fehlerwinkel von  $0^\circ$  anlaufen (Abb.27).



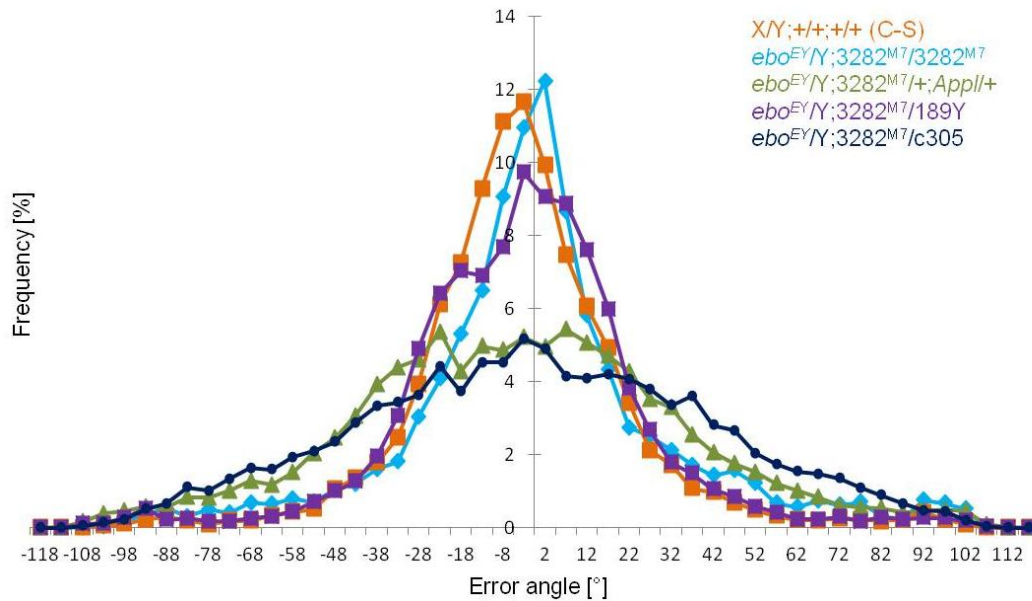
**Abb.26: Orientierungsleistung im Buridan'schen Paradigma**

Die mittleren medianen Fehlerwinkel der männlichen C-S-Fliegen mit 14°,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  mit 15° sowie  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  mit 16° sind nicht signifikant verschieden voneinander (p-Werte s. Tab.10). Die Genotypen  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;AppII+$  und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$  hingegen haben mit 26° bzw. 30° keine wildtypischen mittleren medianen Fehlerwinkel und unterscheiden sich damit hoch bis höchst signifikant von C-S (p-Werte s. Tab.11) (Datensatz wie in Abb.25; N= 10-12, Kruskal-Wallis-Test; Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A13).

**Tab.11: p-Werte des Kruskal-Wallis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.26**

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)               | Irrtumswahrscheinlichkeit p |        |        |       |
|--|-----------------------------|--------|--------|-------|
|  | 1                           | 2      | 3      | 4     |
| Test gegen Gruppe:<br><b>Orientation</b>     |                             |        |        |       |
| C-S (1) (N= 12)                              |                             |        |        |       |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$ (2) (N= 12) | ≈1,000                      |        |        |       |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$ (3) (N= 12)      | <0,001                      | <0,001 |        |       |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$ (4) (N= 11)      | ≈1,000                      | ≈1,000 | 0,001  |       |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;AppII+$ (5) (N= 10)  | 0,002                       | 0,011  | ≈1,000 | 0,028 |

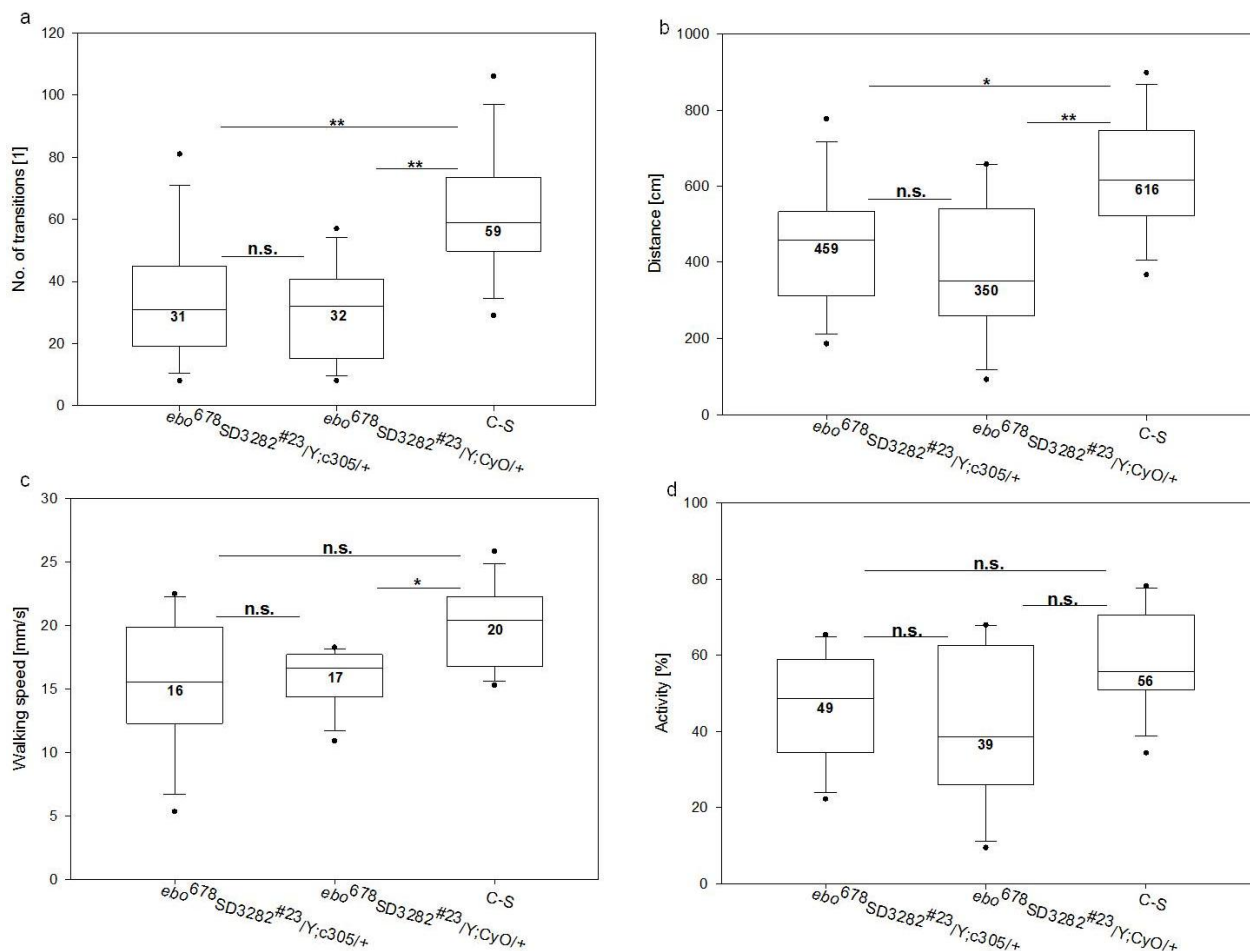




**Abb.27: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan'schen Paradigma**

C-S,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$  und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  unterscheiden sich kaum in der Verteilung ihrer Orientierung.  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;Appl/+$  sowie  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$  weisen eine extrem gestauchte Orientierungsverteilung auf, so dass ihre Häufigkeiten, ein Objekt mit  $0^\circ$  Fehlerwinkel anzulaufen, lediglich bei etwa 5% liegen (Datensatz wie in Abb.25; N= 10-12, Mittelwertdarstellung).

Zur Vervollständigung der Daten wurde ein weiteres Kreuzungsexperiment mit dem  $ebo$ -Allel  $ebo^{678}$  unter Verwendung des  $UAS-ebo\{SD3282^{#23}\}$ -Konstrukts durchgeführt. Dieses UAS-Konstrukt unterscheidet sich von  $UAS-ebo\{3282^{M7}\}$  lediglich darin, dass letzteres auf dem zweiten und  $UAS-ebo\{SD3282^{#23}\}$  auf dem ersten Chromosom liegt. Beide Konstrukte beinhalten die gleiche und längste cDNA von  $ebo$ . Für das Experiment im Buridan'schen Paradigma wurde die UAS-Linie  $ebo^{678}SD3282^{#23}/FM7a$  mit  $c305-GAL4/CyO$  gekreuzt, so dass zwei zu testende Genotypen aus einer Kreuzung entstanden; einerseits die Negativkontrolle  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$ , andererseits die vermeintliche Rettungskreuzung  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$ . Als wildtypischer Vergleich diente C-S. Die Ergebnisse zeigten, dass sich  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$  zwar bezüglich der Aktivität nicht signifikant verschieden zu C-S verhält, allerdings eine signifikant niedrigere Laufdistanz zurücklegt, signifikant langsamer läuft und hoch signifikant weniger Übergänge absolviert (Abb.28).  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$  verhält sich in allen vier Parametern nicht signifikant verschieden zu seiner Negativkontrolle, erreicht aber einen intermediären Phänotyp bezüglich der Laufgeschwindigkeit (Abb.28). Die Übergangszahl und die Laufdistanz bleiben defizient.



**Abb.28: Laufverhaltensanalyse im Buridan'schen Paradigma bei *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+***

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 12 für alle Gruppen, Korrektur auf Mehrfachtestung mittels Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A14.

**a** *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* unterscheidet sich bezüglich der Übergangszahl nicht signifikant von *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+* ( $p= 1,000$ ). Die wildtypische Kontrolle C-S hingegen ist sowohl zu *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+* als auch zu *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* hoch signifikant verschieden ( $p= 0,001$  und  $p= 0,005$ ).

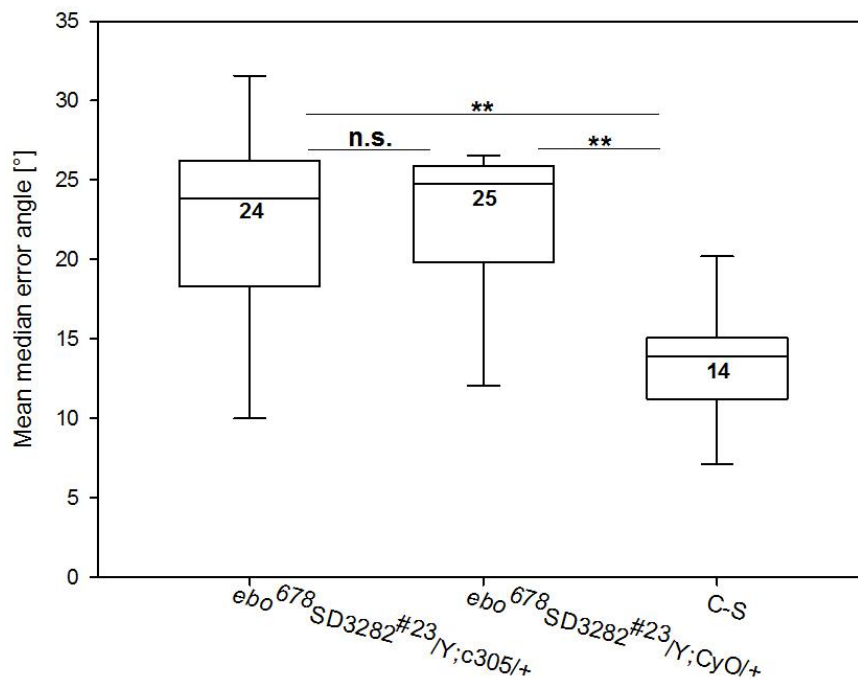
**b** Auch in Bezug auf die Distanz zeigen *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* und *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+* keinen signifikanten Unterschied zueinander ( $p= 1,000$ ). Der Wildtyp hingegen legte eine hoch signifikant größere Strecke zurück als *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+* ( $p= 0,005$ ) und eine signifikant größere als *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* ( $p=0,035$ ).

**c** Die Geschwindigkeit von *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+* ist zwar nicht signifikant verschieden zu der von *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* ( $p=1,000$ ), aber signifikant niedriger als die wildtypische Geschwindigkeit ( $p=0,031$ ). C-S und *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* sind statistisch betrachtet nicht signifikant verschieden voneinander ( $p=0,050$ ).

**d** Die Aktivität von *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+* unterscheidet sich weder signifikant vom Aktivitätsniveau bei *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* ( $p=1,000$ ) noch bei C-S ( $p=0,060$ ). Auch die Ergebnisse von *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+* sind nicht signifikant verschieden zu den wildtypischen ( $p= 0,234$ ).

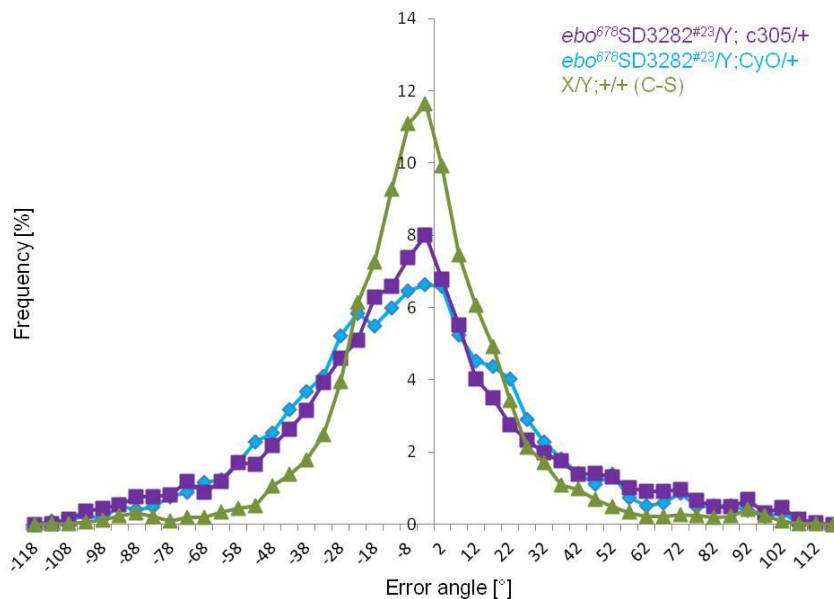
Die Orientierungsleistung ist bei  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$  eingeschränkt, d.h., dass dieser Genotyp einen mittleren medianen Fehlerwinkel von  $22^\circ$  aufweist, der damit hoch signifikant höher ist als der von C-S mit  $14^\circ$  (Abb.29).  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$  unterscheidet sich nicht in seinem mittleren medianen Fehlerwinkel von der Negativkontrolle, dafür aber ebenfalls hoch signifikant von C-S. Des Weiteren zeigt Abb.30, dass sowohl  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$  als auch  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$  wesentlich seltener als C-S ein Objekt mit einem Fehlerwinkel von  $0^\circ$  anlaufen. C-S weist hier einen Wert von etwa 11% auf,  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$  liegt bei ca. 6,5% und  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$  erreicht 7,5%.

Somit wurde gezeigt, dass die  $ebo^{678}$ -Mutationslinie in einem bestimmten genetischen Hintergrund Verhaltensphänotypen im Buridan`schen Paradigma aufweist und diese zum Teil durch eine panneurale Expression mittels *AppI*-GAL4 sowie durch die Ellipsoidkörper-spezifischen Treiberlinien 189Y- und c305-GAL4 gerettet bzw. verbessert werden können.



**Abb.29: Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma**

Sowohl der mittlere mediane Fehlerwinkel von  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$  als auch der von  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$  sind hoch signifikant größer als der des wildtypischen Vergleichs ( $p= 0,005$  und  $p= 0,009$ ). Untereinander verhalten sich die mittleren medianen Fehlerwinkel der Rettungskreuzung sowie der Negativkontrolle nicht signifikant verschieden zueinander ( $p= 1,000$ ) (Datensatz wie in Abb.28;  $N= 12$  für alle Gruppen, Kruskal-Wallis-Test; Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A15.)

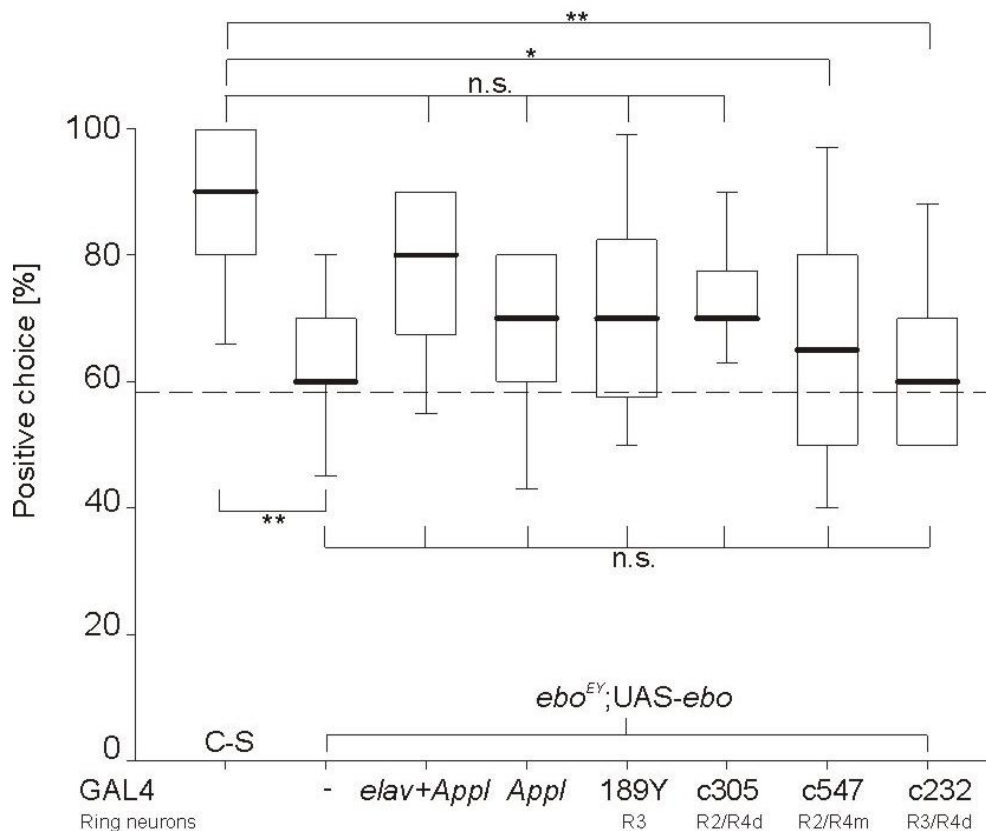


**Abb.30: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan'schen Paradigma**

Alle Genotypen zeigen ein Orientierungsmaximum bei etwa 0° Fehlerwinkel. Dennoch sind Unterschiede in den Verteilungen festzustellen. C-S hat mit ca. 11,8% die größte Frequenz, ein Objekt direkt anzulaufen. *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+ zeigen hierbei eine Frequenz von 8% und bei Fehlerwinkeln bis etwa -80° und 80° eine größere Häufigkeit, mit diesen eine Landmarke anzulaufen, als der Laborwildtyp. *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO/+ verhält sich ähnlich wie *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+, mit der Ausnahme, dass die Häufigkeit, ein Objekt perfekt anzulaufen bei ca. 6,5% liegt (Datensatz wie in Abb.28; N= 12 für alle Gruppen, Mittelwertdarstellung).

### 3.1.2. Mit dem Detour-Paradigma erzielte Ergebnisse

Es wurde versucht, das räumliche Orientierungsgedächtnis im *ebo*-mutanten Hintergrund mittels verschiedener GAL4-Linien zu retten. Hierzu wurden sowohl panneurale als auch Gewebe-spezifische Expressionsmuster verwendet. Die Experimente erfolgten mit den bezüglich der *ebo*-Allele verschiedenen UAS-Linien *ebo*<sup>EY</sup>/FM7a;3282<sup>M7</sup>/CyO, *ebo*<sup>KS263</sup>/FM7a;3282<sup>M7</sup>/CyO und *ebo*<sup>678</sup>/FM7a;;3282<sup>M5</sup>/TM3, Sb. Des Weiteren wurden hierbei zwei verschiedene UAS-*ebo*-Konstrukte verwendet, UAS-*ebo*{3282<sup>M7</sup>} sowie UAS-*ebo*{3282<sup>M5</sup>}. Diese Konstrukte unterscheiden sich jedoch ausschließlich in ihrer Position, da UAS-*ebo*{3282<sup>M7</sup>} auf dem zweiten und UAS-*ebo*{3282<sup>M5</sup>} auf dem dritten Chromosom liegt.



**Abb.31: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=10-15, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Kruskal-Wallis-Test. Mediane von links nach rechts in Prozent: 90, 60, 80, 70, 70, 70, 65, 60. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A16.

C-S-Fliegen verhalten sich mit einem Median von 90% höchst signifikant unterschiedlich zum Zufallslevel ( $p < 0,001$ ) und hoch signifikant verschieden zur Negativkontrolle  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+}$  mit 60%, welche ihrerseits nicht signifikant unterschiedlich zum Zufallsniveau ist ( $p = 0,113$ ). Ebenfalls nicht signifikant verschieden, jedoch im Vergleich zur Negativkontrolle, verhalten sich alle vermeintlichen Rettungskreuzungen ( $p$ -Werte s. Tab.12). Bei Betrachtung der Vergleiche mit C-S fällt jedoch auf, dass es vier Genotypen gibt, die sich nicht signifikant verschieden zu C-S verhalten. Diese sind  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+};elav+Appl/+$  mit einem Median von 80%,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+};Appl/+$  mit 70%,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  mit 70%,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$  auch mit 70%. Selbige Genotypen liegen statistisch betrachtet nicht auf dem Zufallslevel von 58%.  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+};elav+Appl/+$  hat im Vergleich zu Letzterem einen  $p$ -Wert von  $< 0,001$ ,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+};Appl/+$  von 0,034,  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$  von 0,035 und  $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$  von 0,001. Somit konnten durch die Kreuzung im  $ebo$ -mutanten Hintergrund mittels *elav+Appl*-, *Appl*-, 189Y- und c305-GAL4 intermediäre Phänotypen das Orientierungsgedächtnis betreffend hervorgerufen werden.  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+};c547/+$  sowie  $ebo^{EY/Y};3282^{M7/+};c232/+$  hingegen haben einen Median von 65% bzw. 60% und sind sowohl nicht signifikant verschieden zum Zufallsniveau als auch signifikant bzw. hoch signifikant verschieden zur Positivkontrolle C-S ( $p$ -Werte s. Tab.12).

Betrachtet man die Ergebnisse sämtlicher Kreuzungen im  $ebo^{EY}$ -mutanten Hintergrund anhand Abb.31, ist festzustellen, dass es bei keiner Kreuzung im Vergleich zur

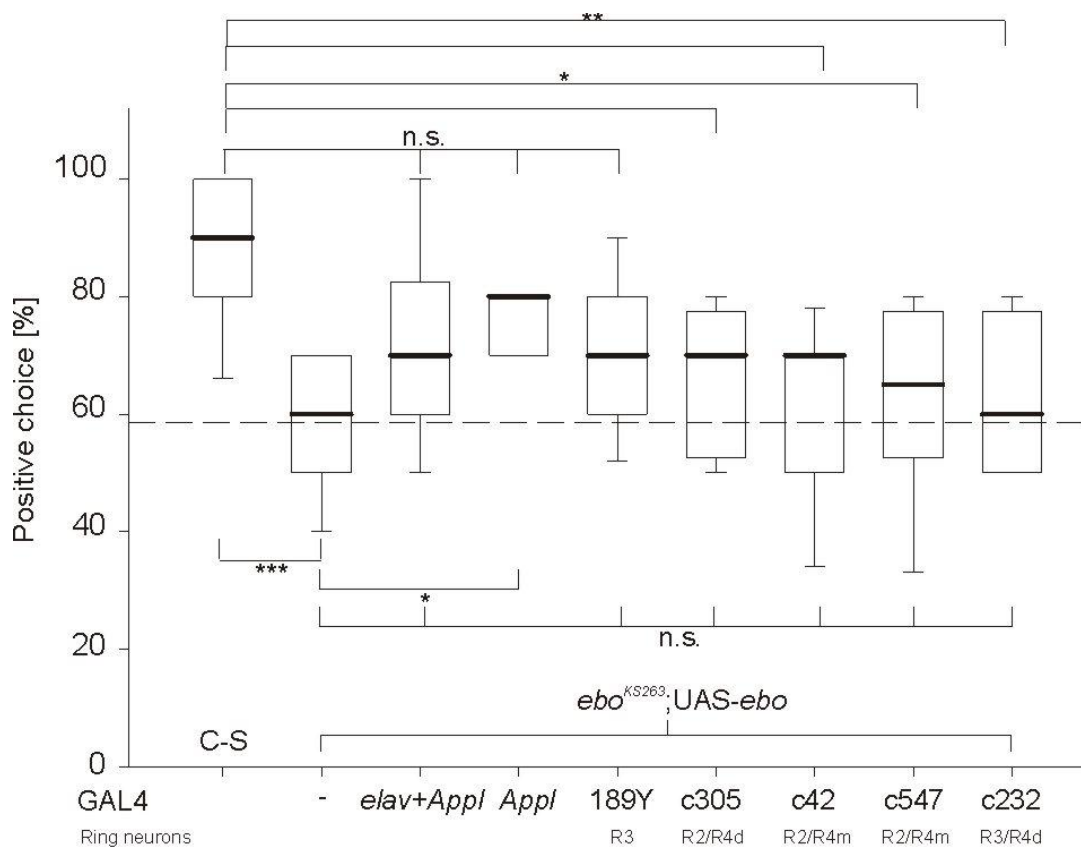
Negativkontrolle  $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+}$  (mit WT-B verpaart s. 3.1.1.), zu einer signifikanten Verbesserung des Verhaltensphänotyps kommt. Allerdings befinden sich die Kreuzungen mittels  $elav+AppI-$ ,  $AppI-$ , 189Y- und c305-GAL4 statistisch gesehen auf demselben Niveau wie C-S und sind nicht signifikant verschieden von Letzterem (s. Tab.12). Des Weiteren sind die vier genannten Kreuzungen ebenfalls signifikant bis höchst signifikant unterschiedlich zum Zufallsniveau (s. Tab.12), weshalb die Expression des wildtypischen UAS- $ebo$ -Konstrukts via  $elav+AppI-$ ,  $AppI-$ , 189Y- und c305-GAL4 eine Rettung des Verhaltensphänotyps des Detour-Paradigmas im  $ebo^{EY}$ -mutanten Hintergrund ermöglicht. Die Treiberlinien c547- und c232-GAL4 riefen keine Verbesserung des Detour-Phänotyps hervor.

Tab.12: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.31

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)                      | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Genotypen |        |        |        |        |        |        | p gegen Zufall |
|---|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
|   | 1  | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      |                |
| Test gegen Gruppe:                                  | 1  | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 58%            |
| C-S (1)<br>(N= 15)                                  |  |        |        |        |        |        |        | <0,001         |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+}$ (x WT-B) (2)<br>(N= 14)    | 0,002  |        |        |        |        |        |        | 0,113          |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+}$<br>(3) (N= 14) | ≈1,000   | 0,421  |        |        |        |        |        | <0,001         |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+;AppI/+}$ (4)<br>(N= 12)      | 0,102  | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        |        | 0,043          |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/189Y}$ (5)<br>(N= 10)          | 0,486  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        | 0,035          |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/c305}$ (6)<br>(N= 12)          | ≈1,000   | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        | 0,001          |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+;c547/+}$ (7)<br>(N= 12)      | 0,025  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        | 0,246          |
| $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+;c232/+}$ (8)<br>(N= 10)      | 0,002  | ≈1,000 | 0,294  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,752          |

Ähnliche Ergebnisse konnten bei den Kreuzungsexperimenten mit  $ebo^{KS263}/FM7a;3282^{M7}/CyO$  beobachtet werden (Abb.32). Auch hier besteht kein signifikanter Unterschied zwischen C-S und  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$ ,  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  sowie  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/189Y$  (s. Tab.13). Diese drei Genotypen verhalten sich alle hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau, wobei  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;AppI/+$  zusätzlich signifikant unterschiedlich zur Negativkontrolle

*ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+ (mit WT-B verpaart s. 3.1.1.) ist. Alle anderen Genotypen der angesetzten Kreuzungen sind nicht signifikant verschieden zu *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+ (s. Tab.13). Die Kreuzungen mittels c305-, c547-, c42- sowie c232-GAL4 befinden sich nicht auf wildtypischem Niveau, außerdem sind sie mit Ausnahme von c305-GAL4 nicht signifikant verschieden zum Zufallslevel (s. Tab.13). Im *ebo*<sup>KS263</sup>-mutanten Hintergrund wird demnach mittels der UAS-*ebo*-Expression via *elav+AppI*-, *AppI*- und 189Y-GAL4 die Fähigkeit der Ausbildung eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses wieder hergestellt.



**A**

### bb.32: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=11-15, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Kruskal-Wallis-Test. Mediane von links nach rechts in Prozent: 90, 60, 70, 80, 70, 70, 70, 65, 60. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A17.

*ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+ läuft im Median zu 60% auf den ursprünglich angelaufenen Balken zurück und liegt damit auf Zufallsniveau ( $p = 0,960$ ). Zudem zeigt *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+ im Vergleich zu C-S einen höchst signifikanten ( $p < 0,001$ ) sowie zu *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+;*AppI*+ einen signifikanten Unterschied ( $p = 0,029$ ). Alle anderen Genotypen verhalten sich statistisch nicht signifikant verschieden zur Negativkontrolle ( $p$ -Werte s. Tab.13). *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+;*AppI*+, *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/189Y sowie *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/+;*elav+AppI*+ sind hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau und nicht signifikant unterschiedlich zu C-S ( $p$ -Werte s. Tab.13). Der Genotyp *ebo*<sup>KS263</sup>/*Y*;3282<sup>M7</sup>/c305 verhält sich sowohl signifikant verschieden zum Laborwildtyp als auch zum Zufallsniveau ( $p$ -Werte s. Tab.13).

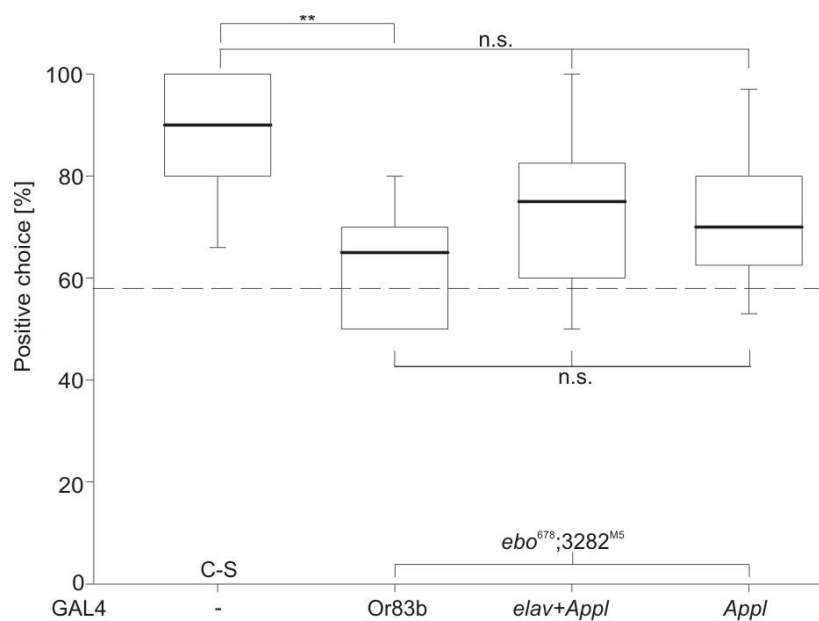
$ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;c42/+$ ,  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;c547/+$  und  $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;c232/+$  verhalten sich einerseits signifikant bis hoch signifikant verschieden zu C-S und andererseits nicht unterschiedlich zum Zufallsniveau (p-Werte s. Tab.13).

**Tab.13: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.32**

| Genotyp (Gruppen #)<br>(Anzahl N)                         | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Genotypen |        |        |        |        |        |        |        | p<br>gegen<br>Zufall |
|---|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------------|
|   | 1  | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      |                      |
| Test gegen Gruppe:  | 1  | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 58%                  |
| C-S (1)<br>(N= 15)  |  |        |        |        |        |        |        |        | <0,001               |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$<br>(x WT-B) (2) (N= 14)       | <0,001   |        |        |        |        |        |        |        | 0,960                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;$<br>$elav+AppI/+$ (3) (N= 14) | 0,459  | 0,649  |        |        |        |        |        |        | 0,006                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;$<br>$AppI/+$ (4) (N= 12)      | ≈1,000   | 0,029  | ≈1,000 |        |        |        |        |        | 0,001                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/189$<br>Y (5) (N= 10)            | ≈1,000   | 0,385  | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        |        | 0,003                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/c305$<br>(6) (N= 12)             | 0,040  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        | 0,040                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;$<br>$c42/+$ (7) (N= 12)       | 0,004  | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,493  | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        | 0,520                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;$<br>$c547/+$ (8) (N= 10)      | 0,013  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        | 0,352                |
| $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;$<br>$c232/+$ (9) (N= 10)      | 0,007  | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,762  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,386                |

Im  $ebo^{678}$ -mutanten Hintergrund wurden zunächst ausschließlich panneurale Rettungsexperimente angesetzt. Hierbei dienten  $ebo^{678}/Y;;3282^{M5}/Or83b$  als Negativ- und erneut C-S als Positivkontrolle. Die zwei Rettungskreuzungen bestanden aus  $ebo^{678}/Y;;3282^{M5}/elav+AppI$  sowie  $ebo^{678}/Y;;3282^{M5}/AppI$  (Abb.33). Beide Genotypen verhalten sich statistisch betrachtet wie C-S und unterscheiden sich außerdem hoch signifikant vom Zufallsniveau (p-Werte s. Tab.14). Man kann auch hier von einer Rettung des Verhaltensphänotyps durch  $elav+AppI$ - und  $AppI$ -GAL4 sprechen, auch wenn aufgrund der Testschärfe, die mit dem Kruskal-Wallis-Test einhergeht,  $ebo^{678}/Y;;3282^{M5}/elav+AppI$  und  $ebo^{678}/Y;;3282^{M5}/AppI$  nicht signifikant verschieden zur Negativkontrolle sind (p-Werte s. Tab.14).





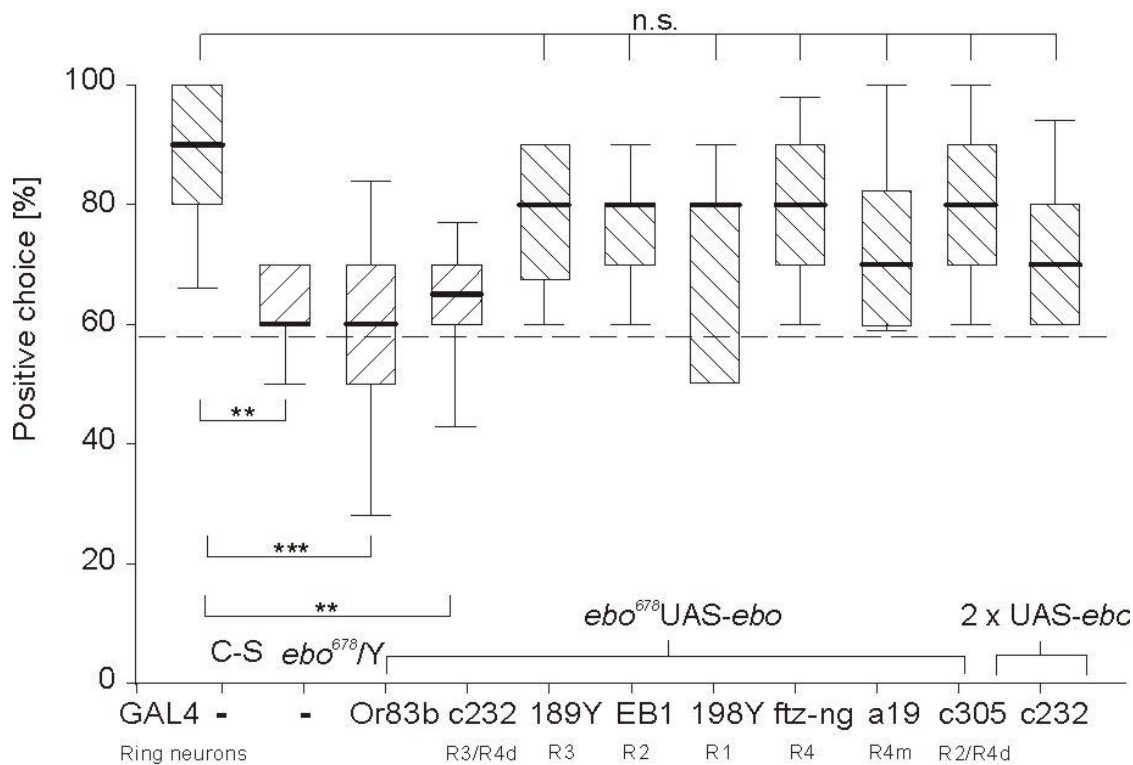
**Abb.33: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=12-15, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Kruskal-Wallis-Test. Mediane von links nach rechts in Prozent: 90, 65, 75, 70. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A18.

Zwischen der Negativkontrolle der verwendeten UAS-Linie mit 65% und der Positivkontrolle C-S mit 90% besteht ein hoch signifikanter Unterschied ( $p=0,001$ ). Zudem verhalten sich die Genotypen *ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/elav+Appl* und *ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/Appl* weder signifikant verschieden im Vergleich zu C-S noch zur Negativkontrolle ( $p$ -Werte s. Tab.14). Dennoch verhalten sich *ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/elav+Appl* mit einem Median von 75% und *ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/Appl* mit einem Median von 70% beide hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau ( $p=0,002$ ,  $p=0,003$ ).

**Tab.14: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.33**

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)   | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |       |        | p gegen Zufall |
|--|--|-------|--------|----------------|
|  | 1  | 2     | 3      |                |
| Test gegen Gruppe:   | 1  | 2     | 3      | 58%            |
| C-S (1)<br>(N= 15)   |  |       |        | <0,001         |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/Or83b</i> (2)<br>(N= 14)     | 0,001  |       |        | 0,386          |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/elav+Appl</i> (3)<br>(N= 14) | 0,244  | 0,491 |        | 0,002          |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;;3282<sup>M5</sup>/Appl</i> (4)<br>(N= 12)      | 0,189  | 0,801 | ≈1,000 | 0,003          |



**Abb.34: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=10-21, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Kruskal-Wallis-Test. Die Mediane betragen von links nach rechts gelesen in Prozent: 90, 60, 60, 65, 80, 80, 80, 80, 70, 80 und 70. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A19.

Die rechts geneigten gestreiften Boxen geben die Genotypen an, welche nicht signifikant verschieden zum Zufallsniveau sind (p-Werte s. Tab.15); hierbei handelt es sich um *ebo*<sup>678</sup>/*Y*, *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/*Y*;Or83b/+ sowie *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/*Y*;c232/+. Selbige Genotypen verhalten sich hoch bis höchst signifikant unterschiedlich im Vergleich zu C-S, wohingegen alle übrigen Kreuzungen im *ebo*<sup>678</sup>-mutanten Hintergrund nicht signifikant verschieden zur Positivkontrolle sind (p-Werte s. Tab.15).

Da sich herausstellte, dass die Mutation auf dem X-Chromosom der UAS-Linie *ebo*<sup>678</sup>/FM7a;3282<sup>M5</sup>/TM3, Sb nicht stabil war, wurden alle weiteren Experimente im *ebo*<sup>678</sup>-mutanten Hintergrund mittels der stabilen UAS-Linie *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a durchgeführt, welche sowohl die Mutation *ebo*<sup>678</sup> als auch UAS-*ebo*{SD3282<sup>#23</sup>} auf dem X-Chromosom trägt. Abb.34 zeigt die Ergebnisse aller Kreuzungsexperimente im statistischen Vergleich zueinander. Die Verteilung der Daten, derjenigen Genotypen, welche im *ebo*<sup>678</sup>-mutanten Hintergrund via 189Y-, EB1-, 198Y-, ftz-ng-, a19- sowie c305-GAL4 angesetzt wurden, unterscheiden sich statistisch betrachtet nicht von den wildtypischen Daten. Zudem sind die Kreuzungen mittels 189Y-, EB1-, ftz-ng-, a19- und c305-GAL4 höchst signifikant verschieden zum Zufallsniveau (p-Werte s. Tab.15). Im Vergleich zur Negativkontrolle *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/*Y*;Or83b/+ zeigen sich bei

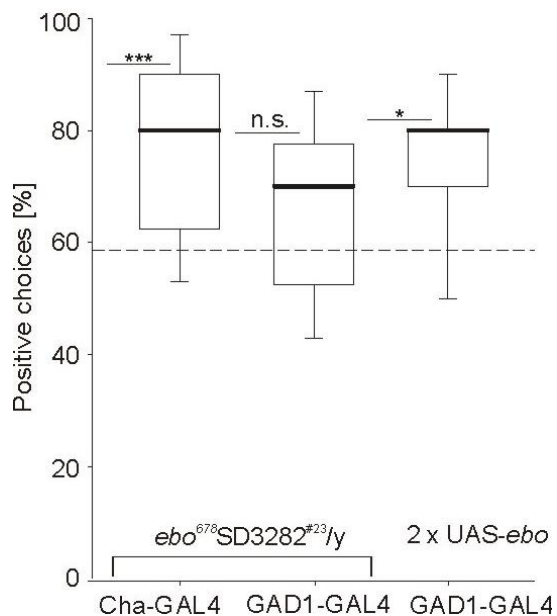
---

*ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;c305/+ sowie *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;ftz-ng/+ signifikante Unterschiede (p-Werte s. Tab.15). Es kann demnach gefolgert werden, dass durch die *ebo*-Expression mittels 189Y-, EB1-, 198Y-, ftz-ng-, a19- sowie c305-GAL4 im *ebo*<sup>678</sup>-mutanten Hintergrund das räumliche Orientierungsgedächtnis wieder hergestellt werden kann. Interessanterweise betreffen diese GAL4-Linien jede Ringneuronengruppe von R1 bis R4m/R4d, weshalb es unlogisch erscheint, dass c232-GAL4, welche in R3 und R4d exprimiert, den Verhaltensphänotyp nicht rettet. Deshalb wurde eine weitere Kreuzung angesetzt, allerdings mit einer UAS-Linie, welche zwei UAS-Konstrukte für das wildtypische *ebo*-Gen beinhaltet, so dass bei einer Kreuzung via c232-GAL4 mehr EBO als bei nur einem vorhandenen UAS-Konstrukt gebildet wird. Tatsächlich kann bei dem Genotyp *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;c232/+ eine Rettung beobachtet werden. Diese Fliegen verhalten sich nicht signifikant anders als C-S, dafür aber hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau (p-Werte s. Tab.15). Dementsprechend scheint die Menge an EBO in den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers entscheidend zu sein, ob ein räumliches Orientierungsgedächtnis ausgebildet werden kann oder nicht.

Tab.15: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.34

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)   | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |        |        |        |        |        |        |        |        |        | p gegen Zufall |
|--|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
|  | 1  | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     |                |
| Test gegen Gruppe:   |  |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 58%            |
| C-S (1) (N= 15)  |  |        |        |        |        |        |        |        |        |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y (2) (N= 12)   | 0,001  |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 0,043          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Or83b/+ (3) (N= 15)                      | <0,001   | ≈1,000 |        |        |        |        |        |        |        |        | 0,687          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;c232/+ (4) (N= 12)                       | 0,009  | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        |        |        |        |        | 0,113          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;189Y/+ (5) (N= 10)                        | ≈1,000   | 0,691  | 0,189  | ≈1,000 |        |        |        |        |        |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;EB1/+ (6) (N= 12)                         | ≈1,000   | 0,775  | 0,197  | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        |        |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;;198Y/+ (7) (N= 12)                      | 0,492  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        |        | 0,387          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;ftz-ng/+ (8) (N= 21)                     | ≈1,000   | 0,121  | 0,014  | 0,549  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;a19/+ (9) (N= 18)                        | 0,284  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+ (10) (N= 12)                       | ≈1,000   | 0,154  | 0,028  | 0,576  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+ (11) (N= 12) | 0,720  | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,002          |

Mit Hilfe der verschiedenen GAL4-Treiberlinien wurden alle Gruppen von Ringneuronen im Einzelnen und in Kombinationen auf ihre Bedeutung im Zusammenhang mit EBO und dem räumlichen Orientierungsgedächtnis untersucht. Nun stellte sich die Frage, ob die Gruppen von Neuronen, die für die Phänotyprettung verantwortlich waren, entweder cholinerg oder GABAerg oder beides gleichermaßen waren. Um dies zu beantworten, wurden zunächst zwei Kreuzungen angesetzt, beide mit der UAS-Linie *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a, so dass die Genotypen *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;Cha/+ und *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;GAD1/+ entstanden. Die Expression von wildtypischem *ebo*-Konstrukt SD3282<sup>#23</sup> in den cholinergen Neuronen, die durch Cha-GAL4 angesprochen werden, führte zu einer Rettung des Orientierungsgedächtnisses ( $p < 0,001$ ) (Abb.35). *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;GAD1/+ hingegen zeigte weiterhin einen Verhaltensphänotyp im Detour-Paradigma (Abb.35), weshalb es zunächst so schien, als würden nur die cholinergen Neurone des Ellipsoidkörpers eine Rolle bezüglich EBO und dem Zusammenhang mit dem Orientierungsgedächtnis spielen.



**Abb.35: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

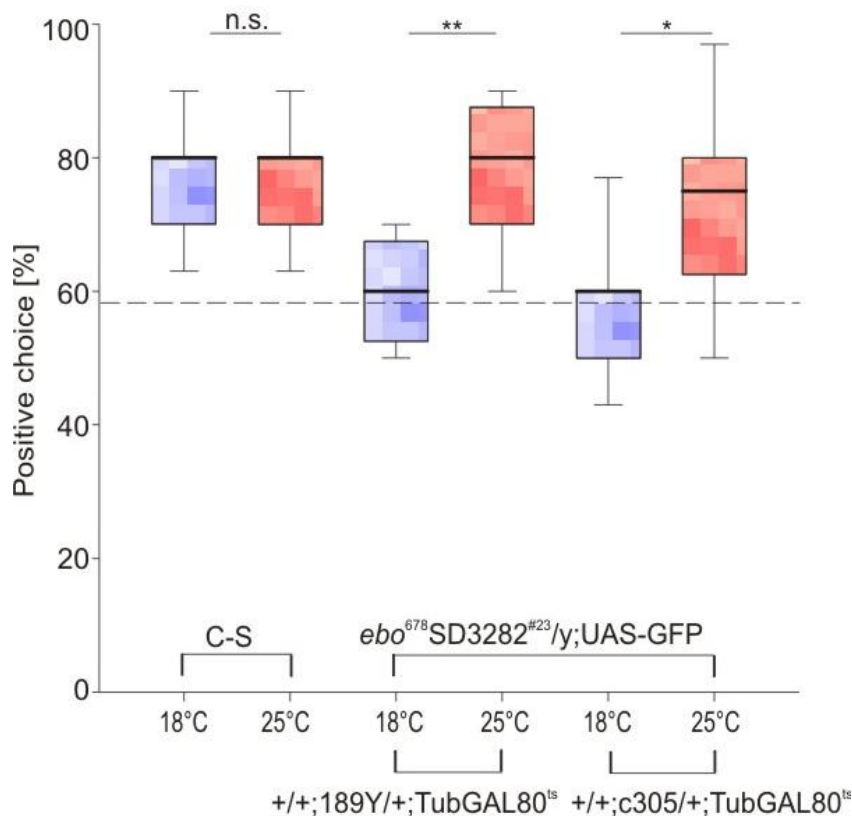
Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=12-15, One-Sample-t-Test, Sign-Test. Die Mediane betragen von links nach rechts gelesen in Prozent: 80, 70 und 80. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A20.

Der Genotyp *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;Cha/+ hat einen Median der positiven Wahl von 80% und verhält sich damit höchst signifikant verschieden vom Zufallsniveau ( $p < 0,001$ ). *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;GAD1/+ hingegen liegt trotz eines Medians von 70% auf dem Zufallsniveau ( $p = 0,087$ ). Bei Untersuchung der Kreuzung *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;GAD1/+ fällt allerdings auf, dass durch das Vorhandensein zweier wildtypischer *ebo*-Sequenzen im verwendeten UAS-Stamm ein Median von 80% erreicht werden kann und damit ein hoch signifikanter Unterschied im Vergleich zum Zufallsniveau deutlich wird ( $p = 0,010$ ).

Da allerdings die Untersuchung von *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;c232/+ im Detour-Paradigma ergab, dass die Menge an EBO in den Ringneuronen essentiell ist, wurde mit GAD1-GAL4 eine weitere Kreuzung angesetzt. Daraus ergaben sich zu testende Fliegen mit dem Genotyp *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/GAD1. Diesen Tieren stand demnach seit Beginn ihrer Entwicklung doppelt so viel EBO in den Neuronen, die sich im Expressionsmuster von GAD1-GAL4 befinden, zur Verfügung. Auch hier zeigt sich, dass tatsächlich die Menge an EBO im Ellipsoidkörper bestimmt, ob ein räumliches Orientierungsgedächtnis aufgebaut werden kann, da *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/GAD1 in der Lage ist, sich daran zu erinnern, welcher Weg ursprünglich eingeschlagen wurde (Abb.35). Demnach können sowohl cholinerge als auch GABAerge Neurone des Ellipsoidkörpers mittels der Expression von *ebo* das Orientierungsgedächtnis wiederherstellen.

Aufgrund der routinemäßigen histologischen Untersuchungen der getesteten Tiere wurde beobachtet, dass der Verhaltens- sowie der grobmorphologische Phänotyp nicht miteinander korrelieren. D.h., dass *ebo*-mutante Fliegen, die kein räumliches Orientierungsgedächtnis besitzen, sowohl deformierte als auch wildtypisch erscheinende Ellipsoidkörper aufweisen können (s. Kapitel 3.1.5.). Daher wurden verschiedene Kreuzungsexperimente durchgeführt, bei denen mittels eines Temperaturschalters bestimmt wurde, wann *ebo*<sup>+</sup> exprimiert wird (Abb.36 und 37). Diese Schalter bestanden aus GAL80<sup>ts</sup> und *hsp70*-GAL4. Abb.36 zeigt die Ergebnisse der Kreuzungen zwischen *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a;UAS-mCD8:GFP/+ und +/+;189Y/+;TubGAL80<sup>ts</sup>/+ bzw. +/+;c305/+;TubGAL80<sup>ts</sup>/+. Das mCD8:GFP-Konstrukt wurde deshalb in die *ebo*<sup>678</sup>-mutante UAS-Linie eingebaut, um nach den Experimenten immunhistologische Untersuchungen vornehmen zu können. Den bei 18°C aufgewachsenen Tieren mit den Genotypen *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;UAS-mCD8:GFP/189Y;TubGAL80<sup>ts</sup>/+ und *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80<sup>ts</sup>/+ stand während ihrer Entwicklung kein EBO zur Verfügung, so dass sie beide im Detour-Paradigma einen Median von 60% zeigen und sich nicht signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden (p-Werte s. Tab.16). Werden dieselben Tiere allerdings 24 Stunden lang bei 25°C inkubiert, können beide Genotypen ein Orientierungsgedächtnis ausbilden, zeigen einen Median von 80% bzw. 75% und sind hoch bzw. höchst signifikant verschieden zum Zufallsniveau (Abb.36, p-Werte s. Tab.16). Zur Kontrolle, ob eine Temperatur von 18°C alleine bereits Auswirkungen auf ein räumliches Orientierungsgedächtnis hat, wurde der Laborwildtyp C-S genauso

behandelt wie die Kreuzungen. Abb.36 zeigt, dass sowohl C-S-Fliegen, die bei 18°C aufgewachsen sind, als auch für 24 Stunden bei 25°C inkubiert wurden, einen Median von 80% zeigen und sich höchst signifikant vom Zufallsniveau absetzen (p-Werte s. Tab.16). Die Temperatur alleine nimmt demnach keinen Einfluss auf das Orientierungsgedächtnis, was bedeutet, dass EBO akut in den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers benötigt wird, damit eine räumliche Orientierungsgedächtnisleitung erfolgen kann.



**Abb.36: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=12 für alle Gruppen, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Paired-t-Test. Die Mediane betragen von links nach rechts gelesen in Prozent: 80, 80, 60, 80, 60 und 75. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A21.

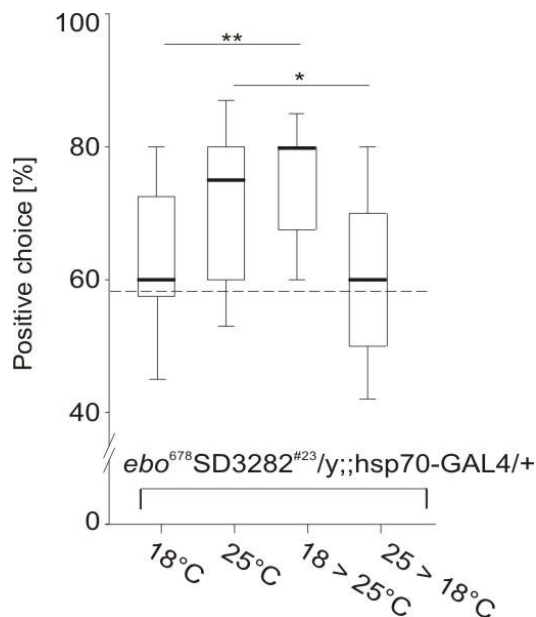
Bei 25°C aufgezogene C-S-Fliegen zeigen im Detour-Paradigma einen Median von 80% und sie verhalten sich identisch, wenn man dieselben Tiere für 24 Stunden bei 18°C inkubiert und erneut testet. Die bei 18°C aufgewachsenen Genotypen *ebo*<sup>678</sup>*SD3282*<sup>#23</sup>/*y*;UAS-mCD8:GFP/*189Y*;TubGAL80<sup>ts</sup>/*+* und *ebo*<sup>678</sup>*SD3282*<sup>#23</sup>/*y*;UAS-mCD8:GFP/*c305*;TubGAL80<sup>ts</sup>/*+*, die während ihrer Entwicklung keiner *ebo*-Expression unterlagen, verhalten sich hingegen nicht signifikant verschieden zum Zufallsniveau (p= 0,149, p= 0,913). Inkubiert man selbige Tiere jedoch für 24 Stunden bei 25°C, so sind beide Genotypen in der Lage ein Orientierungsgedächtnis auszubilden (p= 0,001, p= 0,021, s. Tab.16).

Tab.16: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.36

| Genotyp, Temperaturregime (Gruppen #)<br>(Anzahl N)  | Irrtumswahrscheinlichkeit p<br>gegen andere Gruppen |       |       | p gegen<br>Zufall |
|--|---|-------|-------|-------------------|
|  | 2   | 4     | 6     |                   |
| Test gegen Gruppe:   | 2   | 4     | 6     | 58%               |
| C-S<br>18°C (1) (N= 12)  | ≈1,000  |       |       | <0,001            |
| C-S<br>18° > 25°C (2) (N= 12)  |   |       |       | <0,001            |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup><br>18°C (3) (N= 12)           |   | 0,001 |       | 0,149             |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup><br>18° > 25°C (4) (N= 12)     |   |       |       | <0,001            |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+<br>18°C (5) (N= 12)       |   |       | 0,021 | 0,913             |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+<br>18° > 25°C (6) (N= 12) |   |       |       | 0,005             |

Um das Ergebnis der Kreuzungen mittels GAL80<sup>ts</sup> zu stützen, wurde ein weiterer Temperaturschalter verwendet, *hsp70-GAL4*. Abb.37 zeigt die Ergebnisse des Genotyps *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;*hsp70-GAL4*/+ bei unterschiedlichen Zucht- und Inkubationstemperaturen. Bei 18°C aufgewachsene und damit nicht *ebo*-exprimierende Fliegen des Genotyps *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;*hsp70-GAL4*/+ haben einen Median von 60% der Rückkehr zum ursprünglichen Ziel und liegen damit auf Zufallsniveau (p= 0,155). Werden selbige Tiere für 24 Stunden bei 25°C inkubiert und können in dieser Zeit *ebo* exprimieren, zeigen sie einen Median von 80% und unterscheiden sich sowohl hoch signifikant vom Zufallsniveau (p= 0,001) als auch von den Daten des Vortages (p= 0,003). Lässt man *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;*hsp70-GAL4*/+ bei 25°C aufwachsen, unterscheiden sie sich mit 75% hoch signifikant vom Zufallsniveau (p= 0,009). Nach einer 72-stündigen Inkubation bei 18°C haben Tiere, die bei 25°C aufgewachsen sind, nur noch einen Median von 60% und liegen damit auf Zufallsniveau (p= 0,693). Somit konnte auf zwei verschiedenen Wegen gezeigt werden, dass EBO tatsächlich lediglich akut im Ellipsoidkörper benötigt wird, damit ein räumliches Orientierungsgedächtnis fehlerfrei gebildet werden kann.





**Abb.37: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=12-15, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Wilcoxon-Signed-Rank-Test, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test. Die Mediane betragen von links nach rechts gelesen in Prozent: 60, 75, 80 und 60. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A22.

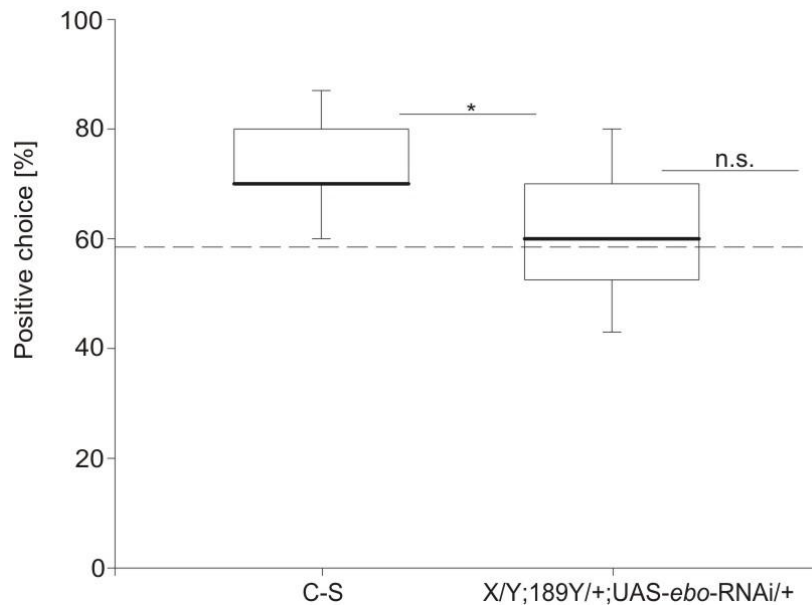
Lässt man *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;hsp70-GAL4/+ bei 18°C aufwachsen, sind diese Tiere nicht fähig ein räumliches Orientierungsgedächtnis auszubilden und haben einen Median von 60%. Werden diese Fliegen jedoch 24 Stunden lang bei 25°C inkubiert, zeigen sie einen Median von 80%. Andersherum sieht man denselben Effekt; denn der Genotyp *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;hsp70-GAL4/+, der bei 25°C ein wildtypisches Verhalten im Detour-Paradigma aufweist, kann nach einer 72-stündigen Inkubation bei 18°C kein räumliches Orientierungsgedächtnis mehr zeigen (p-Werte s. Tab.17).

**Tab.17: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.37**

| Genotyp, Temperaturregime (Gruppen #) (Anzahl N)   | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen | p gegen Zufall |
|--|--|----------------|
| Test gegen Gruppe:   | 2  | 4              |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>18°C (1) (N= 14)       | 0,003  | 0,155          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>18° > 25°C (2) (N= 14) |  | 0,001          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>25°C (3) (N= 12)       | 0,022  | 0,009          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>25° > 18°C (4) (N= 15) |  | 0,693          |

Des Weiteren wurde ein RNAi-Experiment durchgeführt, das die Expression von *ebo* in den R3-Ringneuronen verhinderte. Der getestete Genotyp X/Y;189Y/+;UAS-*ebo*-RNAi/+

verhielt sich interessanterweise mit einem Median von 60% signifikant verschieden zu C-S ( $p= 0,021$ ) und nicht signifikant unterschiedlich zum Zufallsniveau ( $p= 0,226$ ) (Abb.38), obwohl lediglich in einer Ringneuronengruppe *ebo* ausgeschaltet wurde.



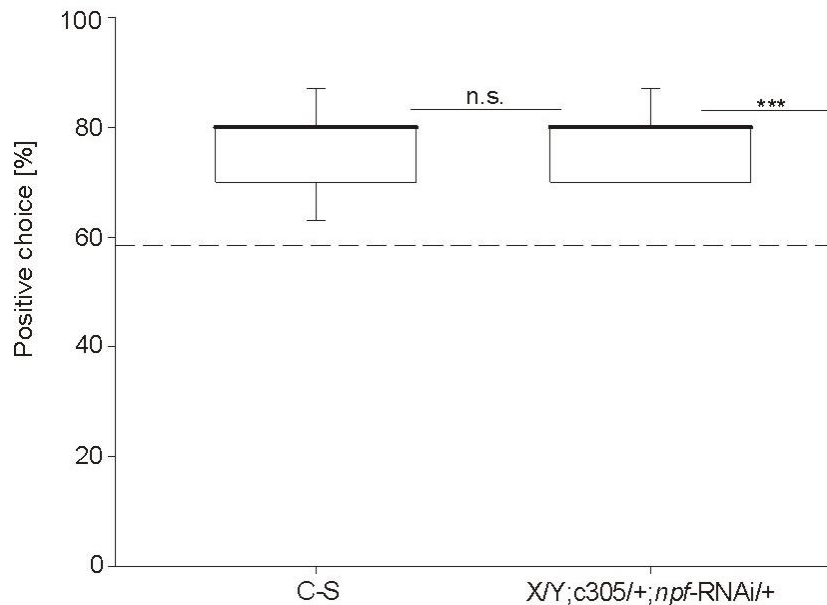
**Abb.38: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12,  $N=12$  für alle Gruppen, One-Sample-t-Test, t-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A23.

Der Laborwildtyp C-S verhält sich mit einem Median von 70% höchst signifikant verschieden zum Zufallsniveau ( $p < 0,001$ ) und signifikant erfolgreicher als X/Y;189Y/+;UAS-ebo-RNAi/+ ( $p= 0,021$ ). Zudem liegt die Leistung von X/Y;189Y/+;UAS-ebo-RNAi/+ mit einem Median von 60% auf dem Zufallslevel ( $p= 0,226$ ).

Da bereits gezeigt wurde, dass *ebo*<sup>+</sup> akut exprimiert werden muss und dann in jeder Ringneuronengruppe (d.h., jeweils ausschließlich durch *ebo*<sup>+</sup>-Expression in R1, R2, R3, R4 und R4m) den Detour-Phänotyp retten kann, wäre es weiterhin interessant zu wissen, ob bestimmte Neuropeptide in den Ringneuronen verantwortlich sind, um ein räumliches Orientierungsgedächtnis umzusetzen. Deshalb wurden die zwei Neuropeptide Neuropeptid F (*npf*) und FMRFamid (FmRFa) auf ihre mögliche Funktion bezüglich des Orientierungsgedächtnisses untersucht, da KAHSAI & WINTHER 2011 nachwies, dass diese Neuropeptide u.a. im Ellipsoidkörper, genauer in R2 und R4, aufzufinden sind. Mittels RNAi-Experimenten wurden in R2 und R4d *npf* sowie FMRFa ausgeschaltet. Der Genotyp X/Y;c305/+;*npf*-RNAi/+ wurde im Detour-Paradigma untersucht, wobei sich herausstellte, dass sich X/Y;c305/+;*npf*-RNAi/+ nicht signifikant von C-S ( $p= 0,758$ ) und höchst signifikant vom Zufallsniveau ( $p < 0,001$ ) unterscheidet,

demnach also weiterhin in der Lage ist, ein Orientierungsgedächtnis auszubilden (Abb.39). Demnach ist dieses Neuropeptid im Ellipsoidkörper entweder nicht notwendig, um ein Orientierungsgedächtnis auszubilden, oder das *npf*-RNAi-Konstrukt war zu schwach und hat die *npf*-Expression in R2 und R4d nicht vollständig verhindern können.

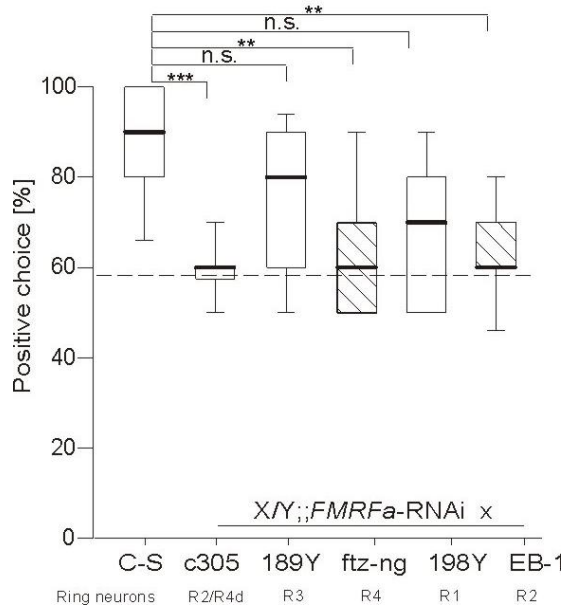


**Abb.39: Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=12 für alle Gruppen, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A24.

Der p-Wert von 0,758 zeigt deutlich, dass kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen C-S und X/Y;c305/+;npf-RNAi/+ besteht. Beide Mediane betragen 80% und die p-Werte beider Genotypen liegen im Vergleich zum Zufallsniveau bei <0,001, was ebenfalls das wildtypische Verhalten dieser Tiere aufzeigt.

Die Ergebnisse, die die RNAi-Kreuzungen FMRFa betreffen, zeigen genau das Gegenteil (Abb.40). Hier ist zu erkennen, dass sich X/Y;c305/+;FMRFa-RNAi/+ Tiere höchst signifikant verschieden zu C-S verhalten ( $p < 0,001$ ), woraufhin weitere Kreuzungen mit anderen Ringneuron-spezifischen GAL4-Treiberlinien angesetzt und untersucht wurden. Es zeigt sich, dass mittels *ftz-ng*- und *EB1*-GAL4 die Bildung eines Orientierungsgedächtnisses verhindert wird, was zum Ergebnis von *c305*-GAL4 passt, da die erstgenannten Treiberlinien R4 bzw. R2 ansprechen, was dem Expressionsmuster von *c305* entspricht. Via 189Y- sowie 198Y-GAL4 konnte das Orientierungsgedächtnis nicht ausgeschaltet werden, was nicht zu erwarten gewesen war, da in den Ringneuronengruppen R3 und R1, die in dem Expressionsmuster beider Treiberlinien liegen, bislang kein FMRFa nachgewiesen wurde. Demnach spielt FMRFa in R2 und R4 eine Rolle bezüglich des räumlichen Orientierungsgedächtnisses.



**Abb.40: Analyse des Orientierungsgedächtnisses von *FMRFa*-RNAi-Kreuzungen im Detour-Paradigma**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=15-18, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A25.

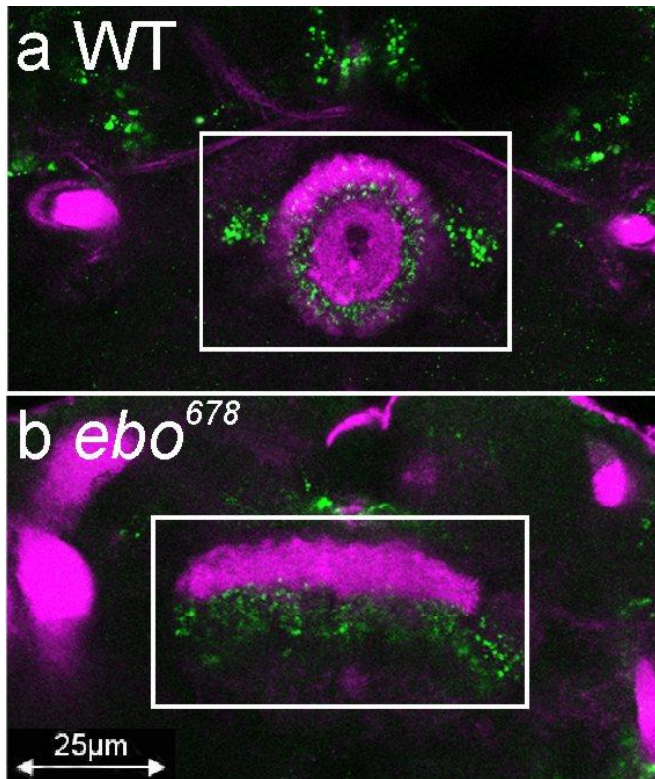
Sowohl der Genotyp *X/Y;189Y/+;FMRFa-RNAi/+* als auch *X/Y;;FMRFa-RNAi/+;;198Y/+* verhalten sich nicht signifikant verschieden zu C-S ( $p = 1,000$ ,  $p = 0,090$ ), wobei sich hier nur *X/Y;189Y/+;FMRFa-RNAi/+* gleichzeitig hoch signifikant vom Zufallsniveau absetzt ( $p < 0,001$ ). *X/Y;c305/+;FMRFa-RNAi/+* ist höchst und *X/Y;;FMRFa-RNAi/ftz-ng* sowie *X/Y;EB1/+;FMRFa-RNAi/+* sind hoch signifikant verschieden zu C-S ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,001$ ,  $p = 0,002$ ). Die Mediane der drei letztgenannten Genotypen liegen bei 60%.

**Tab.18: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.40**

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)             | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |        |       |        |        | p gegen Zufall |
|--|--|--------|-------|--------|--------|----------------|
|  | 1  | 2      | 3     | 4      | 5      |                |
| Test gegen Gruppe:                         |  |        |       |        |        | 58%            |
| C-S (1) (N= 15)                            |  |        |       |        |        | <0,001         |
| <i>X/Y;c305/+;FMRFaRNAi/+</i> (2) (N= 18)  | <0,001   |        |       |        |        | 0,034          |
| <i>X/Y;189Y/+;FMRFaRNAi/+</i> (3) (N= 15)  | ≈1,000   | 0,013  |       |        |        | <0,001         |
| <i>X/Y;;FMRFaRNAi/ftz-ng</i> (4) (N= 15)   | 0,001  | ≈1,000 | 0,250 |        |        | 0,121          |
| <i>X/Y;;FMRFaRNAi/+;198Y/+</i> (5) (N= 15) | 0,090  | 0,548  | 1,000 | ≈1,000 |        | 0,121          |
| <i>X/Y;EB1/+;FMRFaRNAi/+</i> (6) (N= 15)   | 0,002  | ≈1,000 | 0,343 | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,123          |

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde mittels konfokaler Mikroskopie von Gehirn-Ganzpräparaten des Laborwildtyps C-S sowie der Mutante *ebo*<sup>678</sup> die Verteilung bzw. der Transport von FMRFa im Bereich des Ellipsoidkörpers verglichen. Ein eventueller

Unterschied sollte auf diese Weise untersucht werden. Dazu wurden die Gehirne jeweils mit einem Antikörper gegen pro-FMRFa (das Vorläufer-Peptid von FMRFa) und gegen Fasziklin-II, dessen positive Zellen im Bereich des Ellipsoid- und Pilzkörpers zu finden sind, behandelt. Nach der Auswertung von neun wildtypischen und zwölf *ebo*<sup>678</sup>-Gehirnen stellte sich heraus, dass es keinen sichtbaren Unterschied bezüglich der FMRFa-Verteilung gibt (Abb.41).



**Abb.41: Konfokale Darstellung der FMRFa-Verteilung im Ellipsoidkörper**

**a & b (630-fache Vergrößerung), Projektion von fünf aufeinanderfolgenden Schnitten in frontaler Ausrichtung, Objektr. B und D vom 15.5.2012 (beide Präparate sind aus Männchen gewonnen)**

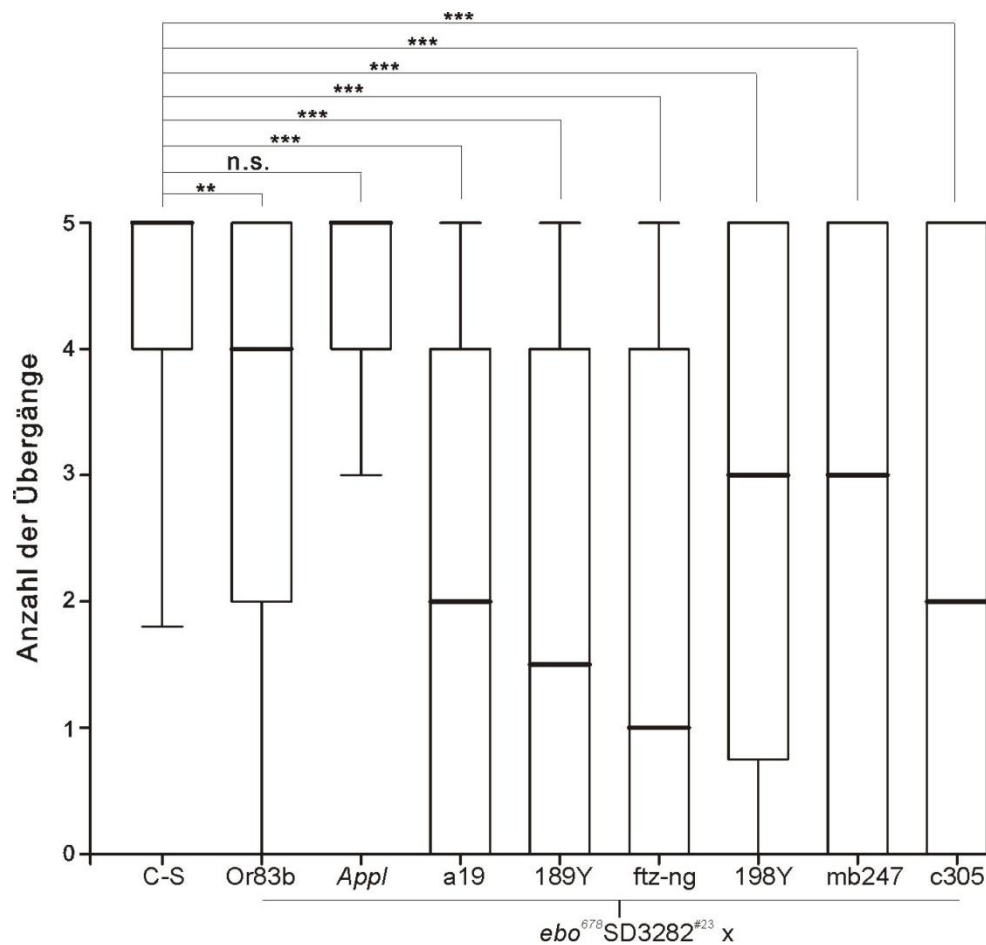
Es ist bezüglich des Transports von FMRFa ( $\alpha$ -pro-FMRFa, grün) im Bereich des Ellipsoidkörpers ( $\alpha$ -fasciclin-II, magenta) kein Unterschied zwischen WT und *ebo*<sup>678</sup> erkennbar. Die Intensitäten der grünen Pixel, welche sich im Bereich von R2 und R4 befinden, wurden bei allen Präparaten (drei WT, vier *ebo*<sup>678</sup>) mittels Photoshop CS5 gemessen und sind nicht verschieden zueinander.

Daraufhin wurde versucht, zwei Mutanten für die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren von FMRFa *FR* und *DmsR-2* (KLOSE et al., 2010) im Detour-Paradigma zu analysieren, da offensichtlich keine Transportprobleme von FMRFa in *ebo*<sup>678</sup> zum Verlust des Orientierungsgedächtnisses führen. Dieses war jedoch nicht möglich, da die Tiere sich nicht ablenken ließen, sondern stur auf den jeweils gegenüber liegenden Balken zuliefen, auch wenn dieser nicht mehr sichtbar war. Deshalb wurde ausschließlich ihr allgemeines Laufverhalten im Buridan'schen Paradigma untersucht (s. Anhang Abb.A1).

### 3.1.3. Schnelle Phototaxis

In dieser Arbeit wurde zusätzlich zum allgemeinen Laufverhalten im Buridan'schen Paradigma sowie zum räumlichen Orientierungsgedächtnis im Detour-Paradigma ebenfalls untersucht, ob der Verhaltensphänotyp der *ebo*-Mutationslinie in der schnellen Phototaxis (STRAUSS & HEISENBERG, 1993) mittels einer spezifischen Expression von EBO im Ellipsoidkörper gerettet werden kann. Dazu wurden verschiedene GAL4-Treiberlinien und der UAS-Stamm *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a für diverse Kreuzungen verwendet. In Abb.42 sind die Ergebnisse für alle Genotypen als Mediane der Anzahl an Übergängen von Röhren zu Röhren dargestellt. Der höchste erreichbare Wert ist hierbei fünf, da es insgesamt sechs Röhren im Versuchsaufbau gibt. Es wurden eine Negativkontrolle mittels Or83b-GAL4 und ein panneuraler Rettungsversuch mittels *App1*-GAL4 angesetzt. Zudem wurden die Ellipsoidkörper-spezifischen Treiberlinien a19 (Expression in Ringneurongruppe R4), 189Y (R3), ftz-ng (R4), 198Y (R1) und c305 (R2 und R4d) sowie die Pilzkörper-spezifische Linie mb247-GAL4 eingesetzt. Als Positivkontrolle diente der Laborwildtyp C-S. In Abb.42 werden der Übersicht halber ausschließlich die Signifikanzen einer jeden Kreuzung gegenüber der Positivkontrolle gezeigt. Tab.19 gibt allerdings sämtliche p-Werte, die durch den Kruskal-Wallis-Test ermittelt wurden, wieder. Die Negativkontrolle *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;Or83b/+ verhält sich hoch signifikant schlechter in der schnellen Phototaxis als C-S, wobei ihr Median zwar bereits bei vier Übergängen liegt, 75% der Einzelwerte aber dennoch zwischen zwei und fünf Übergängen liegen. Bei C-S liegen 75% der Einzelwerte zwischen vier und fünf Übergängen. Weiterhin zeigt Abb.42 dass mit Ausnahme des Genotyps *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;*App1*+, welcher sich nicht signifikant verschieden zu C-S verhält, alle Rettungsversuche im Median höchst signifikant weniger Übergänge absolviert haben und damit nicht auf wildtypischen Niveau liegen. Betrachtet man allerdings Tab.19, fällt auf, dass sich nicht nur *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;*App1*+ hoch signifikant von der Negativkontrolle unterscheidet (p= 0,001). *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;mb247/+ sowie *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;189Y/+ sind signifikant (p= 0,015, p= 0,022), *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;;198Y/+ ist hoch signifikant (p= 0,001) verschieden zur Negativkontrolle. Jedoch verhalten sich alle diese Genotypen noch schlechter in der schnellen Phototaxis als *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;Or83b/+. Demnach sind die Ringneurone und die Neurone der Pilzkörper sowie des fächerförmigen Körpers, die von mb247-

GAL4 angesprochen werden, bei der *ebo*-Mutation nicht für den Verhaltensphänotyp in der schnellen Phototaxis verantwortlich.



**Abb.42: Rettungsversuche des Verhaltensphänotyps von *ebo*<sup>678</sup> in der schnellen Phototaxis**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N=100-117, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A26.

Für das Experiment wurden *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/FM7a-Jungfrauen mit Männchen der jeweiligen GAL4-Linie verpaart, so dass in der F1-Generation der jeweilige Genotyp von Interesse getestet werden konnte.

Der einzige Genotyp, der sich nicht signifikant von C-S unterscheidet und sich somit wildtypisch verhält, ist *ebo*<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;;*Appl*+ (p= 1,000). Beide Genotypen absolvieren im Median fünf Übergänge. Alle weiteren Rettungsversuche sind fehlgeschlagen; kein Ellipsoidkörper-spezifischer Treiber und auch mb247-GAL4, welcher in den Pilzkörpern, im Ellipsoidkörper und im fächerförmigen Körper (s. Tab.4) exprimiert, konnten ein wildtypisches Verhalten in der schnellen Phototaxis herstellen.

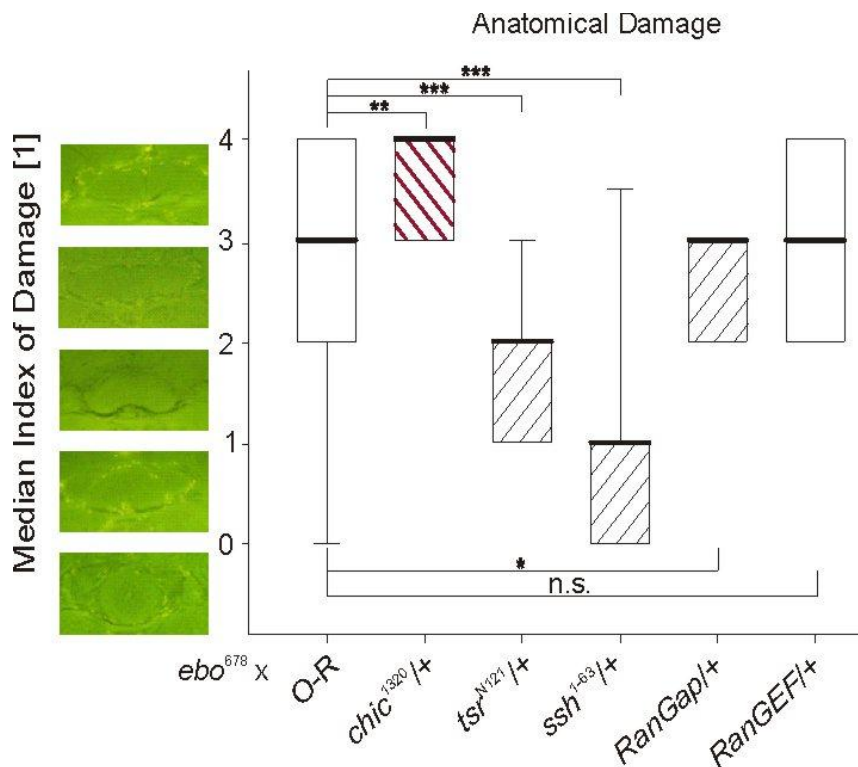
Tab.19: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.42

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)  | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |        |        |        |        |        |        |        |
|---|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|   | 1  | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      |
| Test gegen Gruppe:  |  |        |        |        |        |        |        |        |
| C-S (1) (N= 117)  |  |        |        |        |        |        |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Or83b/+ (2) (N= 100)  | 0,010  |        |        |        |        |        |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Appl/+ (3) (N= 115)   | ≈1,000   | 0,001  |        |        |        |        |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;mb247/+ (4) (N= 113)  | <0,001   | 0,015  | <0,001 |        |        |        |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;189Y/+ (5) (N= 110)   | <0,001   | 0,022  | <0,001 | ≈1,000 |        |        |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;;198Y/+ (6) (N= 110)  | <0,001   | 0,001  | <0,001 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;c305/+ (7) (N= 109)   | <0,001   | 0,414  | <0,001 | ≈1,000 | ≈1,000 | ≈1,000 |        |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;ftz-ng/+ (8) (N= 100) | <0,001   | ≈1,000 | <0,001 | 0,996  | ≈1,000 | 0,145  | ≈1,000 |        |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;a19/+ (9) (N= 112)    | <0,001   | ≈1,000 | <0,001 | 0,699  | 0,926  | 0,093  | ≈1,000 | ≈1,000 |



### 3.1.4. Genetische Interaktion

Da noch unbekannt ist, in welcher Weise EBO auf die Aktin-Filament-Homöostase einwirkt, wurde nach genetischen Interaktionspartnern von EBO gesucht. Hierfür wurden Mutationen mehrerer Gene herausgesucht, die sich in irgendeiner Form auf die Aktin-Filament-Homöostase auswirken. Dazu zählen u.a. *chic*<sup>1320</sup>, *tsr*<sup>N121</sup>, *ssh*<sup>1-63</sup>, *RanGAP* sowie *RanGEF*. Weiterhin wurden für *ebo*<sup>678</sup> homozygote Jungfrauen mit Männchen der jeweiligen Mutationslinie verpaart, so dass in der F1-Generation doppelt heterozygote Tiere entstanden, von denen sowohl das Detour-Verhalten als auch der anatomische Schaden untersucht wurden. Als Vergleich für alle Interaktionskreuzungen diente der Genotyp *ebo*<sup>678</sup>/Y;+/, welcher für eine bessere Vergleichbarkeit mit den anderen Genotypen aus einer Kreuzung mit dem Laborwildtyp O-R hervorgegangen war. Die anderen Genotypen bestanden aus *ebo*<sup>678</sup>/Y;*chic*<sup>1320</sup>/+, *ebo*<sup>678</sup>/Y;*ssh*<sup>1-63</sup>/+, *ebo*<sup>678</sup>/Y;*tsr*<sup>N121</sup>/+, *ebo*<sup>678</sup>/Y;*RanGAP*/+ und *ebo*<sup>678</sup>/Y;*RanGEF*/+. In Abb.43 sind die medianen Schadensklassen der verschiedenen Genotypen dargestellt. *ebo*<sup>678</sup>/Y;+/+ hat im Median eine Schadensklasse von drei, was einem undefiniert deformierten Ellipsoidkörper entspricht. *ebo*<sup>678</sup>/Y;*chic*<sup>1320</sup>/+ unterscheidet sich dazu hoch signifikant (p= 0,009) und zeigt im Median Schadensklasse vier, was einen geteilten Ellipsoidkörper darstellt. *ebo*<sup>678</sup>/Y;*tsr*<sup>N121</sup>/+ sowie *ebo*<sup>678</sup>/Y;*ssh*<sup>1-63</sup>/+ hingegen unterscheiden sich höchst signifikant von *ebo*<sup>678</sup>/Y;+/+ (p< 0,001, s. Tab.20), da beide Genotypen geringere anatomische Schäden im Median zeigen. *ebo*<sup>678</sup>/Y;*tsr*<sup>N121</sup>/+ hat einen Median von zwei und *ebo*<sup>678</sup>/Y;*ssh*<sup>1-63</sup>/+ sogar von lediglich eins. *ebo*<sup>678</sup>/Y;*RanGAP*/+ unterscheidet sich mit einem Median von drei signifikant von *ebo*<sup>678</sup>/Y;+/+ (p= 0,033), da im Gegensatz zu *ebo*<sup>678</sup>/Y;+/+ keine Verteilung der Daten in die niedrigeren Schadensklassen eins bis null und in die höchste Schadensklasse vier vorhanden ist. *ebo*<sup>678</sup>/Y;*RanGEF*/+ unterscheidet sich nicht signifikant von *ebo*<sup>678</sup>/Y;+/+ (p= 1,000) und weist einen Schadensklassen-Median von drei auf. Demnach kann aus dem Experiment mit dem Genotyp und *ebo*<sup>678</sup>/Y;*RanGEF*/+ bezüglich der anatomischen Phänotypausprägung keine Aussagen getroffen werden.



**Abb.43: Anatomische Schadensausprägung bei genetischen Interaktionskreuzungen**

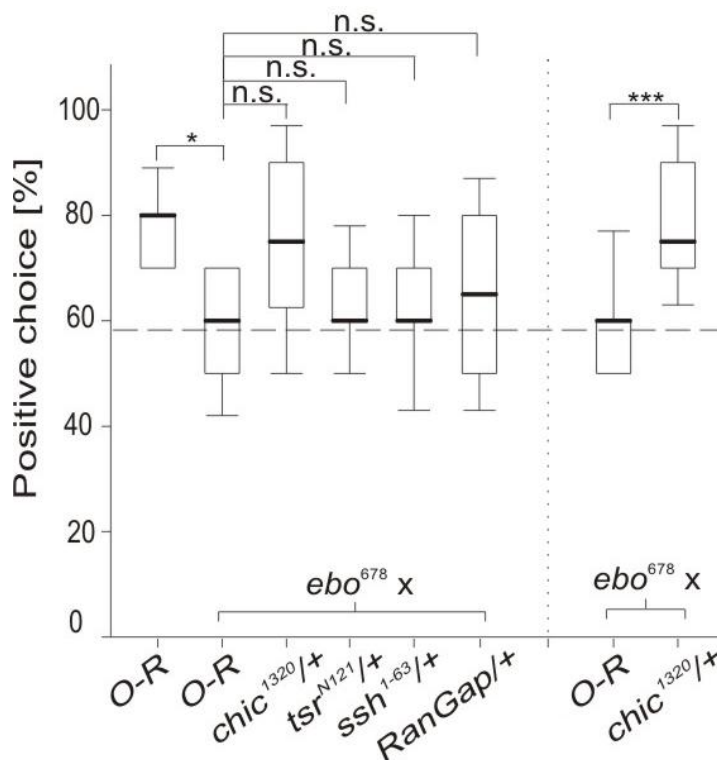
Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 93-140, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A27.

Man erkennt, dass sich der Genotyp  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  bezüglich seiner medianen anatomischen Schadensklasse im Vergleich zu  $ebo^{678}/Y;+/+$  (x O-R) hoch signifikant verschlechtert hat (p-Wert s. Tab.20). Des Weiteren zeigen  $ebo^{678}/Y;tsr^{N121}/+$  sowie  $ebo^{678}/Y;ssh^{1-63}/+$  jeweils eine höchst signifikant verbesserte Schadensklasse im Median als die Negativkontrolle  $ebo^{678}/Y;+/+$  (x O-R) (p-Werte s. Tab.20).  $ebo^{678}/Y;RanGAP/+$  unterscheidet sich aufgrund seiner geringeren Streuung signifikant von  $ebo^{678}/Y;+/+$  (x O-R), hat allerdings ebenso wie die Negativkontrolle einen Median von drei (p-Wert s. Tab.20).  $ebo^{678}/Y;RanGEF/+$  weist auch einen Median der anatomischen Schadensklasse von drei auf und unterscheidet sich nicht signifikant von  $ebo^{678}/Y;+/+$  (x O-R) (p-Wert s. Tab.20).

**Tab.20: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.43**

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)           | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |        |        |        |       |
|--|--|--------|--------|--------|-------|
|  | 1  | 2      | 3      | 4      | 5     |
| Test gegen Gruppe:                       |  |        |        |        |       |
| $ebo^{678}/Y;+/+$ (x O-R) (1) (N= 140)   |  |        |        |        |       |
| $ebo^{678}/Y;RanGAP/+$ (2) (N= 93)       | 0,033  |        |        |        |       |
| $ebo^{678}/Y;ssh^{1-63}/+$ (3) (N= 94)   | <0,001   | <0,001 |        |        |       |
| $ebo^{678}/Y;tsr^{N121}/+$ (4) (N= 100)  | <0,001   | 0,039  | 0,021  |        |       |
| $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$ (5) (N= 107) | 0,009  | <0,001 | <0,001 | <0,001 |       |
| $ebo^{678}/Y;RanGEF/+$ (6) (N= 112)      | ≈1,000   | 0,005  | <0,001 | <0,001 | 0,150 |

Abb.44 zeigt die Leistungen der Interaktionskreuzungen im Detour-Paradigma. Als Positivkontrolle fungiert der Laborwildtyp O-R mit 80%, als Negativkontrolle  $ebo^{678}/Y;+/+$  mit 60%. Zwischen beiden Kontrollen besteht mit einem p-Wert von 0,036 ein signifikanter Unterschied.  $ebo^{678}/Y;RanGEF/+$  konnte als einziger Genotyp, der auf seine Anatomie hin analysiert wurde, nicht im Detour-Paradigma untersucht werden, da er sich nicht bzw. nur äußerst selten von Balken ablenken ließ. Keiner der getesteten Genotypen zeigt eine signifikante Verschiedenheit zur Negativkontrolle (p-Werte s. Tab.21). Allerdings zeigt Tab.21, dass sich  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  ebenso wie O-R hoch signifikant vom Zufallsniveau unterscheiden ( $p= 0,004$ ), weshalb die Kreuzungen für  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  sowie  $ebo^{678}/Y;+/+$  erneut angesetzt wurden. Da beide Genotypen nun alternierend am selben Tag untersucht werden konnten, durfte der weniger scharfe statistische Mann-Whitney-Rank-Sum-Test angewendet werden, um die Daten miteinander zu vergleichen. Erneut zeigen  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  einen Median von 75% und  $ebo^{678}/Y;+/+$  von 60%, auch unterscheidet sich  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  wieder hoch signifikant vom Zufallsniveau ( $p= 0,004$ ). Es zeigt sich nun allerdings auch, dass ein höchst signifikanter Unterschied zwischen der Negativkontrolle und  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  besteht ( $p < 0,001$ ). Demnach kann der  $ebo^{678}$ -Verhaltensphänotyp im Detour-Paradigma durch die heterozygot vorhandene Mutation von  $chic^{1320}$  gerettet werden.



**Abb.44: Analyse des Orientierungsgedächtnisses der genetischen Interaktionsgenotypen**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 10-12, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A28.

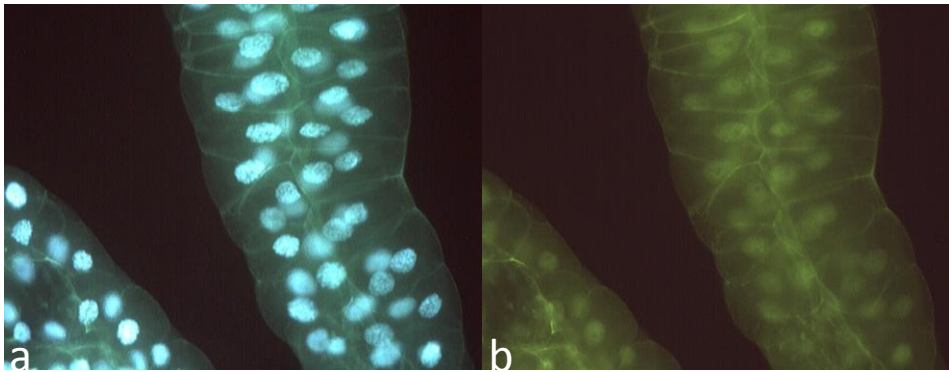
O-R unterscheidet sich signifikant von der Negativkontrolle  $ebo^{678}/Y;+/+$  (x O-R) ( $p=0,036$ ). Alle anderen Genotypen zeigen im Kruskal-Wallis-Test weder signifikante Unterschiede zur Negativkontrolle noch zu O-R ( $p$ -Werte s. Tab.21). Da aber  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  einen Median von 75% hat und zudem ebenso wie O-R hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau ist ( $p=0,004$ ), wurden die Kreuzungen  $ebo^{678} \times$  O-R sowie  $ebo^{678} \times chic^{1320}$  erneut angesetzt und parallel getestet. Daraus ergab sich, dass  $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$  mit einem Median von 75% höchst signifikant verschieden zu  $ebo^{678}/Y;+/+$  (x O-R) ( $p < 0,001$ ) und damit als Rettung des Verhaltensphänotyps anzusehen ist.

**Tab.21: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.44**

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)             | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |                 |                 |       |                 | p gegen Zufall |
|--|--|-----------------|-----------------|-------|-----------------|----------------|
| Test gegen Gruppe:                         | 1  | 2               | 3               | 4     | 5               | 58%            |
| O-R (1) (N= 10)                            |  |                 |                 |       |                 | 0,004          |
| $ebo^{678}/Y;+/+$ (O-R) (2) (N= 11)        | 0,036  |                 |                 |       |                 | 0,522          |
| $ebo^{678}/Y;RanGAP/+$ (3) (N= 12)         | 0,439  | $\approx 1,000$ |                 |       |                 | 0,150          |
| $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$ (4) (N= 12)    | $\approx 1,000$                                  | 0,214           | $\approx 1,000$ |       |                 | 0,004          |
| $ebo^{678}/Y;tsr^{N121}/+$ (5) (N= 11)     | 0,204  | $\approx 1,000$ | $\approx 1,000$ | 0,952 |                 | 0,071          |
| $ebo^{678}/Y;ssh^{1-63}/+$ (6) (N= 12)     | 0,113  | $\approx 1,000$ | $\approx 1,000$ | 0,592 | $\approx 1,000$ | 0,198          |
|  | B  |                 |                 |       |                 | 58%            |
| $ebo^{678}/Y;+/+$ (O-R) II (A) (N= 12)     | <0,001   |                 |                 |       |                 | 0,662          |
| $ebo^{678}/Y;chic^{1320}/+$ II (B) (N= 12) |  |                 |                 |       |                 | <0,001         |

### 3.1.5. Präparation von Speicheldrüsen bei *ebo*-mutanten-Tieren

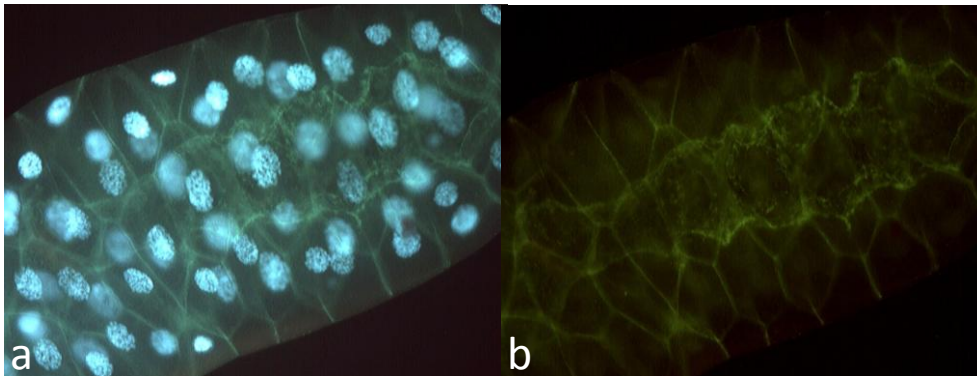
Da sich das *ebo*-Gen als das *Exp6*-Gen herausgestellt hat, kann bei *ebo*-Tieren kein normaler, EXP6-getragener Export aus dem Zellkern von Aktin-Profilin-Komplexen angenommen werden. Dies wiederum zieht Aktin-Anreicherungen im Zellkern nach sich (GALL, 2006; GÜTLER & GÖRLICH, 2011; PARK et al., 2011). Um diese Theorie bei *ebo*-Tieren zu belegen, wurden Speicheldrüsenpräparate angefertigt, da deren Zellkerne mit einem Durchmesser von ca. 20-30µm besonders groß sind, und anschließend mit DAPI inkubiert. Die zur Präparation angesetzte Kreuzung lieferte sowohl die Mutationstragenden Männchen *ebo*<sup>678</sup>/Y;189Y/UAS-GFP::Act als auch die wildtypischen weiblichen Kontrollen *ebo*<sup>678</sup>/X;189Y/UAS-GFP::Act, da *ebo* bekanntermaßen X-chromosomal rezessiv ist. Außer der Mutation beinhaltete der Genotyp eine UAS für mit Aktin fusioniertes GFP sowie die 189Y-GAL4-Treiberlinie, welche nicht nur in R3, sondern auch in den Speicheldrüsen von L3-Larven exprimiert. Somit konnte unter einem UV-Lichtmikroskop sowohl die DNA (mittles DAPI) als auch Aktin (mittels der GFP-Fusion) der Tiere sichtbar gemacht werden (Abb.45 & 46). Abb.45a zeigt in den *ebo*-mutanten Männchen sämtliche Zellkerne, die sich in diesem Ausschnitt befinden, Abb.45b zeigt, dass sich in allen Zellkernen in einem hohen Maß Aktin befindet, welches außerdem diffus im Zellkern verteilt ist (Abb.47). Die interne Kontrolle dieses Experiments wird in Abb.46a & b dargestellt und zeigt deutlich, dass Fliegen ohne die *ebo*-Mutation keine Aktinakkumulationen in den Zellkernen aufweisen. Die Mutation von *Exp6* verhindert demnach tatsächlich den Export von Aktin-Profilin-Komplexen aus dem Zellkern. Die Abbildungen 47a und b sind mittels eines konfokalen Mikroskops hergestellt worden und zeigen jeweils einen einzelnen beispielhaften Zellkern aus den in Abb.45 und Abb.46 verwendeten Speicheldrüsenpräparaten. Die grünen Bereiche stellen das GFP-fusionierte Aktin im Zellkern dar, die magentafarbenen Bereiche die mittels DAPI gefärbte DNA. Beide Zellkerne sind in ihrer medianen Ebene dargestellt und bei einem Vergleich beider Bilder wird erneut deutlich, dass nur die *ebo*-mutanten Tiere (Abb.47a) eine Aktin-Akkumulation im Zellkern aufweisen.



**Abb.45: Speicheldrüse des Genotyps  $ebo^{678}/Y;189Y/UAS-GFP::Act$   
a & b (100-fache Vergrößerung) Objektr.Nr.:A-11.3.2012**

**a** Die Zellkerne der Speicheldrüse sind mit DAPI sichtbar gemacht worden.

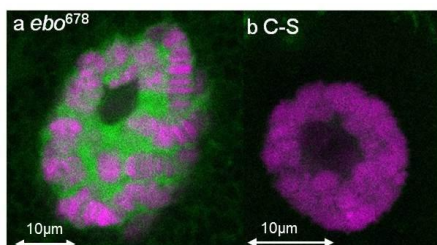
**b** Derselbe Ausschnitt der Speicheldrüse ist dargestellt, nun sieht man jedoch das mit GFP fusionierte Aktin. Es ist im Vergleich der beiden Bilder deutlich zu erkennen, dass sämtliche Zellkerne auf unterschiedliche Weise sichtbar gemacht wurden und sowohl in a als auch in b erkennbar sind.



**Abb.46: Speicheldrüse des Genotyps  $ebo^{678}/X;189Y/UAS-GFP::Act$   
a & b (100-fache Vergrößerung) Objektr.Nr.:C-11.3.2012**

**a** Die Zellkerne der Speicheldrüse sind mit DAPI sichtbar gemacht worden.

**b** Auf demselben Ausschnitt der Speicheldrüse sieht man durch GFP nur schwache, schemenhafte Andeutungen vereinzelter Zellkerne.

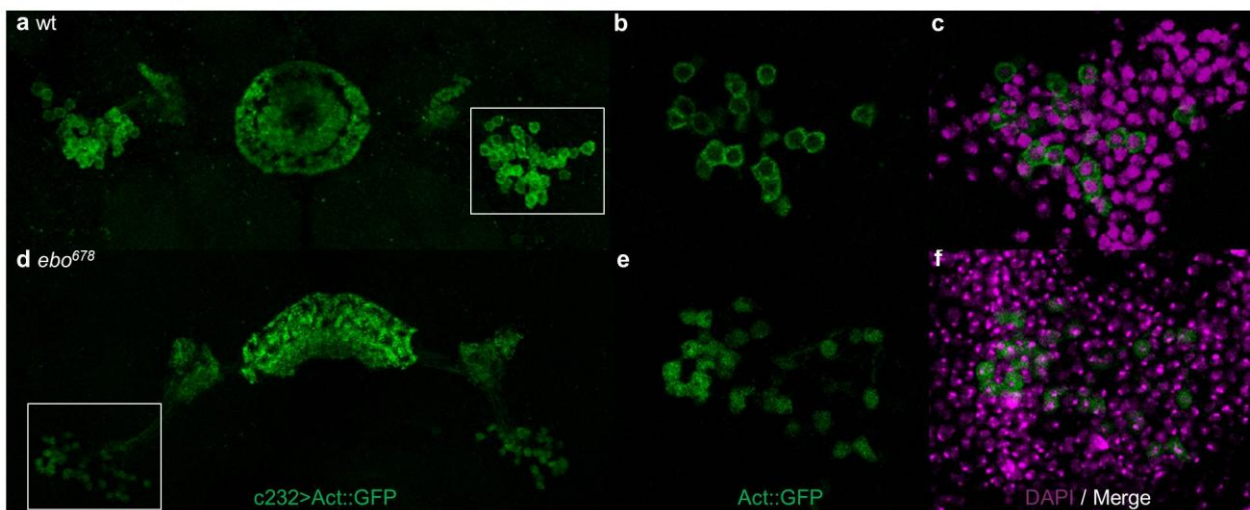


**Abb.47: Zellkerne dargestellt mittels konfokaler Mikroskopie  
(0,25µm virtuelle Schnittdicke; 630-fache Vergrößerung, Zoom: 2,8)**

**a** Genotyp:  $ebo^{678}/Y;189Y/UAS-GFP::Act$ . Es ist deutlich zu erkennen, dass im Zellkern der  $ebo$ -mutanten Speicheldrüse Aktin (grün) akkumuliert und komplementär um die DNA (magenta) angeordnet ist.

**b** Genotyp:  $ebo^{678}/X;189Y/UAS-GFP::Act$ . Die wildtypische Kontrolle weist keine Aktin-Ansammlung im Zellkern der Speicheldrüse auf, es ist nur DNA erkennbar.

Nachdem bei Larven die Aktinanreicherung in den Zellkernen von Speicheldrüsen gezeigt wurde, sollten nun auch die Zellkerne adulter *ebo*<sup>678</sup>-Tiere analysiert werden. Hierzu wurden Gehirne der Genotypen *ebo*<sup>678</sup>/X;UAS-Act::GFP;c232 (wildtypisch) sowie *ebo*<sup>678</sup>/Y;UAS-Act::GFP;c232 (*ebo*-Phänotyp) zu Ganzpräparaten verarbeitet und mit DAPI inkubiert. Die Auswertung erfolgte durch kofokale Mikroskopie und zeigt, dass die wildtypischen Zellkörper am Rand stark grün leuchten, was bedeutet, dass sich dort Aktin befindet (Abb.48b). In Abb.48e sind die Zellkörper der *ebo*<sup>678</sup>-Mutante zu sehen. Diese unterscheiden sich von den wildtypischen dadurch, dass hier Aktin homogen in den kompletten Zellkörpern verteilt ist, bis auf den Bereich des Nucleolus. Auch bei adulten *Drosophila* Nervenzellen ist demnach eine Akkumulation von Aktin im Zellkern zu verzeichnen.



**Abb.48: Konfokale Darstellung der Ringneuronengruppen R3 und R4d des Ellipsoidkörpers (0,76µm virtuelle Schnittdicke; 400-fache Vergrößerung, b-c & e-f Zoom: 4)**

a Vollständige Ansicht der wildtypischen Neuronengruppen R3 und R4d einschließlich ihrer Zellkörper.

b Vergrößerte Darstellung der Zellkörper aus a. Es ist deutlich zu erkennen, dass Aktin in den wildtypischen Zellkörpern marginal angeordnet ist. c zeigt deutlich, dass sich in den wildtypischen Zellkernen kein Aktin befindet.

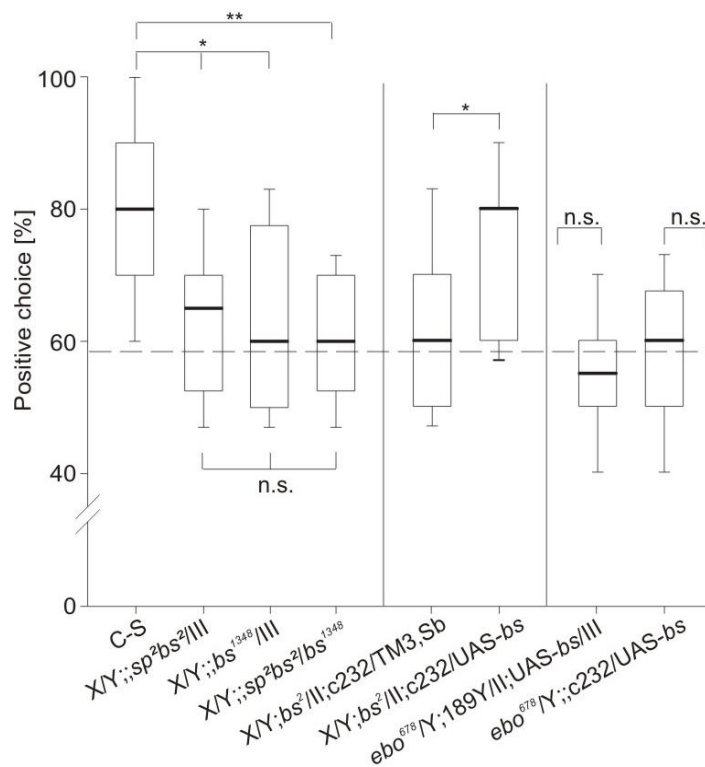
d Vollständige Ansicht von R3 und R4d inklusive Zellkörper bei *ebo*<sup>678</sup>. e stellt eine Zellkörpergruppe von *ebo*<sup>678</sup> aus d in der vierfachen Vergrößerung dar. Man erkennt, dass sich hier Aktin überall im Zellkörper verteilt, mit Ausnahme des Nucleolus. f verdeutlicht die Aussage, dass Aktin bei mutanten Tieren nicht im Nucleolus zu finden ist, sich ansonsten aber im gesamten Zellkörper verteilt.

### 3.1.6. Mit Aktin im Zusammenhang stehende Transkriptionsfaktoren

Es ist bekannt, dass der Transkriptionsfaktor *blistered* (*bs*), auch bekannt als *Serum Response Factor* (dSRF), die Expression von Genen moduliert, welche für strukturelle

sowie regulatorische Effektoren der Aktin-Dynamik und damit der neuronalen Motilität wie z.B. Zellmigration oder Zielfindung von Axonen codieren (KNÖLL & NORDHEIM, 2009; OLSON & NORDHEIM, 2010; KNÖLL, 2011). Des Weiteren spielt *bs* eine Rolle in der Ausbildung eines Langzeitgedächtnisses und reguliert die erfahrungsbedingte Schlafzunahme bei *Drosophila* (DONLEA ET AL., 2009;) und wird im Zusammenhang mit der terminalen Tracheenverästelung von *Drosophila* genannt (GERVAIS & CASANOVA, 2011). *bs* wird in seiner Aktivität wiederum durch die zwei Cofaktoren Ternary Complex Factor (TCF) und Myocardin-Related Transcription Factor (MRTF), auch bekannt als MAL, beeinflusst (HAN ET AL., 2004; KNÖLL, 2011; PAGEL & DEINDL, 2011), wobei die Regulation von *Mrtf* selbst für diese Arbeit von besonderem Interesse ist. *Mrtf* befindet sich in einer inaktiven Form im Cytoplasma, wenn monomeres globuläres Aktin (G-Aktin) an den Cofaktor gebunden ist (PAGEL & DEINDL, 2011; KNÖLL, 2011). Befindet sich demnach im Zellkern viel G-Aktin, was bei *ebo*-Mutanten nachgewiesen werden konnte, sind *Mrtf* und damit auch der Transkriptionsfaktor *bs* inaktiv. Deshalb wurden in dieser Arbeit sowohl *bs*- als auch *Mrtf*-Mutanten auf ihr Detour-Verhalten untersucht. Zunächst wurden zwei *bs*-Mutantenlinien getestet, welche unterschiedliche Allele betreffen,  $X/Y;;sp^2bs^2/III$  und  $X/Y;;bs^{1348}/III$ . Beide Genotypen zeigen mit einem Median von 65 bzw. 60% kein Orientierungsgedächtnis (Abb.49). Auch der Genotyp  $X/Y;;sp^2bs^2/bs^{1348}$ , welcher heterozygot für beide Allele ist, weist einen Verhaltensphänotyp im Detour-Paradigma auf. Daraufhin wurde ein Rettungsexperiment im *bs*-mutanten Hintergrund durchgeführt, was ebenfalls in Abb.49 zu sehen ist. Der Genotyp  $X/Y;bs^2/II;c232/UAS-bs$  wurde gegen die Negativkontrolle  $X/Y;bs^2/II;c232/TM3,Sb$  getestet, wobei sich herausstellte, dass durch die Expression von wildtypischem *bs* in den Ringneurongruppen R3 und R4d das Orientierungsgedächtnis wieder ausgebildet werden konnte. Die Rettung verhält sich mit einem Median von 80% nicht nur signifikant orientierter als die Negativkontrolle, sondern auch hoch signifikant verschieden zum Zufallsniveau. Nun war es interessant in Erfahrung zu bringen, ob auch im *ebo*-mutanten Hintergrund durch die Expression von wildtypischem *bs* die Ausbildung eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses wieder hergestellt werden kann. Hierfür wurden die zwei Rettungskreuzungen  $ebo^{678}/Y;189Y/II;UAS-bs/III$  sowie  $ebo^{678}/Y;;c232/UAS-bs$  analysiert (Abb.49). Weder die *bs*-Expression mittels 189Y- noch mittels c232-GAL4 konnten jedoch ein wildtypisches Verhalten im Detour-Paradigma hervorrufen. Beide Genotypen liegen auf Zufallsniveau mit einem Median von 55 bzw. 60%.





**Abb.49: Analyse des Orientierungsgedächtnisses von *blistered*-Mutanten und den Rettungskreuzungen**

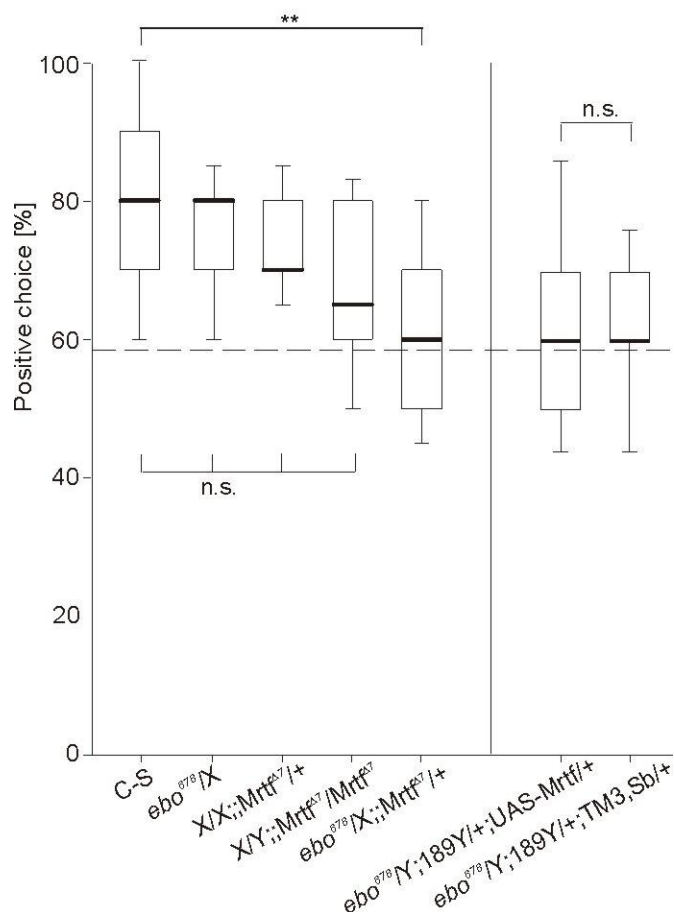
Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 16 für alle Gruppen, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A29.

Sowohl  $X/Y;;sp^2bs^2/III$  als auch  $X/Y;;bs^{1348}/III$  verhalten sich signifikant verschieden zu C-S und nicht signifikant unterschiedlich zum Zufallsniveau (p-Werte s. Tab.22). Tiere, welche heterozygot für beide Allele der *bs*-Mutation sind, liegen ebenfalls auf Zufallsniveau und sind hoch signifikant schlechter im Detour-Verhalten als der Laborwildtyp. Der Rettungsversuch im *bs*-mutanten Hintergrund konnte zeigen, dass bei Expression des wildtypischen *bs* in R3 und R4d der Verhaltensphänotyp im Detour-Paradigma verbessert wurde.  $X/Y;bs^2/II;c232/UAS-bs$  verhält sich signifikant orientierter als die Negativkontrolle  $X/Y;bs^2/II;c232/TM3,Sb$ . Jedoch ist es nicht möglich im *ebo*-mutanten Hintergrund mittels der Expression von wildtypischem *bs* das Orientierungsgedächtnis wieder herzustellen.  $ebo^{678}/Y;189Y/II;UAS-bs/III$  sowie  $ebo^{678}/Y;;c232/UAS-bs$  liegen beide auf Zufallsniveau (p= 0,200 und p= 0,861).

Tab.22: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.49

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)  | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |        |        | p gegen Zufall |
|---|--|--------|--------|----------------|
|   | 1  | 2      | 3      |                |
| Test gegen Gruppe:  |  |        |        | 58%            |
| C-S (1) (N= 16)   |  |        |        | <0,001         |
| X/Y;; <i>sp<sup>2</sup>bs<sup>2</sup></i> /III (2) (N= 16)              | 0,023  |        |        | 0,075          |
| X/Y;; <i>bs<sup>1348</sup></i> /III (3) (N= 16)                         | 0,018  | ≈1,000 |        | 0,123          |
| X/Y;; <i>sp<sup>2</sup>bs<sup>2</sup>/bs<sup>1348</sup></i> (4) (N= 16) | 0,002  | ≈1,000 | ≈1,000 | 0,224          |
|   | B  |        |        | 58%            |
| X/Y; <i>bs<sup>2</sup></i> /II;c232/TM3,Sb (A) (N= 16)                  | 0,025  |        |        | 0,184          |
| X/Y; <i>bs<sup>2</sup></i> /II;c232/UAS- <i>bs</i> (B) (N= 16)          |  |        |        | 0,001          |

Nach der Analyse von *bs* wurde der Cofaktor *Mrtf* im Detour-Paradigma untersucht. Es wurde sowohl eine mögliche genetische Interaktion zwischen *ebo* und *Mrtf* als auch ein Rettungsversuch im *ebo*-mutanten Hintergrund mittels der Expression von *Mrtf* in R3-Ringneuronen überprüft (Abb.50). Das genetische Interaktionsexperiment ergab, dass weder heterozygote *ebo<sup>678</sup>*-Weibchen noch heterozygote *Mrtf<sup>Δ7</sup>*-Weibchen einen Verhaltensphänotyp zeigten. Auch *Mrtf<sup>Δ7</sup>*-homozygote Tiere verhielten sich wildtypisch. Weibchen mit dem Genotyp *ebo<sup>678</sup>/X;;Mrtf<sup>Δ7</sup>/+* lagen mit einem Median von 60% jedoch auf Zufallsniveau und haben demnach kein Orientierungsgedächtnis. Die Rettungskreuzung im *ebo*-mutanten Hintergrund mittels 189Y-GAL4 verhielt sich nicht verschieden zum Zufallsniveau und der Negativkontrolle, d.h., die Expression von *Mrtf* in R3 kann keinen Verhaltensphänotyp in *ebo<sup>678</sup>*-Tieren retten.



**Abb.50: Analyse des Orientierungsgedächtnisses von *Mrtf*-Mutanten und Rettungskreuzungen**

Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 14-16, One-Sample-t-Test, Sign-Test, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test, Kruskal-Wallis-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A30.

Sowohl die weiblichen heterozygoten *ebo*-Tiere als auch die heterozygot *Mrtf*-mutanten Weibchen verhalten sich nicht signifikant schlechter als C-S (p-Werte s. Tab.23). Auch homozygot *Mrtf*-mutante Tiere verhalten sich wildtypisch. Bei der genetischen Interaktionskreuzung stellt sich jedoch heraus, dass *ebo*<sup>678</sup>/X;;*Mrtf*<sup>Δ7</sup>/+ kein Orientierungsgedächtnis aufbauen kann und hoch signifikant schlechter als C-S ist. Der Rettungsversuch durch die Expression von *Mrtf* in R3 im *ebo*-mutanten Hintergrund scheiterte jedoch.

Tab.23: p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.50

| Genotyp (Gruppen #) (Anzahl N)  | Irrtumswahrscheinlichkeit p gegen andere Gruppen |        |        |        | p gegen Zufall |
|---|--|--------|--------|--------|----------------|
|   | 1  | 2      | 3      | 4      |                |
| Test gegen Gruppe:  | 1  | 2      | 3      | 4      | 58%            |
| C-S (1) (N= 16)   |  |        |        |        | <0,001         |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /X (2) (N= 14)                                | ≈1,000   |        |        |        | <0,001         |
| X/X;; <i>Mrtf</i> <sup>Δ7</sup> /+ (3) (N= 14)                          | ≈1,000   | ≈1,000 |        |        | <0,001         |
| X/Y;; <i>Mrtf</i> <sup>Δ7</sup> / <i>Mrtf</i> <sup>Δ7</sup> (4) (N= 16) | 0,209  | ≈1,000 | ≈1,000 |        | 0,005          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /X;; <i>Mrtf</i> <sup>Δ7</sup> /+ (5) (N= 14) | 0,001  | 0,026  | 0,053  | ≈1,000 | 0,536          |
|   | B  |        |        |        |                |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;189Y/+;UAS- <i>Mrtf</i> /+ (A) (N= 13)     | 0,522  |        |        |        | 0,484          |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;189Y/+;TM3,Sb/+ (B) (N= 13)                |  |        |        |        | 0,151          |

### 3.1.7. Histologie zu allen durchgeführten Experimenten

Nach jedem durchgeführten Verhaltensexperiment wurden die zuvor getesteten Fliegen nach der Kragenmethode (s. 2.4.1) gefädelt und ihre Gehirne zu mikroskopischen Präparaten verarbeitet. Auf diese Weise konnte die grobmorphologische Ausprägung des jeweiligen Strukturdefektes aufgezeichnet werden.

Alle in dieser Arbeit untersuchten Laborwildtypen zeigten ein anatomisch intaktes Gehirn auf und werden daher in den folgenden Tabellen nicht erneut aufgelistet.

Die histologische Auswertung der im Buridan'schen Paradigma getesteten Tiere wird in Tab.24 dargestellt. Die Tabellen 25-38 geben eine Übersicht der im Detour-Paradigma untersuchten Genotypen.

**Tab.24: Anatomische Analyse der im Buridan`schen Paradigma getesteten Genotypen.**

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (x WT-B)                        | 3           | 9      | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav</i> + <i>AppI</i> +    | 11          | 0      | 1    |
| <i>X</i> / <i>Y</i> ;+/+; <i>elav</i> + <i>AppI</i> +                                      | 12          | 0      | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (x WT-B)                     | 6           | 4      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav</i> + <i>AppI</i> + | 6           | 0      | 6    |
| <i>X</i> / <i>Y</i> ;+/+; <i>elav</i> + <i>AppI</i> +                                      | 9           | 0      | 3    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>AppI</i> +               | 8           | 0      | 3    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /3282 <sup>M7</sup>                | 1           | 6      | 5    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /c305                              | 1           | 8      | 3    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /189Y                              | 7           | 4      | 1    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>AppI</i> +                  | 10          | 0      | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;c305/+                         | 0           | 12     | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;CyO/+                          | 4           | 6      | 2    |

**Tab.25: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.31.**

| Genotyp   | Eb          |        |      |
|---|-------------|--------|------|
|   | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (x WT-B)                     | 2           | 7      | 5    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav</i> + <i>AppI</i> + | 12          | 0      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>AppI</i> +               | 13          | 0      | 1    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /189Y                           | 2           | 6      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /c305                           | 1           | 5      | 6    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c547/+                       | 1           | 11     | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>EY</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+                       | 1           | 7      | 2    |

**Tab.26: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.32.**

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (x WT-B)             | 1           | 9      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav+AppI</i> /+ | 10          | 0      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>AppI</i> /+      | 11          | 0      | 1    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /189Y                   | 8           | 3      |      |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /c305                   | 0           | 7      | 5    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c42/+                | 7           | 3      | 1    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c547/+               | 4           | 4      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+               | 5           | 7      | 0    |

**Tab.27: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.33.**

| Genotyp   | Eb          |        |      |
|---|-------------|--------|------|
|   | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M5</sup> /Or83b             | 5           | 5      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M5</sup> / <i>elav+AppI</i> | 3           | 0      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M5</sup> / <i>AppI</i>      | 0           | 7      | 5    |

**Tab.28: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.34.**

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i>   | 0           | 8      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;Or83b/+                      | 4           | 10     | 1    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;c232/+                       | 2           | 7      | 3    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;189Y/+                       | 6           | 2      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;EB1/+                        | 9           | 1      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;198Y/+                       | 8           | 1      | 3    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;ftz-ng/+                     | 7           | 8      | 6    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;a19/+                        | 15          | 2      | 1    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;c305/+                       | 1           | 7      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+ | 6           | 0      | 6    |

**Tab.29: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.35.**

| Genotyp   | Eb          |        |      |
|---|-------------|--------|------|
|   | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;Cha/+                        | 8           | 0      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;GAD1/+                      | 7           | 3      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;GAD1/+ | 15          | 0      | 0    |

**Tab.30: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.36.**

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup> 18 > 25°C     | 0           | 0      | 12   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+ 18 > 25°C | 6           | 2      | 4    |

**Tab.31: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.37.**

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 18 > 25°C | 10          | 4      | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 25°C      | 10          | 2      | 0    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 25 > 18°C | 6           | 9      | 0    |

**Tab.32: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.38.**

| Genotyp                            | Eb          |        |      |
|------------------------------------|-------------|--------|------|
|                                    | wildtypisch | mutant | n.a. |
| X/Y;189Y/+;UAS- <i>ebo</i> -RNAi/+ | 9           | 0      | 3    |

**Tab.33: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.39.**

| Genotyp               | Eb          |        |      |
|-----------------------|-------------|--------|------|
|                       | wildtypisch | mutant | n.a. |
| X/Y;c305/+;npf-RNAi/+ | 11          | 0      | 1    |

Tab.34: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.40.

| Genotyp                   | Eb          |        |      |
|---------------------------|-------------|--------|------|
|                           | wildtypisch | mutant | n.a. |
| X/Y;c305/+;FMRFaRNAi/+    | 17          | 0      | 1    |
| X/Y;189Y/+;FMRFaRNAi/+    | 13          | 0      | 2    |
| X/Y;;FMRFaRNAi/ftz-ng     | 12          | 0      | 3    |
| X/Y;;FMRFaRNAi/+;;;198Y/+ | 11          | 0      | 4    |
| X/Y;EB1/+;FMRFaRNAi       | 10          | 0      | 5    |

Tab.35: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.42.

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Or83b/+  | 48          | 19     | 33   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;AppI/+   | 88          | 1      | 26   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;mb247/+  | 51          | 14     | 48   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;189Y/+    | 50          | 24     | 36   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;;198Y/+  | 66          | 14     | 30   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+    | 18          | 45     | 46   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;ftz-ng/+ | 38          | 13     | 49   |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;a19/+    | 63          | 5      | 44   |

Tab.36: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.44.

| Genotyp   | Eb          |        |      |
|---|-------------|--------|------|
|   | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;+/+ (O-R)                          | 0           | 7      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;RanGAP/+                           | 0           | 8      | 4    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y; <i>chic</i> <sup>1320</sup> /+    | 0           | 10     | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y; <i>tsr</i> <sup>N121</sup> /+     | 2           | 7      | 2    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y; <i>ssh</i> <sup>1-63</sup> /+     | 0           | 7      | 5    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;+/+ (O-R) II                       | 1           | 8      | 3    |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y; <i>chic</i> <sup>1320</sup> /+ II | 2           | 8      | 2    |



Tab.37: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.49.

| Genotyp  | Eb          |        |      |
|--|-------------|--------|------|
|  | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>X/Y;;sp<sup>2</sup>bs<sup>2</sup>/III</i>               | 16          | 0      | 0    |
| <i>X/Y;;bs<sup>1348</sup>/III</i>                          | 16          | 0      | 0    |
| <i>X/Y;;sp<sup>2</sup>bs<sup>2</sup>/bs<sup>1348</sup></i> | 16          | 0      | 0    |
| <i>X/Y;bs<sup>2</sup>/II;c232/TM3,Sb</i>                   | 15          | 0      | 1    |
| <i>X/Y;bs<sup>2</sup>/II;c232/UAS-bs</i>                   | 16          | 0      | 0    |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;189Y/II;UAS-bs/III</i>              | 2           | 10     | 4    |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;;c232/UAS-bs</i>                    | 2           | 14     | 0    |

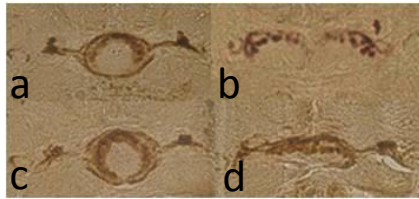
Tab.38: Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.50.

| Genotyp   | Eb          |        |      |
|---|-------------|--------|------|
|   | wildtypisch | mutant | n.a. |
| <i>ebo<sup>678</sup>/X (N= 14)</i>                      | 14          | 0      | 0    |
| <i>X/X;;Mrtr<sup>A7</sup>/+ (N= 14)</i>                 | 14          | 0      | 0    |
| <i>X/Y;;Mrtr<sup>A7</sup>/Mrtr<sup>A7</sup> (N= 16)</i> | 0           | 14     | 2    |
| <i>ebo<sup>678</sup>/X;;Mrtr<sup>A7</sup>/+ (N= 14)</i> | 14          | 0      | 0    |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;189Y/+;UAS-Mrtr/+ (N= 13)</i>    | 0           | 11     | 2    |
| <i>ebo<sup>678</sup>/Y;189Y/+;TM3,Sb/+ (N= 13)</i>      | 0           | 11     | 2    |

Bei Betrachtung der anatomischen Auswertung der im Detour-Paradigma getesteten Fliegen fällt auf, dass keine Korrelation zwischen dem grobhistologischen und dem Verhaltensphänotyp zu verzeichnen ist. Fliegen, die in der Lage sind, ein Orientierungsgedächtnis auszubilden, zeigen mit Ausnahme der Laborwildtypen sowohl grobmorphologisch intakte als auch defekte Ellipsoidkörper. Andersherum gibt es Fliegen, die zwar kein Orientierungsgedächtnis haben, aber grobmorphologisch intakte Ellipsoidkörper aufweisen.

Zur Verdeutlichung der anatomischen Schadensausprägung innerhalb eines Genotyps wurden immunhistologische Analysen von *ebo<sup>678</sup>/Y;UAS-mCD8:GFP/c305*, einem Genotyp im *ebo<sup>678</sup>*-mutanten Hintergrund ohne die UAS-Sequenz für das wildtypische *ebo*-Gen, und *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;UAS-mCD8:GFP/c305*, einem Genotyp im *ebo<sup>678</sup>*-mutanten Hintergrund mit UAS-Rettungskonstrukt für wildtypisches EBO, durchgeführt. Abb.51 a-d zeigen vier verschiedene Ellipsoidkörper-Anatomien bei einem *ebo<sup>678</sup>*-mutanten Genotyp. Der Phänotyp variiert zwischen grobmorphologisch wildtypisch (a)

über eine ventrale Einkerbung (c) bis hin zur vollständigen Teilung des Ellipsoidkörpers (b). Auch diffuse Deformationen des Zentralkomplex-Neuropils sind zu verzeichnen (d).



**Abb.51: Varianz in der anatomischen Schadensausprägung bei  $ebo^{678}/Y;UAS-mCD8:GFP/c305$**

**a-d** (Objektträger-Nr. 91, 7.7.2010, 200-fache Vergrößerung; Paraffintechnik) Zu sehen sind 7µm dünne Frontalschnitte in der Ebene des Ellipsoidkörpers von vier verschiedenen Individuen.

**a** Der Eb zeigt (auch bei zusätzlicher Betrachtung der nachfolgenden Schnittebenen; hier nicht gezeigt) keinen grobmorphologischen Defekt und damit eine wildtypische Anatomie.

**b** Es besteht eine komplette Teilung des Ebs, so dass zwei kleinere ventral geöffnete Ebs zu sehen sind.

**c** Der Eb zeigt eine ventrale Kerbe.

**d** Es ist eine undefinierbare horizontale Verformung des Ebs in Kombination mit einer ventralen Öffnung zu erkennen.

Ebenfalls verschiedene Ausprägungen des anatomischen Phänotyps im  $ebo^{678}$ -mutanten Hintergrund sind in Abb.52a-c dargestellt. Dieser Genotyp besteht hingegen aus einer Rettungskreuzung, die eine UAS-Sequenz für das wildtypische  $ebo$ -Gen auf dem X-Chromosom trägt. Abb.52a zeigt eine dorsale Einschnürung des Ellipsoidkörpers mit Tendenz zur medialen Teilung, b eine ventrale Öffnung des Neuropils und c eine komplette Teilung in der Mitte des Ellipsoidkörpers, so dass zwei kleine ventral geöffnete Neuropile erkennbar sind. Abb.51 und 52 zeigen deutlich, dass sowohl Fliegen im  $ebo$ -mutanten Hintergrund mit und ohne exprimiertem Rettungskonstrukt grobmorphologisch intakte, sowie in verschiedener Weise defekte Ellipsoidkörper aufweisen.



**Abb.52: Varianz in der anatomischen Schadensausprägung bei  $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;UAS-mCD8:GFP/c305$**

**a-c** (a Objektträger-Nr. 62, 16.7.2010, b & c Objektträger-Nr. 193, 23.7.2010, 200-fache Vergrößerung; Paraffintechnik) Zu sehen sind 7µm dünne Frontalschnitte in der Ebene des Ellipsoidkörpers von drei verschiedenen Individuen.

**a** Der Eb zeigt eine dorsale Einkerbung, die einer teilweisen Teilung des Ebs gleicht.

**b** Es ist erkennbar, dass der Eb ventral geöffnet ist.

**c** Der Eb ist vollständig geteilt und ventral nicht geschlossen.

## 4. Diskussion

### 4.1. gurkenflieger<sup>C31</sup>

#### 4.1.1. Buridan`sches Paradigma

Die Rettungsversuche bezüglich des defizienten Laufverhaltens von *grf*<sup>C31</sup> lieferten mehrere Erkenntnisse. Beispielsweise verschwand durch Veränderung des genetischen Hintergrunds bei der UAS-Linie *grf*<sup>C31</sup>-UAS-*grf*/FM7a gekreuzt mit WT-B der Laufphänotyp der Strukturmutante. Dieser konnte allerdings bei männlichen Tieren der Kreuzung *grf*<sup>C31</sup>-UAS-*grf*/FM7a;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ wiederum nachgewiesen werden, da hier durch das UAS-mCD8:GFP-Konstrukt und die Einkreuzung von Or83b-GAL4 erneut der genetische Hintergrund verändert wurde. Ein weiterer interessanter Aspekt, der durch die Buridan-Experimente gezeigt wurde, ist die Tatsache, dass die panneurale Expression von *grf*<sup>C31</sup> via *elav+Appl*-GAL4 eine negative Wirkung auf das Laufverhalten hat. Fliegen mit dem Genotyp *grf*<sup>C31</sup>-UAS-*grf*/Y;+/+;*elav+Appl*/+ verhielten sich bezüglich der Anzahl an Übergängen, zurückgelegten Laufdistanz, Durchschnittsgeschwindigkeit und Aktivität nicht nur statistisch signifikant schlechter als die GAL4-Kontrolle, sondern auch als die Kontrolle der UAS-Linie, welche wie bereits erwähnt gar keinen Phänotyp zeigte. Die Begründung für dieses neomorphe Verhalten muss in der starken Überexpression von *grf*<sup>C31</sup> im gesamten Nervensystem der Fliegen liegen. Zu große Mengen von *grf*<sup>C31</sup> an Orten, wo dieses Gen kaum oder auch gar nicht exprimiert wird, beeinträchtigen offensichtlich das Laufverhalten von *Drosophila*.

Außer dem panneuralen Rettungsversuch wurde eine weitere Rettungskreuzung via NP2320-GAL4 auf ihr Laufverhalten untersucht, welche in einem relativ kleinen und definierten Bereich des Gehirns exprimiert. Dieser Bereich besteht aus den kolumnaren Neuronen des fächerförmigen Körpers sowie den lateralen Triangeln. Eine zusätzliche Veränderung zum ersten Rettungsexperiment stellt die bei der zweiten Kreuzungsreihe verwendete UAS-Linie dar. Letztere beinhaltet außer der Mutation *grf*<sup>C31</sup> und der UAS-Sequenz für das wildtypische Gen *grf*<sup>C31</sup> auf dem ersten Chromosom noch eine UAS-Sequenz mit dem nachgeschalteten Gen für GFP auf dem zweiten Chromosom, um nach den Experimenten immunhistologische Präparate anfertigen zu können. Dementsprechend lautet der Genotyp für diese Linie *grf*<sup>C31</sup>-UAS-*grf*/+;UAS-mCD8:GFP/+. Des Weiteren wurde dieser Stamm nicht wie beim panneuralen

Rettungsversuch mit WT-B sondern der GAL4-Linie Or83b gekreuzt, welche ausschließlich in den Antennalloben exprimiert, die nicht in die Regelung des Laufverhaltens involviert sind. Auch die GAL4-Linie NP2320 wurde mit Or83b gekreuzt. Auf diese Weise herrschte bei allen getesteten und miteinander verglichenen Genotypen ein doppelt-heterozygoter Zustand vor. Die untersuchten Tiere der UAS-Kontrollkreuzung  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ wiesen einen reduzierten  $grf^{C31}$ -Phänotyp auf. D.h., dass die insgesamt absolvierte Laufstrecke sowie die durchschnittliche Aktivität statistisch signifikant verringert waren. Die Fliegen, welche den Genotyp  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;NP2320/UAS-mCD8:GFP hatten, zeigten ähnliche Verhaltensdefizite bezüglich aller vier Laufparameter wie der panneurale Rettungsversuch. Es wurden sowohl eine stark verminderte Aktivität als auch eine verringerte Durchschnittsgeschwindigkeit verzeichnet, woraus eine reduzierte Anzahl an Übergängen und eine geringere Laufdistanz resultieren. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die Überexpression von  $grf^{C31}$  auch in den kolumnaren Neuronen und oder den lateralen Triangeln zu einer negativen Beeinflussung des Laufverhaltens führt. Die Orientierung zu einem Objekt betreffend ist festzustellen, dass sich die Strukturmutante  $grf^{C31}$  diesbezüglich wildtypisch verhält. Auch bei den Rettungsexperimenten mit *elav+AppI*- und NP2320-GAL4 konnten weder bei den Kontrollen der UAS-Linien noch bei den Rettungskreuzungstieren defiziente Orientierungswerte verzeichnet werden. Lediglich die Kontrolle der NP2320-GAL4-Linie zeigte mit 27° mittlerem medianen Fehlerwinkel eine statistisch signifikant schlechtere Objektorientierung als die gleichzeitig getesteten zwei anderen Genotypen  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ und  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;NP2320/UAS-mCD8:GFP, was allerdings keinen Einfluss auf das Verhalten der Rettungskreuzung hatte.

Bei der anatomischen Auswertung der im Buridan'schen Paradigma getesteten Fliegen wurde festgestellt, dass weder *elav+AppI*- noch NP2320-GAL4 strukturelle Defekte in der Grobmorphologie aufwiesen. Weiterhin verbesserte sich das Verhältnis von grobmorphologisch wildtypischen zu defizienten Gehirnen, wenn man die Anatomie der UAS-Linien mit den jeweilig zugehörigen Rettungskreuzungen vergleicht. So zeigen die experimentellen Tiere des Genotyps  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;+/+ (WT-B) ein wildtypisch-zu-defekt-Verhältnis von 1/5 Ellipsoidkörpern und 3/3 fächerförmigen Körpern, der Genotyp  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;+/+;*elav+AppI*/+ weist hingegen nur noch ein Verhältnis von 6/1 Ellipsoidkörpern und 6/0 fächerförmigen Körpern auf. Bei der Kreuzung mit NP2320-GAL4 fällt die Auswertung der Grobmorphologie ähnlich aus. Hier zeigen alle Tiere der

Rettungskreuzung wildtypische Ellipsoid- und fächerförmige Körper, die Negativkontrolle der UAS-Linie  $grf^{C31}$ -UAS-*grf*/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+ jedoch zeigte 7/2 wildtypische zu defekten Ellipsoidkörpern und 5/3 wildtypische zu defekten fächerförmigen Körpern. Wie bereits beschrieben verschlechterte sich trotz dieser grobmorphologischen Verbesserung das Laufverhalten derselben Tiere. Das bedeutet, dass zumindest die Grobmorphologie bei  $grf^{C31}$ -defizienten Fliegen keine Rolle bezüglich der Laufparameter Laufdistanz, Durchschnittsgeschwindigkeit, Aktivität und Anzahl an Übergängen spielen kann. Die Vermutung liegt allerdings nahe, dass in der feineren Morphologie der getesteten „Rettungskreuzungen“ noch immer Defekte vorlagen.

#### 4.1.2. Detour-Paradigma

Sowohl die panneurale als auch die gewebespezifischere Rettung via NP2320-GAL4 des wildtypischen Gens  $grf^{C31}$  im  $grf^{C31}$ -mutanten Hintergrund führten dazu, dass die getesteten Fliegen ein räumliches Orientierungsgedächtnis ausbilden konnten. Es reicht demnach bei  $grf^{C31}$ -mutanten Fliegen bereits aus, das wildtypische Gen in den kolumnaren Neuronen des fächerförmigen Körpers sowie den lateralen Triangeln zu exprimieren, um den Verhaltensphänotyp des Detour-Paradigmas zu retten. Außerdem wurde durch die Kreuzung mit hsp70-GAL4 gezeigt, dass  $grf^{C31}$  lediglich akut und nicht bereits während der Entwicklung benötigt wird, um ein räumliches Orientierungsgedächtnis auszubilden. Bezüglich der Autofluoreszenz- sowie der immunhistologischen 1:1-Histologie ist auffällig, dass bei beiden Rettungskreuzungen einige Fliegen, die einen grobmorphologisch defekten Ellipsoidkörper aufweisen, in der Lage sind, ein Orientierungsgedächtnis auszubilden. Umgekehrt verhält es sich bei Fliegen mit einem grobmorphologisch intakten Ellipsoidkörper so, dass diese Tiere zum Teil kein Orientierungsgedächtnis haben. Demnach gibt es bei  $grf^{C31}$ -mutanten Tieren keine Korrelation zwischen dem Defekt in der groben Anatomie und dem Verhaltensphänotyp bezüglich des Orientierungsgedächtnisses.

#### 4.1.3. Flügelphänotyp

Wie das räumliche Orientierungsgedächtnis konnte auch der Flügelphänotyp von  $grf^{C31}$  mittels des panneuralen Treibers *Appl*-GAL4 und NP2320-GAL4 gerettet werden. Das

seitliche Flügelabspreizen war bei dem Genotyp *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;Or83b/+* an 21 von 25 Tieren zu erkennen, was 85% entspricht. Bei der untersuchten F1-Generation der panneuralen Kreuzung *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/+;AppI/+* zeigte ausschließlich eine von 44 untersuchten Fliegen den bei *grf<sup>C31</sup>* beschriebenen Flügelphänotyp; dies entspricht einer wildtypischen Flügelstellung von 98%. Die Flügelstellung des Genotyps *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-mCD8:GFP/NP2320* war sogar zu 100% wildtypisch (25 von 25 Fliegen). Dies könnte bedeuten, dass tatsächlich kolumnare Neurone des fächerförmigen Körpers und oder der lateralen Triangel an dem Prozess der Flügelbewegung bzw. Flügelstellung beteiligt sind. Andererseits ist es auch möglich, dass Neurone, die sich beispielsweise im Thorax befinden, ebenfalls in das Expressionsmuster von NP2320 fallen, da letzteres bislang nur im Gehirn untersucht wurde. Da die panneurale GAL4-Linie *AppI* bekanntermaßen sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem exprimiert, könnte auch die Expression von *grf<sup>C31</sup>* in Motoneuronen, falls NP2320-GAL4 ebenfalls in selbigen exprimierte, für die Rettung des Flügelphänotyps verantwortlich sein. Diese Möglichkeiten müssten in weiteren Experimenten und der genauen Analyse des NP2320-GAL4-Expressionsmusters untersucht werden.

#### 4.1.4. Resümee der *gurkenflieger<sup>C31</sup>*-Ergebnisse

Zusammenfassend lässt sich bezüglich der Experimente an der Strukturmutation *grf<sup>C31</sup>* feststellen, dass bei einer zu großen neuronalen Menge von *grf<sup>C31</sup>* oder aber der *grf<sup>C31</sup>*-Expression in den falschen Gehirnbereichen der Laufverhaltensphänotyp der Strukturmutante im Buridan'schen Paradigma noch verschlimmert wird. Die Orientierung zu einem Objekt verändert sich allerdings nicht, bleibt demnach wildtypisch. Außerdem korreliert die Ausprägung der Grobmorphologie nicht mit dem defizienten Phänotyp im Laufverhalten. Durch das Detour-Paradigma kann geschlussfolgert werden, dass die Überexpression des wildtypischen Gens *grf<sup>C31</sup>* im Expressionsmuster von NP2320-GAL4 zu einer Wiederherstellung eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses bei der Mutante führt und dass *grf<sup>C31</sup>* hierfür ausschließlich akut benötigt wird. Auch hier korreliert die Anatomie des Gehirns nicht mit dem Phänotyp im Verhalten. Der Flügelphänotyp von *grf<sup>C31</sup>* konnte ebenfalls panneural, aber auch nur mittels NP2320-GAL4 gerettet werden. Hierbei stellt sich die Frage, ob NP2320 eventuell ein größeres Expressionsmuster als bisher veröffentlicht aufweist und

z.B. ebenfalls in thoracalen Motoneuronen treibt, welche für die Flügelstellungsrettung verantwortlich wären. Um diese Frage zu beantworten, muss das gesamte Expressionsmuster erfasst werden. Stellt sich dabei heraus, dass NP2320-GAL4 tatsächlich nur auf das Gehirn beschränkt ist, so würde dies die Bedeutsamkeit von *grf*<sup>C31</sup> in den kolumnaren Neuronen des fächerförmigen Körpers und oder der lateralen Triangel in Bezug auf die Flügelstellung beweisen.

## 4.2. *ellipsoid-body-open*

Ausgangspunkt für die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente mit der Strukturmutante *ebo* war das Wissen um die Notwendigkeit wildtypischer *ign*-Expression in den Ringneurongruppen des Ellipsoidkörpers bezüglich eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses (NEUSER et al., 2008) sowie der Tatsache, dass Fliegen im *ebo*-mutanten Hintergrund kein Orientierungsgedächtnis im Detour-Paradigma ausbilden können. Zudem zeigten STRAUSS & HEISENBERG 1993 mittels Experimenten im Buridan`schen Paradigma, dass *ebo*<sup>KS263</sup> in den letzten drei Minuten der 15-minütigen Versuchsdauer einen Abfall der Laufaktivität sowie eine verringerte Laufgeschwindigkeit aufweist und *ebo*<sup>678</sup> zwar eine konstante Laufaktivität, dafür jedoch ebenfalls eine herabgesetzte Laufgeschwindigkeit hat. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand u.a. darin, durch die Verwendung spezifischer Expressionsmuster und einer *ebo*-cDNA sowohl die Laufverhaltensdefizite auszugleichen als auch das fehlende Orientierungsgedächtnis wiederherzustellen. Des Weiteren wurde der *ebo*-Verhaltensphänotyp in der schnellen Phototaxis durch Rettungsexperimente via gewebespezifischer GAL4-Treiberlinien untersucht. Zuletzt wurde versucht, genetische Interaktionspartner von *ebo* in Bezug auf das räumliche Orientierungsgedächtnis und damit die molekulare Funktion von EBO in den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers zu bestimmen.

### 4.2.1. Buridan`sches Paradigma

Die beiden ersten Beobachtungen, die aus den Buridan-Experimenten im *ebo*-mutanten Hintergrund gewonnen wurden, waren einerseits die Tatsache, dass bei Veränderung des genetischen Hintergrundes der UAS-Linien *ebo*<sup>EY</sup>/FM7a;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup> sowie *ebo*<sup>KS263</sup>/FM7a;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup> durch Einkreuzung von WT-B der Verhaltensphänotyp im

Laufverhalten verloren geht; andererseits die Feststellung, dass eine ektopische Überexpression von *ebo* via *elav+AppI*-GAL4 einen neomorphen Phänotyp schafft. Dieser Phänotyp ähnelt dem in Kapitel 4.1.1. beschriebenen Verhalten von *grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+AppI/+*, allerdings sind die Tiere im *ebo*-mutanten Hintergrund nicht nur extrem langsam und bewegen sich kaum, sondern weisen zudem einzelne Sequenzen von mehreren aufeinanderfolgenden Sprüngen auf. Lediglich die Orientierung zum angelaufenen Balken bleibt unbeeinträchtigt. Auch die *ebo*-Überexpression via *AppI*-GAL4 verursachte ein reduziertes Laufverhalten bezüglich der Geschwindigkeit und der Anzahl an Übergängen zwischen zwei Landmarken, wenngleich diese Tiere keine Sprungsequenzen zeigten. Außerdem war bei der *AppI*-GAL4-Überexpression die Orientierung stark beeinträchtigt, so dass ein mittlerer medianer Fehlerwinkel von 29° gemessen wurde. Demnach wirkt sich eine zu hohe Konzentration an *ebo* oder auch das ektopische Vorhandensein von *ebo* negativ auf das Laufverhalten aus, welches im Buridan'schen Paradigma untersucht wird. Bei Analyse der UAS-Linie, die auf dem zweiten Chromosom homozygot bezüglich der UAS-Sequenz für das *ebo*-Gen war, konnte ein Verhaltensdefekt beobachtet werden, der alle aufgezeichneten Parameter mit Ausnahme der Orientierung betraf. Dieser Phänotyp konnte mittels 189Y-GAL4 vollständig gerettet werden. Die GAL4-Linien *AppI* und *c305* konnten nur teilweise eine Rettung bzw. einen intermediären Phänotyp hervorrufen, verschlechterten allerdings beide das Orientierungsverhalten. So wurden mittels *AppI*-GAL4 zwar die Anzahl an Übergängen zwischen zwei Landmarken auf ein intermediäres und die Distanz sowie die Aktivität auf ein wildtypisches Niveau gebracht, die durchschnittliche Geschwindigkeit blieb allerdings defizient. Die Expression via *c305*-GAL4 konnte lediglich einen intermediären Phänotyp der Distanz bewirken, so dass die Distanz sowohl nicht signifikant verschieden zum wildtypischen Vergleich als auch zur Negativkontrolle war. Zuletzt wurde im Buridan'schen Paradigma der Laufverhaltensdefekt von Tieren mit dem Genotyp *ebo<sup>678</sup>SD3282<sup>#23</sup>/Y;CyO* untersucht. Es stellte sich heraus, dass diese UAS-Linie in jedem Parameter mit Ausnahme der Aktivität Defekte aufwies, welche mittels *c305*-GAL4 zu retten versucht wurden. Auch in diesem Fall konnte *c305*-GAL4 nur einen Parameter, die durchschnittliche Geschwindigkeit, zu einem intermediären Phänotyp verbessern, so dass weder ein Unterschied zum Wildtyp noch zur Negativkontrolle zu verzeichnen war. Es lässt sich abschließend feststellen, dass eine zu große Menge an *ebo* einem wildtypischen Laufverhalten nicht zuträglich ist. Durch eine Überexpression an *ebo* im *ebo*-mutanten



---

Hintergrund mittels der Ringneurongruppe-R3-spezifischen Treiberlinie 189Y-GAL4 jedoch die Defizite im Laufverhalten ausgeglichen werden können.

#### 4.2.2. Schnelle Phototaxis

Die Rettungsversuche in der schnellen Phototaxis haben gezeigt, dass die panneurale Expression von *ebo* via *AppI*-GAL4 den Verhaltensphänotyp von *ebo* in diesem Paradigma retten konnte. Weitere Experimente, bei denen versucht wurde, mittels gewebespezifischeren GAL4-Linien ein wildtypisches Verhalten im *ebo*-mutanten Hintergrund auszulösen, scheiterten jedoch. Diese spezifischen Treiberlinien waren 198Y- (R1), c305- (R2 & R4d), 189Y- (R3), ftz-ng- (R4), a19- (R4m) sowie mb247-GAL4 (Pilzkörper, äußerer Ring des Eb, vermutlich R4; POECK et al., 2008). D.h., dass die wildtypische Expression des *ebo*-Gens in Neuronen des Ellipsoidkörpers sowie der Pilzkörper nicht dafür verantwortlich ist, die schnelle Phototaxis erfolgreich zu absolvieren. Interessanterweise wurde der Phänotyp durch die Rettungsversuche mittels ftz-ng-, a19- sowie mb247-GAL4 sogar noch verschlimmert. Da alle diese Linien die Expression in R4-Ringneuronen teilen, kann man vermuten, dass eine Überexpression an *ebo* in R4-Ringneuronen mindestens einen Verhaltensparameter (z.B. effektives Herausfinden aus einer Fliegenansammlung von 20 Tieren oder optimale Beinkoordination, um möglichst schnell zum Licht zu gelangen), welcher in der schnellen Phototaxis benötigt wird, negativ beeinflusst. Um festzulegen, welcher Bereich im *Drosophila*-Gehirn *ebo* benötigt, damit die schnelle Phototaxis erfolgt, sollten weitere Rettungsversuche durchgeführt werden, die GAL4-Treiberlinien einschließen, welche z.B. den fächerförmigen Körper oder die Protocerebralbrücke als Expressionsort aufweisen. Auch muskelspezifische Treiberlinien müssen in Betracht gezogen werden.

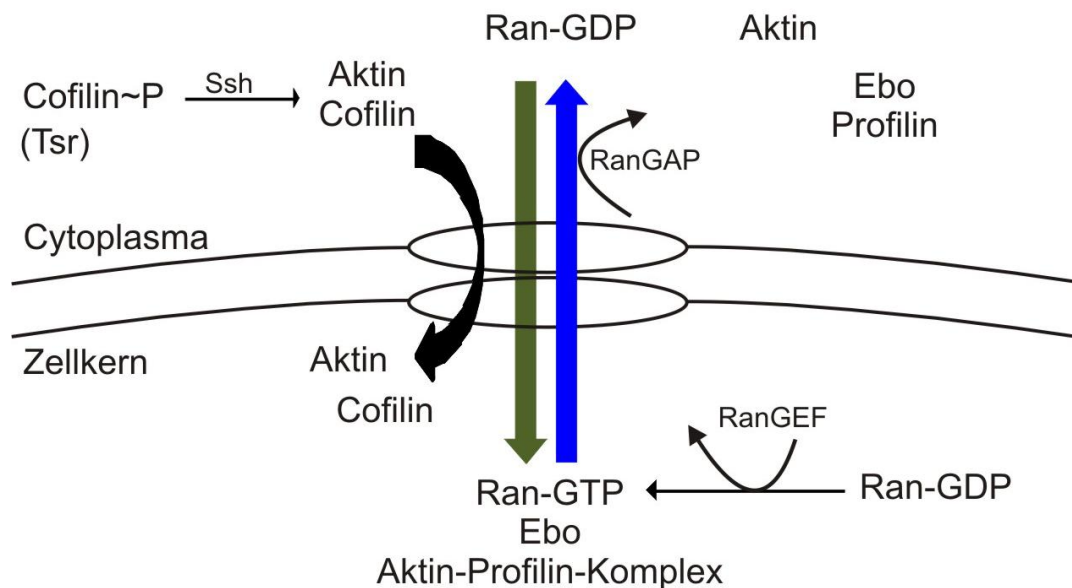
#### 4.2.3. Detour-Paradigma

Die Ergebnisse der verschiedenen Rettungsexperimente im *ebo*-mutanten Hintergrund liefern mehrere interessante Informationen. Einerseits wurde durch die Kreuzungsversuche mittels der verschiedensten Ringneuronen-spezifischen Treiberlinien deutlich, dass in den Ringneuronen des Ellipsoidkörpers die Menge an exprimiertem EBO essentiell ist, um ein Orientierungsgedächtnis auszubilden. Ist die Menge ausreichend, kann in jeder einzelnen Ringneurongruppe durch die Expression

von *ebo* ein wildtypisches Orientierungsgedächtnis hervorgerufen werden. Andererseits wurde durch die wärmeinduzierten Rettungsexperimente die akute Funktion von *ebo* in Bezug auf das Orientierungsgedächtnis nachgewiesen, nachdem man erkannte, dass der grobmorphologische Schaden bei *ebo*-Fliegen nicht mit deren Verhalten im Detour-Paradigma korrelierte, d.h., die Konnektivität der Ringneurone trotz eines deformierten Ellipsoidkörpers vorhanden ist. Des Weiteren konnte zwar nicht festgestellt werden, dass nur eine bestimmte Sorte von Neuronen, GABAerge oder cholinerge, im Ellipsoidkörper für die Rettung des Verhaltensphänotyps verantwortlich sind, allerdings war es möglich ein Neuropeptid ausfindig zu machen, welches in den Ringneurongruppen R2 sowie R4 zur Bildung eines Orientierungsgedächtnisses benötigt wird. Dieses Neuropeptid ist FMRFamid, ein Tetrapeptid, dessen Name vom Einbuchstabencode der Aminosäuren herrührt, dem u.a. eine Rolle beim Häutungsverhalten der *Drosophila*-Larven zugesprochen wird und welches von KAHSAI & WINTHER 2011 im Ellipsoidkörper in GABAergen Ringneuronen nachgewiesen wurde (NÄSSEL & WINTHER, 2010; TAGHERT & NITABACH, 2012). Zudem wurde durch das RNAi-Experiment, bei dem in den R3-Neuronen des Ellipsoidkörpers *ebo* ausgeschaltet wurde, gezeigt, dass auf diese Art das Orientierungsgedächtnis nicht mehr ausgebildet werden kann. Diese Feststellung mag zunächst verwundern, da es schließlich ausreicht, wenn im *ebo*-mutanten Hintergrund lediglich in einem der vier Ringneuronenuntergruppen wildtypisches *ebo* exprimiert wird, damit die Fliegen sich wieder im Detour-Paradigma orientieren können. Allerdings bietet die Tatsache, dass mindestens ein diffusibler Faktor aufgedeckt werden konnte, nämlich das Neuropeptid FMRFamid, welches an der Orientierungsgedächtnisbildung beteiligt ist, die Möglichkeit, dass u.a. mittels dieses Peptids die verschiedenen Ringsysteme aufeinander einwirken. So könnte z.B. das Ausschalten eines Ringsystems dazu führen, dass selbiges nicht mehr hemmend oder auch aktivierend auf ein weiteres Ringsystem wirkt, so dass die Informationsweiterleitung innerhalb des Ellipsoidkörpers derart gestört würde, dass letztlich keine GABA-Ausschüttung und damit auch keine Inhibierung downstream gelegener Neurone erfolgen könnte. Bei der Rettung in nur einem einzigen Ringsystem wären die anderen Ringneuronenuntergruppen noch immer „still“, so dass der Output je nach Menge an *ebo* in diesem Ringsystem erfolgen und die Fliege sich dadurch an vorangegangene Orientierungen erinnern kann.

#### 4.2.4. Genetische Interaktion

Durch die genetischen Interaktionskreuzungen sollte in Erfahrung gebracht werden, mit welchen molekularen Komponenten *ebo* in Bezug auf den Verhaltensphänotyp im Detour-Paradigma sowie auf den anatomischen Defekt interagiert. Heringezogen wurden hierfür Mutationslinien, deren Funktionen mit Aktin im Zusammenhang stehen. Diese Linien waren *slingshot* (*ssh*), *twinstar* (*tsr*), *chickadee* (*chic*), *Ran-GTPase-Activating-Protein* (*RanGAP*) sowie *Ran-Guanine-nucleotide-Exchange-Factor* (*RanGEF*). *ssh* ist eine Phosphatase, die *tsr*, das *Drosophila*-Homolog zu Cofilin bei Vertebraten (NG & LUO, 2004), dephosphoryliert und damit aktiviert. Dieses löst wiederum einen dynamischen Zytoskelettabbau aus, da *tsr* ein Aktin-Depolymerisationsfaktor ist (BLAIR et al., 2006). Bei Vertebraten ist Cofilin u.a. für das Auseinanderbauen von F-Aktin in G-Aktin verantwortlich sowie für die Kontrolle der Neuritenentwicklung (FLYNN ET AL., 2012). Des Weiteren wirkt *tsr* als ein essentieller Regulator der intranukleären Aktin-Menge (Abb.50) (DOPIE ET AL., 2012). *chic* codiert für ein Profilin-Protein und wirkt damit positiv auf die Aktin-Polymerisation (COOLEY et al., 1992; STÜVEN et al., 2003). *RanGAP* und *RanGEF* interagieren beide mit jeweils einer Form des kleinen G-Proteins Ran. Ran kommt intrazellulär in zwei verschiedenen Guaninnukleotid-gebundenen Formen vor, als *RanGDP* und *RanGTP*. *RanGDP* wird via *RanGEF* in *RanGTP* umgewandelt und *RanGAP* kehrt seinerseits *RanGTP* wieder in *RanGDP* um, wodurch *RanGTP* seine GTPase-Aktivität erlangt und den nukleären Transport reguliert. *RanGAP* befindet sich außerhalb, *RanGEF* innerhalb des Zellkerns. Diese zwei Proteine gewährleisten durch ihren Kreislauf, dass intranukleär ein hoher *RanGTP*-Gehalt und im Cytoplasma viel *RanGDP* vorkommen (HAWLEY, 2001; MINAKHINA ET AL., 2005; YUDIN & FAINZILBER, 2009; GÜTTLER & GÖRLICH, 2011). In Abb.53 sind die Zusammenhänge zwischen *ssh*, *tsr*, *RanGAP* und *RanGEF* schematisch dargestellt. Abschließend lässt sich bezüglich der Wirkung auf die Aktin-Polymerisation feststellen, dass letztere durch *chic* positiv beeinflusst, allerdings durch *ssh* und *tsr* gehemmt wird. *RanGAP* sowie *RanGEF* sind beiderseits essentiell, um entlang des *RanGDP/RanGTP*-Gradienten sowohl den nukleären Aktin-Ex- als auch Import zu ermöglichen (DOPIE ET AL., 2012).



**Abb.53: Schema der *ebo*-Funktion bezüglich des nukleären Exports von Aktin-Profilin-Komplexen**  
 Dargestellt sind die Wirkweisen von *ssh*, *tsr* (Cofilin), *RanGAP* und *RanGEF* im Zusammenhang mit dem Aktin-Profilin-Export, welcher durch *ebo* vermittelt wird (Schema erstellt nach STÜVEN et al., 2003; MINAKHINA ET AL., 2005; MASON & GOLDFARB, 2009; YUDIN & FAIZILBER, 2009; GÜTTLER & GÖRLICH, 2011; SIMON & WILSON, 2011).

Die Ergebnisse der genetischen Interaktionsexperimente deuten darauf hin, dass der nukleäre Export von Aktin-Profilin-Komplexen für die korrekte Grobmorphologie der Ringneurone verantwortlich ist. Sowohl Tiere, die doppelt-heterozygot für *ebo* und *ssh*, *ebo* und *tsr* bzw. *ebo* und *RanGAP* sind, weisen eine signifikant niedrigere mediane Schadensklasse auf als ihre Negativkontrolle. Dies bedeutet, dass durch die Mutation von *ssh*, *tsr* oder *RanGAP* der nukleäre Aktin-Cofilin-Komplex-Import gestört ist und dadurch die mangelnde Fähigkeit des Aktin-Exports aus dem Zellkern weniger folgenschwere Auswirkungen hat, da sich bei doppelt-heterozygoten Fliegen weniger nukleäres Aktin akkumuliert als bei der *ebo*-Mutation alleine. Bezüglich der Detour-Experimente mit den Interaktionskreuzungslinien ergab sich, dass ausschließlich Tiere, die sowohl die *ebo*- als auch *chic*-Mutation tragen, eine Rettung des Verhaltensgenotyps im Vergleich zur Negativkontrolle zeigen. Dieses Ergebnis legt nahe, dass die durch *chic* regulierte Aktin-Filament-Homöostasis das Verhalten im Detour-Paradigma beeinflusst. Interessanterweise steht die Rettung des Verhaltensphänotyps bei der *ebo-chic*-Doppelmutante in starkem Kontrast zum verstärkten anatomischen Schaden derselben Mutante. Daher ist es wahrscheinlich, dass der sich während der Entwicklung bildende Strukturdefekt von *ebo* und der Verhaltensphänotyp adulter *ebo*-Tiere durch verschiedene zellbiologische Aktin-

---

Funktionen im Ellipsoidkörper verursacht werden. Die Ursache des deformierten Ellipsoidkörpers liegt vermutlich in der reduzierten Aktin-Polymerisation, wohingegen das fehlende räumliche Orientierungsgedächtnis durch die nukleäre Aktin-Akkumulation in Ellipsoidkörperneuronen bedingt ist.

#### **4.2.5. Präparation von Speicheldrüsen sowie Gehirnen bei *ebo*-mutanten-Tieren**

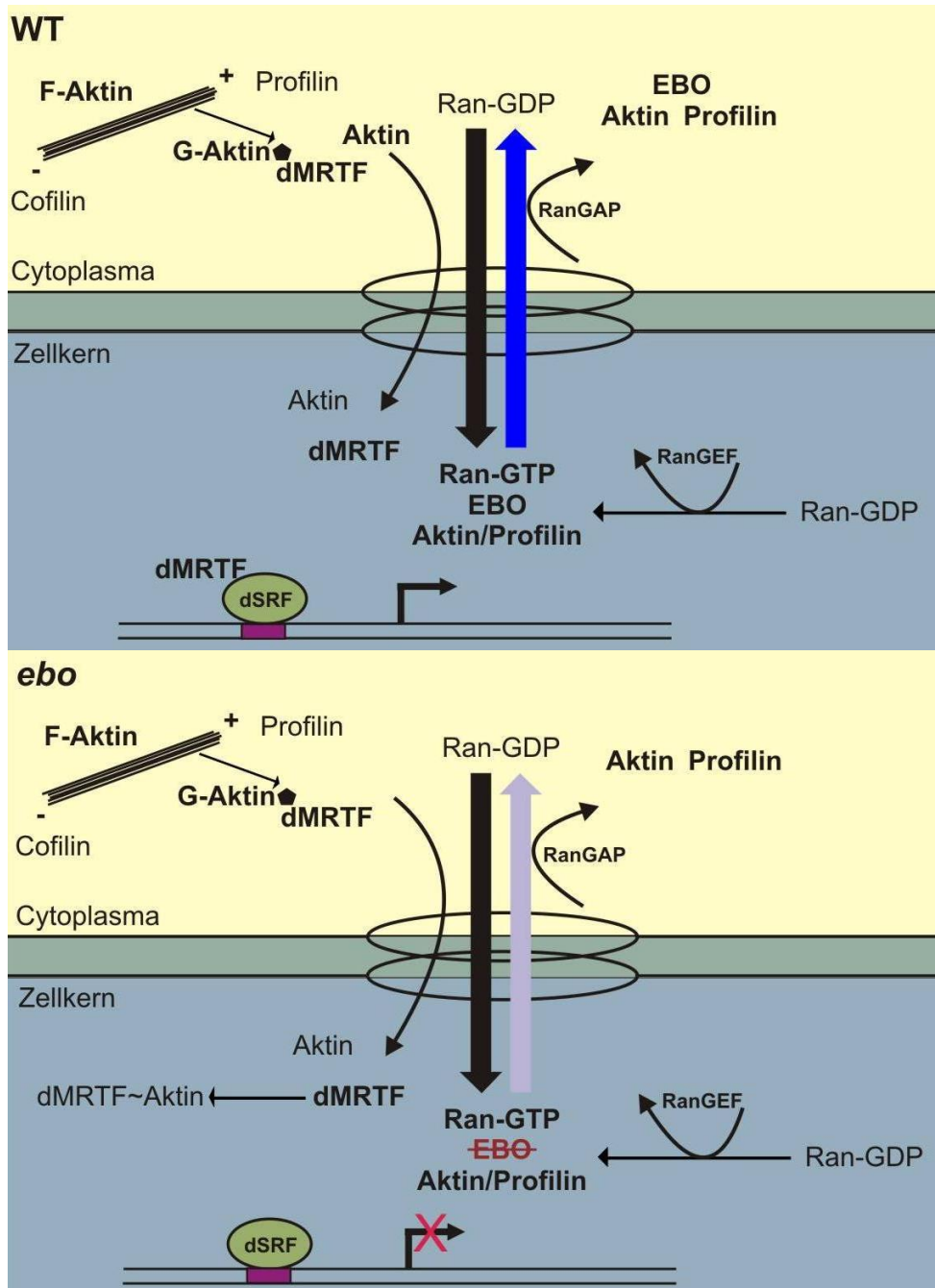
Durch den Beweis, dass im Gegensatz zum Laborwildtyp bei der *ebo*-Mutationslinie sowohl in den Speicheldrüsen-Zellkernen der Larve als auch in den Ellipsoidkörper-Zellkernen adulter Tiere tatsächlich diffuse Aktin-Akkumulationen zu finden sind, da der Aktin-Profilin-Komplex-Export nicht mehr erfolgen kann, erschließt sich eine neue Theorie bezüglich des mangelnden Orientierungsgedächtnisses. So könnte es möglich sein, dass durch die Ansammlung von Aktin der Fluss anderer für das Orientierungsgedächtnis essentieller Proteine behindert oder derart verlangsamt wird, dass selbige ihre Funktion nicht mehr ausreichend ausführen können. Aktin selbst ist als Strukturprotein ein Bestandteil des Zytoskeletts und damit u.a. für die zelluläre Beweglichkeit sowie den intrazellulären Transport verantwortlich. Es ist in allen eukaryotischen Zellen zu finden (RÖPER et al., 2005). Da die Aktin-Polymerisierung für Lernen und Gedächtnisbildung unerlässlich ist (VISHWASRAO et al., 2012), wurde auch die Möglichkeit eines Zusammenhangs mit dem Orientierungsgedächtnis nicht ausgeschlossen. Dennoch könnte das Fehlen des letzteren bei *ebo* auch durch die räumliche Behinderung im Zellkern durch kristalline Aktinanhäufungen ausgelöst werden. Zudem besteht die Möglichkeit, dass *ebo* aufgrund fehlerhafter Regulation von Transkriptionsfaktoren den Verhaltensphänotyp in der Detour-Arena aufweist, da nukleäres Aktin auch mit der Kontrolle spezifischer Transkriptionsfaktoren in Zusammenhang steht und eine Komponente aller drei RNA-Polymerasen-Typen darstellt (DOPIE ET AL., 2012; ZHENG ET AL., 2009; OLSON & NORDHEIM, 2010; BECK ET AL., 2012).

#### **4.2.6. Detour-Analyse von *blistered*- und *Mrtf*-Mutanten**

Um den Einfluss nukleären Aktins auf die Transkriptionsfaktoren zu überprüfen, welche im Zusammenhang mit der Ausbildung eines räumlichen Orientierungsgedächtnisses

stehen könnten, erfolgten Detour-Analysen mittels *blistered(bs)*- und *Mrtf*-mutanten Tieren. Wie bereits in Kapitel 3.1.6. erläutert, ist *bs* ein Transkriptionsfaktor bei *Drosophila*, welcher in Vertebraten als *Serum Response Factor (SRF)* bekannt ist und bei selbigen u.a. die Transkription von Profilin aktiviert (PIPES ET AL., 2006). *bs* reguliert Gen-Expressionen, welche ihrerseits Einfluss auf Aktin-Dynamiken nehmen (KNÖLL & NORDHEIM, 2009; OLSON & NORDHEIM, 2010; KNÖLL, 2011). Da der *Myocardin-Related-Transcription-Factor (MRTF)*, einer der Cofaktoren von *bs*, durch monomeres globuläres Aktin (G-Aktin) inaktiviert wird, und demnach auch *bs* inaktiv bleibt (VARTIAINEN ET AL., 2007; HIDEMI & MATSUURA, 2011; KNÖLL, 2011; PAGEL & DEINDL, 2011), waren die Mutationslinien für die Gene *bs* und *Mrtf* besonders attraktiv für eine genauere Untersuchung in Bezug auf ein räumliches Orientierungsgedächtnis und der *ebo*-Mutation, da nachweislich Aktin-Akkumulationen in den Zellkernen *ebo*-mutanter Tiere zu finden sind und schlussfolgernd in selbigen Tieren *Mrtf* und damit auch *bs* weitgehend inaktiv sind (Abb.54). Beide Allele für die *bs*-Mutation zeigten tatsächlich kein Orientierungsgedächtnis im Detour-Paradigma. Durch *bs*-Expression mittels der Ringneuronengruppen-R3/R4d-spezifischen Treiberlinie *c232-GAL4* im *bs*-mutanten Hintergrund konnte der Verhaltensphänotyp des fehlenden Orientierungsgedächtnisses gerettet werden. Im *ebo*<sup>678</sup>-mutanten Hintergrund reichte die *bs*-Expression via *189Y*- und *c232-GAL4* allerdings nicht für eine Rettung des Verhaltensphänotyps aus. Dieses Ergebnis erscheint jedoch ziemlich naheliegend, da der Wirkmechanismus des Transkriptionsfaktors *bs* funktionsfähiges *Mrtf* benötigt, was bei der *ebo*-Mutation durch die nukleäre Aktin-Anreicherung nicht gegeben ist. Nach den Detour-Experimenten bezüglich der *bs*-Funktion erfolgte die Analyse von *Mrtf*. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen einerseits, dass die *Mrtf*-Expression im *ebo*<sup>678</sup>-mutanten Hintergrund in R3-Ringneuronen den Verhaltensphänotyp nicht retten kann, was wahrscheinlich daran liegt, dass nicht genug *Mrtf* überexprimiert wurde, um die nukleäre Aktin-Anreicherung in *ebo*<sup>678</sup> abzufangen. Andererseits zeigt sich, dass eine genetische Interaktion zwischen *ebo* und *Mrtf* existiert, da sich sowohl heterozygote *ebo*<sup>678</sup>-Weibchen, heterozygote *Mrtf*<sup>Δ7</sup>-Weibchen als auch *Mrtf*<sup>Δ7</sup>-homozygote Tiere wildtypisch verhielten, jedoch Tiere des Genotyps *ebo*<sup>678</sup>/*X*; *Mrtf*<sup>Δ7</sup>/+ kein Orientierungsgedächtnis aufweisen. *ebo* inaktiviert demnach aufgrund der nukleären Aktin-Akkumulation den SRF-Transkriptionalen-Aktivator-Komplex, was zum Verlust des räumlichen Orientierungsgedächtnisses führt. Da in Vertebraten SRF u.a. für die Aktivierung der Profilin-Transkription verantwortlich ist (PIPES ET AL., 2006) und bei *Drosophila* im *ebo*-

mutanten Hintergrund der anatomische Schaden durch die Reduktion von Profilin (*chickadee*) noch verstärkt wurde, ist es des Weiteren möglich, dass die Wirkung von *ebo* auf den SRF-Transkriptionalen-Aktivator-Komplex nicht nur für das Orientierungsgedächtnis, sondern ebenfalls für die Entwicklung eines anatomisch korrekten Ellipsoidkörpers essentiell ist.



**Abb.54: Suppression des SRF-Transkriptionalen-Aktivator-Komplexes durch nukleäres Aktin**

Dargestellt sind das Zusammenwirken verschiedener genetischer Interaktionspartner im Zusammenhang mit dem Export von Aktin-Profilin-Komplexen sowie die Wirkung nukleären Aktins auf den Transkriptionsfaktor dSRF (Schema erstellt nach STÜVEN et al., 2003; MINAKHINA ET AL., 2005; MASON & GOLDFARB, 2009; YUDIN & FAJNZILBER, 2009; GÜTLER & GÖRLICH, 2011; KNÖLL, 2011; SIMON & WILSON, 2011).

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Strukturmutationslinien von *Drosophila melanogaster*, *grf* und *ebo*, hinsichtlich ihres Lauf- und Orientierungsverhaltens im Buridan'schen sowie im Detour-Paradigma untersucht. Als Kernthema der Arbeit entwickelte sich rasch die molekulare Analyse von *ebo* in Bezug auf das räumliche Orientierungsgedächtnis, da *ebo*-mutante Fliegen Letzteres nicht zeigen. Durch Wiederherstellen der EBO-Funktion kann der Verhaltensphänotyp der *ebo*-Mutante in jeder Ringneuronengruppe des Ellipsoidkörpers gerettet werden, jedoch nicht der Strukturdefekt. Zudem wird zur Ausbildung des Orientierungsgedächtnisses EBO nicht während der Entwicklung, sondern akut benötigt. Aufgrund der Tatsache, dass *ebo* für das nukleäre Protein Exportin6 codiert, und selbiges für den Export von Aktin-Profilin-Komplexen aus dem Zellkern verantwortlich ist (STÜVEN ET AL., 2003), zeigen *ebo*-Tiere nukleäre Aktin-Akkumulationen sowohl während der Entwicklung in Speicheldrüsen als auch im adulten Gehirn, was mittels Expression eines Actin::GFP-Fusionsproteins gezeigt wurde. Die genetischen Interaktionsexperimente zeigen, dass der anatomische Defekt von *ebo* durch eine reduzierte Aktin-Polymerisation erfolgt, für den Verhaltensphänotyp jedoch die Aktin-Anreicherung in den Zellkernen von Ringneuronen des Ellipsoidkörpers ursächlich ist. Die erstaunliche Redundanz der Ringneurone in Bezug auf die Rettung des Verhaltensphänotyps legt nahe, dass diffusible Faktoren eine wichtige Rolle für die Ausbildung eines Orientierungsgedächtnisses spielen. Bezüglich dieser Hypothese konnte nachgewiesen werden, dass durch FMRFamid-RNAi in R2- und R4-Ringneuronen des Ellipsoidkörpers das Orientierungsgedächtnis zerstört wird. Eine daraufhin durchgeführte Antikörperfärbung gegen pro-FMRFa in wildtypischen und *ebo*-mutanten Gehirnen ergab jedoch keine Verschiedenheit die Menge oder Lokalisation betreffend. Die bei *ebo* vorhandene Anreicherung von Aktin im Zellkern bewirkt, dass die Aktin-Monomere im Nucleus an den Cofaktor dMRTF (*Mrtf*) binden und diesen somit inaktivieren. Dadurch kann der Transkriptionsfaktor dSRF (*bs*) nicht mehr durch dMRTF aktiviert werden, was den Orientierungsgedächtnis-Verlust bewirkt. Da es jedoch unwahrscheinlich ist, dass ein Gedächtnis, welches nur wenige Sekunden andauert, von Transkriptionsregulation abhängt, könnte dSRF auch die Genexpression von Molekülen, die schnelle Veränderungen synaptischer Transmission der Ringneurone vermitteln, modulieren. Für die Zukunft wäre es demnach von enormer Bedeutung, weitere Zielgene von dSRF aufzuklären und zu analysieren.



---

## 6. Summary

In this work the two structural mutants *grf* and *ebo* were analyzed concerning their walking and orientation behavior in the Buridan's and Detour paradigm. Quickly the molecular analysis of *ebo* regarding its loss of a spatial orientation memory evolved as main topic. Via recovery of EBO-function the behavioral phenotype of *ebo* can be rescued in any type of ring neurons of the ellipsoid-body but the structural defect cannot. Besides, EBO is not required during development but only in adult ring neurons to mediate the orientation memory function. Due to the fact that *ebo* encodes the protein Exportin6, which is responsible for the nuclear export of Actin-Profilein-complexes (STÜVEN ET AL., 2003), *ebo* mutants show nuclear Actin-accumulation both in larval salivary glands and adult brains. This was shown via expression of an Actin::GFP-fusionprotein. The differential genetic interaction studies revealed that the anatomical defect of *ebo* is due to reduced Actin-polymerization, but that the behavioral phenotype is caused by the Actin-accumulation in the nucleus of ring neurons. The astonishing redundancy of the ring neurons regarding the behavioral rescue leads to the hypothesis, that there are diffusible factors which are important for a spatial orientation memory. With regard to this assumption it was possible to demonstrate that via FMRFa-RNAi in R2- and R4-ring neurons the orientation memory is destroyed. However, an antibody staining against pro-FMRFa in wildtype and *ebo*-mutant adult brains showed no difference in amount or location of FMRFa in the ellipsoid-body. The nuclear accumulation of Actin in *ebo* induces the binding of dMRTF (*Mrtf*) to G-Actin, which inactivates dMRTF. Therefore the transcriptional regulator dSRF (*bs*) cannot be activated via dMRTF and that results in the loss of a spatial orientation memory. It is doubtful that a memory of only a few seconds depends on the modulation of transcription. Instead, dSRF probably regulates the expression of genes, which lead to changes in synaptic transmission of the ring neurons. Thus, it would be interesting to detect and analyze further target genes of dSRF for future experiments regarding the spatial orientation memory.

---

## 7. Literaturverzeichnis

ADAMS, M. D., CELNIKER, S. E., HOLT, R. A., EVANS, C. A., GOCAYNE, J. D., AMANATIDES, P. G., SCHERER, S. E., LI, P. W., HOSKINS, R. A., GALLE, R. F., GEORGE, R. A., LEWIS, S. E., RICHARDS, S., ASHBURNER, M., HENDERSON, S. N., SUTTON, G. G., WORTMAN, J. R., YANDELL, M. D., ZHANG, Q., CHEN, L. X., BRANDON, R. C., ROGERS, Y. C., BLAZEJ, R. G., CHAMPE, M., PFEIFFER, B. D., WAN, K. H., DOYLE, C., BAXTER, E. G., HELT, G., NELSON, C. R., GABOR, G. L., MIKLOS, ABRIL, J. F., AGBAYANI, A., AN, H., ANDREWS-PFANNKOCH, C., BALDWIN, D., BALLEW, R. M., BASU, A., BAXENDALE, J., BAYRAKTAROGLU, L., BEASLEY, E. M., BEESON, K. Y., BENOS, P. V., BERMAN, B. P., BHANDARI, D., BOLSHAKOV, S., BORKOVA, D., BOTCHAN, M. R., BOUCK, J., BROKSTEIN, P., BROTTIER, P., BURTIS, K. C., BUSAM, D.A., BUTLER, H., CADIEU, E., CENTER, A., CHANDRA, I., CHERRY, J. M., CAWLEY, S., DAHLKE, C., DAVENPORT, L. B., DAVIES, P., DE PABLOS, B., DELCHER, A., DENG, Z., DESLATTES MAYS, A., DEW, I., DIETZ, S. M., DODSON, K., DOUP, L. E., DOWNES, M., DUGAN-ROCHA, S., DUNKOV, B. C., DUNN, P., DURBIN, K. J., EVANGELISTA, C. C., FERRAZ, C., FERRIERA, S., FLEISCHMANN, W., FOSLER, C., GABRIELIAN, A. E., GARG, N.S., GELBART, W. M., GLASSER, K., GLODEK, A., GONG, F., GORRELL, J., GU, Z., GUAN, P., HARRIS, M., HARRIS, N. L., HARVEY, D., HEIMAN, T. J., HERNANDEZ, J. R., HOUCK, J., HOSTIN, D., HOUSTON, K. A., HOWLAND, T. J., WEI, M., IBEGWAM, C., JALALI, M., KALUSH, F., KARPEN, G. H., KE, Z., KENNISON, J. A., KETCHUM, K. A., KIMMEL, B. E., KODIRA, C. D., KRAFT, C., KRAVITZ, S., KULP, D., LAI, Z., LASKO, P., LEI, Y., LEVITSKY, A. A., LI, J., LI, Z., LIANG, Y., LIN, X., LIU, X., MATTEI, B., MCINTOSH, T. C., MCLEOD, M. P., MCPHERSON, D., MERKULOV, G., MILSHINA, N. V., MOBARRY, C., MORRIS, J., MOSHREFI, A., MOUNT, S. M., MOY, M., MURPHY, B., MURPHY, L., MUZNY, D.M., NELSON, D. L., NELSON, D. R., NELSON, K. A., NIXON, K., NUSSKERN, D. R., PACLEB, J. M., PALAZZOLO, M., PITTMAN, G. S., PAN, S., POLLARD, J., PURI, V., REESE, M. G., REINERT, K., REMINGTON, K., SAUNDERS, R. D. C., SCHEELER, F., SHEN, H., SHUE, B. C., SIDÉN-KIAMOS, I., SIMPSON, M., SKUPSKI, M. P., SMITH, T., SPIER, E., SPRADLING, A. C., STAPLETON, M., STRONG, R., SUN, E., SVIRSKAS, R., TECTOR, C., TURNER, R., VENTER, E., WANG, A. H., WANG, X., WANG, Z., WASSARMAN, D. A., WEINSTOCK, G. M., WEISSENBACH, J., WILLIAMS, S. M., WOODAGE, T., WORLEY, K. C., WU, D., YANG, S., YAO, Q. A., YE, J., YEH, R., ZAVERI, J. S., ZHAN, M., ZHANG, G., ZHAO, Q., ZHENG, L., ZHENG, X. H., ZHONG, F. N., ZHONG, W., ZHOU, X., ZHU, S., ZHU, X., SMITH, H. O., GIBBS, R. A., MYERS, E. W., RUBIN, G. M., and VENTER, J. C. "The Genome Sequence of *Drosophila Melanogaster*." *Science* 287, (2000), 546: 2185-2195.

ASHBURNER, M. "Patterns of Puffing Activity in the Salivary Gland Chromosomes of *Drosophila*." *Chromosoma* 31, (1970): 356-376.

- 
- BAUSENWEIN, B., MULLER, N.R. and HEISENBERG, M. "Behavior-Dependent Activity Labeling in the Central Complex of *Drosophila* During Controlled Visual Stimulation." *J. Comp. Neurol.* 340, 2 (1994): 255-268.
- BECK, H., FLYNN, K., LINDENBERG, K.S., SCHWARZ, H., BRADKE, F., DI GIOVANNI, S. and KNÖLL, B. "Serum Response factor (SRF)-Cofilin-Actin Signaling Axis Modulates Mitochondrial Dynamics." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, DOI: 10.1073/pnas.1208141109, (2012): E2523-E2532.
- BENZER, S. "Behavioral Mutants of *Drosophila* Isolated by Countercurrent Distribution." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 58, 3 (1967): 1112-1119.
- BLAIR, A., TOMLINSON, A., PHAM, H., GUNSALUS, K. C., GOLDBERG, M. L., and LASKI, F. A. "Twinstar, the *Drosophila* Homolog of Cofilin/Adf, Is Required for Planar Cell Polarity Patterning." *Development* 133, 9 (2006): 1789-1797.
- BOQUET, I., BOUJEMAA, R., CARLIER, M. and PRÉAT, T. "Ciboulot Regulates Actin Assembly During *Drosophila* Brain Metamorphosis." *Cell* 102, 6 (2000): 797-808.
- BRAND, A. H. & PERRIMON, N. "Targeted Gene Expression as a Means of Altering Cell Fates and Generating Dominant Phenotypes." *Development* 118, 2 (1993): 401-415.
- BREMBS, B. "Operant Conditioning in Invertebrates." *Curr. Opin. Neurobiol.* 13, 6 (2003): 710-717.
- BÜLTHOFF, H., GÖTZ, K. G. and HERRE, M. "Recurrent Inversion of Visual Orientation in the Walking Fly, *Drosophila Melanogaster*." *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 148, 4 (1982): 471-481.
- CHEN, S., LEE, Y., BOWENS, N. M., HUBER, R., and KRAVITZ, E. A. "Fighting Fruit Flies: A Model System for the Study of Aggression." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 8 (2002): 5664-5668.
- COOLEY, L., VERHEYEN, E. and AYERS, K. "Chickadee Encodes a Profilin Required for Intercellular Cytoplasm Transport During *Drosophila* Oogenesis." *Cell* 69, 1 (1992): 173-184.

- 
- DAHMAN, C. & WALKER, J. "*Drosophila – Methods and Protocols*". (2008), 1. Auflage, Humana Press, USA.
- DAVIS, R. L. "Mushroom Bodies and *Drosophila* Learning." *Neuron* 11, 1 (1993): 1-14.
- DAVIS, R. L., and KIGER, JR., J. A. "Dunce Mutants of *Drosophila Melanogaster*: Mutants Defective in the Cyclic Amp Phosphodiesterase Enzyme System." *J. Cell Biol.* 90, 1 (1981): 101-107.
- DE BELLE, J. S., and HEISENBERG, M. "Associative Odor Learning in *Drosophila* Abolished by Chemical Ablation of Mushroom Bodies." *Science* 263, 5147 (1994): 692-695.
- DILL, M., WOLF, R. and HEISENBERG, M. "Visual Pattern Recognition in *Drosophila* Involves Retinotopic Matching." *Nature* 365, 6448 (1993): 751-753.
- DOELLER, C. F., KING, J. A. and BURGESS, N. "Parallel Striatal and Hippocampal Systems for Landmarks and Boundaries in Spatial Memory." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 15 (2008): 5915-5920.
- DONLEA, J. M., NARENDRAKUMAR, R. and SHAW, P. J. "Use-Dependent Plasticity in Clock Neurons Regulates Sleep Need in *Drosophila*." *Science* 324, 9 (2012): 544-552.
- DOPIE, J., SKARP, K.-P., RAJAKYLÄ, E. K., TANHUANPÄÄ, K. and VARTIAINEN, M. K. "Active Maintenance of Nuclear Actin by Importin 9 Supports Transcription." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 9 (2012): 544-552.
- DUDAI, Y., JAN, Y. N., BYERS, D., QUINN, W. G. and BENZER, S. "Dunce, a Mutant of *Drosophila* Deficient in Learning." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 5 (1976): 1684-1688.
- DUFFY, J. B. "Gal4 System in *Drosophila*: A Fly Geneticist's Swiss Army Knife." *Genesis* 34, 1-2 (2002): 1-15.
- FIRE, A., MONTGOMERY, S. XU, M. K., KOSTAS, S. A., DRIVER, S. E. and MELLO, C. C. "Potent and Specific Genetic Interference by Double-Stranded RNA in *Caenorhabditis Elegans*." *Nature* 391, 6669 (1998): 806-811.

- 
- FISCHER, M. "Lokalisierung eines Gedächtnisses bei *Drosophila Melanogaster*." Würzburg, Julius-Maximilians-Universität Zu Würzburg, Med. Fakultät, Diss. (2003).
- FLYNN, K. C., HELLAL, F., NEUKIRCHEN, D., JACOB, S., TAHIROVIC, S., DUPRAZ, S., STERN, S., GARVALOV, B. K., GURNIAC, C., SHAW, A. E., MEYN, L., WEDLICH-SÖLDNER, R., BAMBURG, J. R., SMALL, J. V., WITKE, W. and BRADKE, F. "ADF/Cofilin-Mediated Actin Retrograde Flow Directs Neurite Formation in the Developing Brain." *Neuron*, 76 (2012): 1091-1107.
- GALL, J. G. "Exporting Actin." *Nature Cell Biology* 8, 3 (2006): 205-207.
- GERVAIS, L. and CASANOVA, J. "The *Drosophila* Homologue of SRF Acts as a Boosting Mechanism to Sustain FGF-induced Terminal Branching in the Tracheal System." *Development* 138, 7 (2011): 1269-1274.
- GÖTZ, K.G. "Visual Guidance in *Drosophila*." *Basic Life Sci.*, 16 (1980): 391-407.
- GU, J., LEE, C. W., FAN, Y., KOMLOS, D., TANG, X., SUN, C., YU, K., HARTZELL, H. C., CHEN, G., BAMBURG, J. R. and ZHENG, J. Q.. "Adf/Cofilin-Mediated Actin Dynamics Regulate Ampa Receptor Trafficking During Synaptic Plasticity." *Nat. Neurosci.* 13, 10 (2010): 1208-1215.
- GUO, F., YI, W., ZHOU, M. and GUO, A. "Go Signaling in Mushroom Bodies Regulates Sleep in *Drosophila*." *Sleep (Rochester)* 34, 3 (2011): 273-281.
- GÜTTLER, T. and GORLICH, D. "Ran-Dependent Nuclear Export Mediators: A Structural Perspective." *EMBO J.* 30, 17 (2011): 3457-3474.
- HALL, J. C. "Control of Male Reproductive Behavior by the Central Nervous System of *Drosophila*: Dissection of a Courtship Pathway by Genetic Mosaics." *Genetics* 92, 2 (1979): 437-457.
- HAN, Z., LI, X., WU, J. and OLSON, E. N. "A Myocardin-Related Transcription Factor Regulates Activity of Serum Response Factor in *Drosophila*." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 34 (2004): 12567-12572.
- HANESCH, U. "Der Zentralkomplex von *Drosophila melanogaster*. Phd Thesis: University Würzburg", (1987).

- 
- HANESCH, U., FISCHBACH, K. F. and HEISENBERG, M. "Neuronal Architecture of the Central Complex in *Drosophila Melanogaster*." *Cell and Tissue Research* 257, 2 (1989): 343-366.
- HAWLEY, R. S. "Altered Nuclear Transport and the Most Selfish of Genes." *Developmental Cell* 1, 3 (2001), 311-313.
- HEISENBERG, M. and BOEHL, K. "Isolation of Anatomical Brain Mutants of *Drosophila Melanogaster* by Histological Means." *Z. Naturf. C. Biosci.* 34, (1979): 143-147.
- HEISENBERG, M., BORST, A., WAGNER, S. and BYERS, D. "*Drosophila* Mushroom Body Mutants Are Deficient in Olfactory Learning." *J. Neurogenet.* 2, 1 (1985): 1-30.
- HEWES, R. S. and TAGHERT, P. H. "Neuropeptides and Neuropeptide Receptors in the *Drosophila melanogaster* Genome." *Genome Res.* 11, 6 (2001): 1126-1142.
- HIRANO, H. and Matsuura, Y. "Sensing Actin Dynamics: Structural Basis for G-Actin-Sensitive Nuclear Import of MAL." *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 414 (2011): 373-378.
- ILIUS, M., WOLF, R. and HEISENBERG, M. "The Central Complex of *Drosophila Melanogaster* is Involved in Flight Control: Studies on Mutants and Mosaics of the Gene *ellipsoid body open*." *J Neurogenet.*, 9 (1994): 189-206.
- ITO, K., SUZUKI, K., ESTES, P., RAMASWAMI, M., YAMAMOTO, D. and STRAUSFELD, N. J. "The Organization of Extrinsic Neurons and Their Implications in the Functional Roles of the Mushroom Bodies in *Drosophila Melanogaster* Meigen." *Learn. Mem.* 5, 1 (1998): 52-77.
- JEFFERIS, G. S. X. E., MARIN, E. C., WATTS, R. J. and LUO, L. "Development of Neuronal Connectivity in *Drosophila* Antennal Lobes and Mushroom Bodies." *Current Opinion in Neurobiology* 12, 1 (2002): 80-86.
- KAHSAI, L. & WINTHER, A. M. E. "Chemical Neuroanatomy of the *Drosophila* Central Complex: Distribution of Multiple Neuropeptides in Relation to Neurotransmitters." *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 519 (2011): 290-315.

- 
- KANDEL, E., SCHWARTZ, J. and JESSELL, T. "Neurowissenschaften - Eine Einführung. 1. Auflage, Spektrum Verlag, Heidelberg." (1996).
- KAUN, K. R., AZANCHI, R., MAUNG, Z., HIRSH, J. and HEBERLEIN, U. "A *Drosophila* Model for Alcohol Reward." *Nat. Neurosci.* 14, 5: 612-619.
- KIM, M., LEE, J. H., KOH, H., LEE, S. Y., JANG, C., CHUNG, C. J., SUNG, J. H., BLENIS, J. and CHUNG, J. "Inhibition of Erk-Map Kinase Signaling by Rsk During *Drosophila* Development." *Embo J.* 25, 13 (2006): 3056-3067.
- KITAMOTO, T. "Conditional Modification of Behavior in *Drosophila* by Targeted Expression of a Temperature-Sensitive Shibire Allele in Defined Neurons." *J. Neurobiol.* 47, 2 (2001): 81-92.
- KLOSE, M. K., DASON, J. S., ATWOOD, H. L., BOULIANNE, G. L. and MERCIER, A. J. "Peptide-Induced Modulation of Synaptic Transmission and Escape Response in *Drosophila* Requires Two G-Protein-Coupled Receptors." *J. Neurosci.* 30, 44 (2010): 14724-14734.
- KNÖLL, B. "Serum Response Factor Mediated Gene Activity in Physiological and Pathological Processes of Neuronal Motility." *Front. Mol. Neurosci.* 4, 49 (2011): 1-9.
- KNÖLL, B. and NORDHEIM, A. "Functional Versatility of Transcription Factors in the Nervous System: the SRF Paradigm." *Trends in Neurosciences.* 32, 8 (2009): 432-442.
- KOHLER, R.E. "Lords of the Fly. *Drosophila* Genetics and the Experimental Life." *The University of Chicago Press, Chicago* (1994).
- KRASHES, M. J., KEENE, A. C., LEUNG, B., ARMSTRONG, J. D. and WADDELL, S. "Sequential use of mushroom body neuron subsets during *Drosophila* odor memory processing." *Neuron*, 53 (2007): 103-115.
- KUSANO, A., STABER, C. and GANETZKY, B. "Nuclear Mislocalization of Enzymatically Active RanGAP Causes Segregation Distortion in *Drosophila*." *Developmental Cell* 1, 3 (2001): 351-361.

- 
- LARSSON, M. C., DOMINGOS, A. I., JONES, W. D., CHIAPPE, M. E., AMREIN, H. and VOSSHALL, L. B. "Or83b Encodes a Broadly Expressed Odorant Receptor Essential for *Drosophila* Olfaction." *Neuron* 43, 5 (2004): 703-714.
- LEVIN, L. R., HAN, P., HWANG, P. M., FEINSTEIN, P.G., DAVIS, R. L. and REED, R. R. "The *Drosophila* Learning and Memory Gene *Rutabaga* Encodes a Ca<sup>2+</sup>Calmodulin-Responsive Adenylyl Cyclase." *Cell* 68, 3 (1992): 479-489.
- LIU, G., SEILER, H., WEN, A., ZARS, T., ITO, K., WOLF, R., HEISENBERG, M. and LIU, L. "Distinct Memory Traces for Two Visual Features in the *Drosophila* Brain." *Nature* 439, 7076 (2006): 551-556.
- LUAN, H., PEABODY, N. C., VINSON, C. R. and WHITE, B. H. "Refined Spatial Manipulation of Neuronal Function by Combinatorial Restriction of Transgene Expression." *Neuron* 52, 3 (2006): 425-436.
- Luo, L. Q., MARTIN-MORRIS, L. E., and WHITE, K. "Identification, Secretion, and Neural Expression of Appl, a *Drosophila* Protein Similar to Human Amyloid Protein Precursor." *J. Neurosci.* 10, 12 (1990): 3849-3861.
- MANSEAU, L., BARADARAN, A., BROWER, D., BUDHU, A., ELEFANT, F., PHAN, H., PHILIP, A.V., YANG, M., GLOVER, D., KAISER, K., PALTER, K. and SELLECK, S. (1997). "GAL4 Enhancer Traps Expressed in the Embryo, Larval Brain, Imaginal Discs, and Ovary of *Drosophila*." *Dev. Dyn.* 209 (3): 310-322.
- MARENDA, D. R., ZRALY, C. B., and DINGWALL, A. K. "The *Drosophila* Brahma (SWI/SNF) Chromatin Remodeling Complex Exhibits Cell-Type Specific Activation and Repression Functions." *Dev. Biol.* 267, 2 (2004): 279-293.
- MARTIN, J.-R. "A Portrait of Locomotor Behaviour in *Drosophila* Determined by a Video-Tracking Paradigm" *Behavioural Processes* 67 2 (2004): 207-219
- MARTIN, J. R., RAABE, T. and HEISENBERG, M. "Central Complex Substructures Are Required for the Maintenance of Locomotor Activity in *Drosophila Melanogaster*." *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 185, 3 (1999): 277-288.



- 
- MARTIN-MORRIS, L. E. & WHITE, K. "The *Drosophila* Transcript Encoded by the Beta-Amyloid Protein Precursor-Like Gene Is Restricted to the Nervous System." *Development* 110, 1 (1990): 185-195.
- MASON, D. A. and GOLDFARB, D. S. "The Nuclear Transport Machinery as a Regulator of *Drosophila* development." *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 20 (2009): 582-589.
- MCGUIRE, S. E., LE, P. T., OSBORN, A. J., MATSUMOTO, K. and DAVIS, R. L. "Spatiotemporal Rescue of Memory Dysfunction in *Drosophila*." *Science* 302, 5651 (2003): 1765-1768.
- MERRIAM, J. R. "[New Mutants Report.]" *Drosophila Information Service* 43, (1968): 64.
- MINAKHINA, S., MYERS, R., DRUZHININA, M. and STEWARD, R. "Crosstalk Between the Actin Cytoskeleton and Ran-mediated Nuclear Transport." *BMC Cell Biology* 6, 32, (2005).
- MRONZ, M. "Die Visuell Motivierte Objektwahl Laufender Taefliegen (*Drosophila Melanogaster*) - Verhaltensphysiologie, Modellbildung Und Implementierung in Einem Roboter." Phd Thesis: University Würzburg (2004).
- MÜLLER, M. and WEHNER, R. "Path Integration in Desert Ants, *Cataglyphis Fortis*." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 14 (1988): 5287-5290.
- MYERS, K. A., HE, Y., HASAKA, T. P. and BAAS, P. W. "Microtubule Transport in the Axon: Rethinking a Potential Role for the Actin Cytoskeleton." *The Neuroscientist* 12, 2 (2006): 107-118.
- NEUSER, K., TRIPHAN, T., MRONZ, M., POECK, B. and STRAUSS, R. "Analysis of a Spatial Orientation Memory in *Drosophila*." *Nature* 453, 7199 (2008): 1244-1247.
- NÄSSEL, D. R. & WINTHER, A. M. E. "*Drosophila* Neuropeptides in Regulation of Physiology and behavior." *Progress in Neurobiology*, 92 (2010): 42-104.
- NG, M., ROORDA, R.D., LIMA, S.Q., ZEMELMAN, B.V., MORCILLO, P. and MIESENBOCK, G. "Transmission of Olfactory Information Between Three Populations of Neurons in the Antennal Lobe of the Fly." *Neuron*, 36 (2002): 463-474.

- 
- NG, J. & LUO, L. "Rho Gtpases Regulate Axon Growth through Convergent and Divergent Signaling Pathways." *Neuron* 44, 5 (2004): 779-793.
- NIGHORN, A., HEALY, M. J. and DAVIS, R. L. "The Cyclic Amp Phosphodiesterase Encoded by the *Drosophila* Dunce Gene Is Concentrated in the Mushroom Body Neuropil." *Neuron* 6, 3 (1991): 455-467.
- OLSON, E. N. and NORDHEIM, A. "Linking Actin Dynamics and gene Transcription to Drive Cellular Motile Functions." *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 11, 5 (2010): 353-365.
- PAGEL, J.-I. and DEINDL, E. "Early Growth Response 1 – A Transcription Factor in the Crossfire of Signal Transduction Cascades." *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 48, (2011): 226-235.
- PAN, Y., ZHOU, Y., GUO, C., GONG, H., GONG, Z. and LIU, L. "Differential Roles of the Fan-Shaped Body and the Ellipsoid Body in *Drosophila* Visual Pattern Memory." *Learning & Memory* 16, 5 (2009): 289-295.
- PARK, S. H., PARK, T. J. and LIM, I. K. "Reduction of Exportin6 Activity Leads to Actin Accumulation via Failure of RanGTP Restoration and NTF2 sequestraion in the Nuclei of Senescent Cells." *Exp. Cell. Res.* 317, 7 (2011): 941-954.
- PEREANU, W., YOUNOSSI-HARTENSTEIN, A., LOVICK, J., SPINDLER, S. and HARTENSTEIN, V. "Lineage-Based Analysis of the Development of the Central Complex of the *Drosophila* Brain." *The Journal of Comparative Neurology* 519, 4 (2011): 661-689.
- PEMBERTON, L. F. and PASCHAL, B. M. "Mechanisms of Receptor-Mediated Nuclear Import and Nuclear Export." *Traffic*, 6 (2005): 187-198.
- PIPES, G. C. T., CREEMERS, E. E. and OLSON, E. N. "The Myocardin Family of Transcriptional Coactivators: Versatile Regulators of Cell Growth, Migration, and Myogenesis." *Genes Dev.*, 20 (2006): 1545-1556.
- POECK, B., TRIPHAN, T., NEUSER, K. and STRAUSS, R. "Locomotor Control by the Central Complex in *Drosophila* - an Analysis of the Tay Bridge Mutant." *Dev. Neurobiol.* 68, 8 (2008): 1046-1058.

- 
- POWERS, P. A. & GANETZKY, B. "On the Components of Segregation Distortion in *Drosophila Melanogaster*." *Genetics* 129, (1991): 133-144.
- PUTZ, G. & HEISENBERG, M. "Memories in *Drosophila* Heat-Box Learning." *Learn. Mem.*, 9 (2002): 349-359.
- PUTZ, G., BERTOLUCCI, F., RAABE, T., ZARS, T. and HEISENBERG, M. "The S6KII (Rsk) Gene of *Drosophila Melanogaster* Differentially Affects an Operant and a Classical Learning Task." *J. Neurosci.* 24, 44 (2004): 9745-9751.
- RAJASHEKHAR, K. P. & R. SINGH, N. "Neuroarchitecture of the Tritocerebrum of *Drosophila Melanogaster*." *The Journal of Comparative Neurology* 349, 4 (1994): 633-645.
- RENN, S. C. P., ARMSTRONG, J. D., YANG, M., WANG, Z., AN, X., KAISER, K. and TAGHERT, P. H. "Genetic Analysis of the *Drosophila* Ellipsoid Body Neuropil: Organization and Development of the Central Complex." *Journal of Neurobiology* 41, 2 (1999): 189-207.
- RÖPER, K., MAO, Y. and BROWN, N. H. "Contribution of Sequence Variation in *Drosophila* Actins to Their Incorporation into Actin-Based Structures in Vivo." *Journal of Cell Science* 118, 17 (2005): 3937-3948.
- SALVATERRA, P. M. & KITAMOTO, T. "*Drosophila* Cholinergic Neurons and Processes Visualized with Gal4/Uas-Gfp." *Brain Research. Gene Expression Patterns* 1, 1 (2001): 73-82.
- SCHÖNE, H. "Orientierungskonzepte: Geschichtliches und Aktuelles." *Naturwissenschaften* 70, 7 (1983): 342-348.
- SCHUSTER, S., STRAUSS, R. and GÖTZ, K. G. "Virtual-Reality Techniques Resolve the Visual Cues Used by Fruit Flies to Evaluate Object Distances." *Curr. Biol.* 12, 18 (2002): 1591-1594.
- SIEGEL, R. W. and HALL, J. C. "Conditioned Responses in Courtship Behavior of Normal and Mutant *Drosophila*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76, 7 (1979): 3430-3434.
- SIMON, D. N. and WILSON, K. L. "The Nucleoskeleton as a Genome-Associated Dynamic 'Network of Networks'." *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, advance online publication (2011).

- 
- SÖDERBERG, E., HESSLE, V., VON EULER, A. and VISA, N. "Profilin is Associated With Transcriptionally Active Genes." *Nucleus* 3, 3 (2012): 290-299.
- SOMOGYI, K. & RORTH, P. "Evidence for Tension-Based Regulation of *Drosophila* MAL and SRF during Invasive Cell Migration." *Dev. Cell* 7, 1 (2004): 85-93.
- STÖCKER, R. F., LIENHARD, M. C., BORST, A. and FISCHBACH, K. F. "Neuronal Architecture of the Antennal Lobe in *Drosophila Melanogaster*." *Cell and Tissue Research* 262, 1 (1990): 9-34.
- STRAUSS, R. "Stumbling Flies: A Screen for X-Linked Locomotor Mutants Identifies New Genes Involved in the Control and Execution of Walking in *Drosophila melanogaster*." In: BURROWS, M., MATHESON, T., NEWLAND, P.L. and SCHUPPE, H. (eds.) "Nervous Systems and Behaviour" *Proc. 4<sup>th</sup> Int. Congr. Neuroethology*, (1995) Stuttgart New York: Thieme, p.22.
- STRAUSS, R. "The Central Complex and the Genetic Dissection of Locomotor Behaviour." *Current Opinion in Neurobiology* 12, 6 (2002): 633-638.
- STRAUSS, R., HANESCH, U., KINKELIN, M., WOLF, R. and HEISENBERG, M. "No-Bridge of *Drosophila Melanogaster*: Portrait of a Structural Brain Mutant of the Central Complex." *J. Neurogenet.* 8, 3 (1992): 125-155.
- STRAUSS, R. & HEISENBERG, M. "A Higher Control Center of Locomotor Behavior in the *Drosophila* Brain." *J. Neurosci.* 13, 5 (1993): 1852-1861.
- STRAUSS, R., SCHUSTER, S. and GÖTZ, K. G. "Processing of Artificial Visual Feedback in the Walking Fruit Fly *Drosophila melanogaster*." *J. Exp. Biol.*, 200 (1997): 1281-1296.
- STRAUSS, R. & PICHLER, J. "Persistence of Orientation toward a Temporarily Invisible Landmark in *Drosophila Melanogaster*." *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 182, 4 (1998): 411-423.
- STÜVEN, T., HARTMANN, E. and GÖRLICH, D. "Exportin 6: a Novel Nuclear Export Receptor That is Specific for Profilin-Actin Complexes." *EMBO J.* 22, (2003): 5928 - 5940.

- 
- SWEENEY, S. T., BROADIE, K., KEANE, J., NIEMANN, H. and O'KANE, C. J. "Targeted Expression of Tetanus Toxin Light Chain in *Drosophila* Specifically Eliminates Synaptic Transmission and Causes Behavioral Defects." *Neuron* 14, 2 (1995): 341-351.
- TAGHERT, P. H. & NITABACH, M. N. "Peptide Neuromodulation in Invertebrate Model Systems". *Neuron* 76, 1 (2012): 82-97.
- TANG, S. & GUO, A. "Choice Behavior of *Drosophila* Facing Contradictory Visual Cues." *Science* 294, 5546 (2001): 1543-1547.
- THRAN, J. "Neurogenetische Grundlagen des Orientierungsgedächtnisses an *Drosophila melanogaster*". Unveröffentlichte Diplomarbeit, Mainz, (2008).
- TOMCHIK, S. M. & DAVIS, R. L. "Behavioural Neuroscience: Out of Sight, but Not out of Mind." *Nature* 453, 7199 (2008): 1192-1194.
- TULLY, T., PREAT, T., BOYNTON, S. C. and DEL VECCHIO, M. "Genetic Dissection of Consolidated Memory in *Drosophila*." *Cell* 79, 1 (1994): 35-47.
- UEDA, A. & KIDOKORO, Y. "Aggressive Behaviours of Female *Drosophila Melanogaster* Are Influenced by Their Social Experience and Food Resources." *Physiological Entomology* 27, 1 (2002): 21-28.
- VARTAINEN, M. K., GUETTLER, S., LARIJANI, B. and TREISMAN, R. "Nuclear Actin Regulates Dynamic Subcellular Localization and Activity of the SRF Cofactor MAL." *Science*, 316 (2007): 1749-1752.
- VISHWASRAO, H. D., TRIFILIEFF, P. and KANDEL, E. R. "In Vivo Imaging of the Actin Polymerization State with Two-Photon Fluorescence Anisotropy." *Biophysical Journal*, 102 (2012): 1204-1214.
- VOSSHALL, L. B. "Into the Mind of a Fly." *Nature* 450, 7167 (2007): 193-197.
- WADDELL, S. "Courtship Learning: Scent of a Woman." *Current Biology* 15, 3 (2005): R88-R90.
- WADDELL, S. & QUINN, W. G. "Flies, Genes, and Learning." *Annu. Rev. Neurosci.* 24, (2001a): 1283-1309.

- 
- WADDELL, S. & QUINN, W. G. "Neurobiology. Learning How a Fruit Fly Forgets." *Science* 293, 5533 (2001b): 1271-1272.
- WADDINGTON, C. H. "The Genetic Control of Wing Development in *Drosophila*." *J. Genet.* 41, (1940): 75-139.
- WANG, Z., PAN, Y., LI, W., JIANG, H., CHATZIMANOLIS, L., CHANG, J., GONG, Z. and LIU, L. "Visual Pattern Memory Requires Foraging Function in the Central Complex of *Drosophila*." *Learn. Mem.* 15, 3 (2008): 133-142.
- WESSNITZER, J. & WEBB, B. "Multimodal Sensory Integration in Insects - Towards Insect Brain Control Architectures." *Bioinspiration & Biomimetics* 1, 3 (2006): 63-75.
- WU, C., XIA, S., FU, T., WANG, H., CHEN, Y., LEONG, D., CHIANG, A. and TULLY, T. "Specific Requirement of NMDA Receptors for Long-Term Memory Consolidation in *Drosophila* Ellipsoid Body." *Nat. Neurosci.* 10, 12 (2007): 1578-1586.
- YEH, E., GUSTAFSON, K. and BOULIANNE, G. L. "Green Fluorescent Protein as a Vital Marker and Reporter of Gene Expression in *Drosophila*." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92, 15 (1995): 7036-7040.
- YUDIN, D. & FAINZILBER, M. "Ran on Tracks – Cytoplasmatic Roles for a Nuclear Regulator." *Journal of Cell Science*, 122 (2009): 587-593.
- YOUNG, J.M. & ARMSTRONG, J. D. "Building the Central Complex in *Drosophila*: The Generation and Development of Distinct Neural Subsets." *The Journal of Comparative Neurology* 518, 9 (2010a): 1525-1541.
- YOUNG, J.M. & ARMSTRONG, J. D. "Structure of the Adult Central Complex in *Drosophila* Organization of Distinct Neuronal Subsets." *The Journal of Comparative Neurology* 518, 9 (2010b): 1500-1524.
- ZARS, T., FISCHER, M., SCHULZ, R. and HEISENBERG, M. "Localization of a Short-Term Memory in *Drosophila*." *Science* 288, 5466 (2000): 672-675.

---

ZHENG, B., HAN, M., BERNIER, M. and WEN, J.-K. "Nuclear Actin and Actin-Binding Proteins in the Regulation of Transcription and Gene Expression." *FEBS J.* 276, 10 (2009): 2669-2685.

<http://flybrain.neurobio.arizona.edu/Flybrain/html/atlas/schematic/schematic-frontal.html>;  
10.12.2011; 16:30h

<http://flymove.uni-muenster.de/>;22.12.2011;12:19h

<http://histologycourse.com/Tissue%20Fixation-Lecture%2012.pdf>;6.1.2012;14:10h

## 8. Abkürzungsverzeichnis

|      |                  |
|------|------------------|
| Abb. | Abbildung        |
| AC   | Adenylatecyclase |



---

|                            |   |
|----------------------------|---|
| ACT                        | Antennocerebraltrakt                                |
| AGT                        | Antennoglomerulatrakt                               |
| AMN                        | Genprodukt von <i>amnesiac</i>                      |
| AMMC                       | Antenno-mechanosensorisches und motorisches Zentrum |
| <i>Appl</i>                | <i>Amyloid-protein-precursor-like</i>               |
| ATP                        | Adenosintriphosphat                                 |
| bzw.                       | beziehungsweise                                     |
| C                          | Celsius   |
| ca.                        | circa   |
| Ca                         | Calyx   |
| Ca <sup>2+</sup>           | Calcium   |
| cAMP                       | cyclic adenosine-monophosphate                      |
| <i>chic</i>                | <i>chickadee</i>                                    |
| cm                         | Zentimeter  |
| CREB                       | cAMP response-element binding protein               |
| C-S                        | Canton-Spezial                                      |
| DAPI                       | 4',6-Diamidino-2-Phenylindol                        |
| ddH <sub>2</sub> O         | doppelt destilliertes Wasser                        |
| d.h.                       | das heißt   |
| <i>dnc</i>                 | <i>dunce</i>  |
| DPM-Neuron                 | dorsal-paired-medial-neuron                         |
| dsRNA                      | double-stranded RNA                                 |
| Eb                         | Ellipsoidkörper                                     |
| <i>ebo</i>                 | <i>ellipsoid-body-open</i>                          |
| EBO                        | Protein, für welches <i>ebo</i> codiert             |
| et al.                     | et alii   |
| Exp6                       | Exportin6   |
| Fb                         | Fächerförmiger Körper                               |
| FMRFa                      | FMRFamid  |
| GAD1                       | Glutamatdecarboxylase 1(synthetisiert GABA)         |
| GFP                        | Green-Fluorescent-Protein                           |
| G-Protein                  | Guaninnukleotid-bindendes Protein                   |
| H <sub>2</sub> O           | Wasser  |
| hsp                        | heat-shock-protein                                  |
| Hz                         | Hertz   |
| <i>ign</i> <sup>58/1</sup> | <i>ignorant</i> <sup>58/1</sup>                     |
| KS                         | Kolmogorov-Smirnov                                  |

---

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| LED                              | Leuchtdiode                                   |
| LTM                              | long-term memory                              |
| MAP-Kinase                       | mitogen activated protein kinase              |
| mm/s                             | Millimeter pro Sekunde                        |
| µm                               | mikrometer                                    |
| mRNA                             | messenger RNA                                 |
| n.a.                             | nicht auswertbar                              |
| NaCl                             | Natriumchlorid                                |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | Dinatriumhydrogenphosphat                     |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | Natriumdihydrogenphosphat                     |
| NMDA                             | N-Methyl-D-Aspartat                           |
| No                               | Noduli  |
| Npf                              | Neuropeptid F                                 |
| n.s.                             | nicht signifikant                             |
| O-R                              | Oregon-R                                      |
| Pb                               | Protocerebralbrücke                           |
| PDE                              | Phosphodiesterase                             |
| Pe                               | Pedunculus                                    |
| Pk                               | Pilzkörper                                    |
| PKA                              | Proteinkinase A                               |
| RanGDP                           | Ran-Guanosindiphosphat                        |
| RanGTP                           | Ran-Guanosindiphosphat                        |
| <i>RanGAP</i>                    | <i>Ran GTPase Activating Protein</i>          |
| <i>RanGEF</i>                    | <i>Ran Guanine nucleotide Exchange Factor</i> |
| R-Neuron                         | Ringneuron                                    |
| RISC                             | RNA-induced-silencing-complex                 |
| RNAi                             | RNA-Interferenz                               |
| <i>rut</i>                       | <i>rutabaga</i>                               |
| s.                               | siehe   |
| siRNA                            | small-interfering-RNA                         |
| <i>ssh</i>                       | <i>slingshot</i>                              |
| SW                               | (Shapiro-Wilk)                                |
| Tab.                             | Tabelle                                       |
| TeTxLC                           | Tetanus-Toxin-Light-Chain                     |
| <i>tsr</i>                       | <i>twinstar</i>                               |
| u.a.                             | unter anderem                                 |

---

|      |                              |
|------|------------------------------|
| UAS  | Upstream-Activating-Sequence |
| wt   | wildtypisch                  |
| WT-B | Wildtyp-Berlin               |
| z.B. | zum Beispiel                 |

## 9. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

### Einleitung

|        |  |   |
|--------|--|---|
| Abb.1: | GAL4/UAS-System bei <i>Drosophila melanogaster</i> ..... | 5 |
| Abb.2: | Zentralkomplex-Aufbau.....                               | 8 |

|        |                                |    |
|--------|--------------------------------|----|
| Abb.3: | Anordnung der Ringneurone..... | 10 |
| Abb.4: | Pilzkörper-Aufbau.....         | 11 |

### Material und Methoden

|         |  |    |
|---------|--|----|
| Abb.5:  | Schematische Darstellung der Buridan-Arena.....                  | 21 |
| Abb.6:  | Schematische Darstellung des Detour-Paradigmas.....              | 22 |
| Abb.7:  | Plexiglas-Röhrchenreihe der schnellen Phototaxis.....            | 23 |
| Tab.1:  | Klassische Mutationslinien.....                                  | 17 |
| Tab.2:  | Transgene Mutationslinien.....                                   | 18 |
| Tab.3:  | Transgene UAS-Linien im mutanten Hintergrund .....               | 18 |
| Tab.4:  | Transgene Treiberlinien.....                                     | 19 |
| Tab.5a: | Konzentrationen verwendeter primärer sowie sekundärer Antikörper | 27 |
| Tab.5b: | Zusammensetzung der Standardlösungen.....                        | 27 |

### Ergebnisse

|         |   |    |
|---------|---|----|
| Abb.8:  | Laufverhaltensanalyse im Buridan`schen Paradigma.....   | 30 |
| Abb.9:  | Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma.....   | 31 |
| Abb.10: | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung.....   | 32 |
| Abb.11: | Laufverhaltensanalyse im Buridan`schen Paradigma.....   | 34 |
| Abb.12: | Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma.....   | 36 |
| Abb.13: | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung.....   | 36 |
| Abb.14: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma .....  | 38 |
| Abb.15: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....   | 39 |
| Abb.16: | Wärmeinduzierter Rettungsversuch des Orientierungsgedächtnisses im<br><i>grf<sup>C31</sup></i> -mutanten Hintergrund im Detour-Paradigma..... | 40 |
| Abb.17: | NP2320-GAL4-Expressionsmuster dargestellt per Antikörperfärbung<br>gegen mCD8:GFP.....  | 42 |
| Abb.18: | Adulte Fliegen mit und ohne Flügelphänotyp.....   | 42 |
| Abb.19: | Laufverhaltensanalyse im Buridan`schen Paradigma bei<br>Rettungsversuchen mit <i>ebo<sup>EY/+</sup>;3282<sup>M7/+</sup></i> .....             | 44 |
| Abb.20: | Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma.....   | 45 |
| Abb.21: | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan`schen Paradigma....   | 45 |
| Abb.22: | Laufverhaltensanalyse im Buridan`schen Paradigma bei<br>Rettungsversuchen mit <i>ebo<sup>KS263/+</sup>;3282<sup>M7/+</sup></i> .....          | 47 |
| Abb.23: | Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma.....   | 49 |
| Abb.24: | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan`schen Paradigma   | 50 |
| Abb.25: | Laufverhaltensanalyse im Buridan`schen Paradigma bei  |    |

|         |  |    |
|---------|--|----|
|         | Rettungsversuchen mit <i>ebo</i> <sup>EY/+;3282<sup>M7</sup>/3282<sup>M7</sup></sup> .....                             | 51 |
| Abb.26: | Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma.....  | 54 |
| Abb.27: | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan`schen Paradigma  | 55 |
| Abb.28: | Laufverhaltensanalyse im Buridan`schen Paradigma bei<br><i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+..... | 56 |
| Abb.29: | Orientierungsleistung im Buridan`schen Paradigma.....  | 57 |
| Abb.30: | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan`schen Paradigma  | 58 |
| Abb.31: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 59 |
| Abb.32: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 61 |
| Abb.33: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 63 |
| Abb.34: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 64 |
| Abb.35: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 67 |
| Abb.36: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 69 |
| Abb.37: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 71 |
| Abb.38: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 72 |
| Abb.39: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses im Detour-Paradigma.....  | 73 |
| Abb.40: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses von <i>FMRFa</i> -RNAi-Kreuzungen<br>im Detour-Paradigma.....                   | 74 |
| Abb.41: | Konfokale Darstellung der <i>FMRFa</i> -Verteilung im Ellipsoidkörper.....   | 75 |
| Abb.42: | Rettungsversuche des Verhaltensphänotyps von <i>ebo</i> <sup>678</sup> in der schnellen<br>Phototaxis.....             | 77 |
| Abb.43: | Anatomische Schadensausprägung bei genetischen<br>Interaktionskreuzungen.....  | 80 |
| Abb.44: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses der genetischen<br>Interaktionsgenotypen.....                                   | 82 |
| Abb.45: | Speicheldrüse des Genotyps <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;189Y/UAS-GFP::Act.....   | 84 |
| Abb.46: | Speicheldrüse des Genotyps <i>ebo</i> <sup>678</sup> /X;189Y/UAS-GFP::Act.....   | 84 |
| Abb.47: | Zellkerne dargestellt mittels konfokaler Mikroskopie.....  | 84 |
| Abb.48: | Konfokale Darstellung der Ringneuronengruppen R3 und R4d des<br>Ellipsoidkörpers.....                                  | 85 |
| Abb.49: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses von <i>blistered</i> -Mutanten und<br>den Rettungskreuzungen.....               | 87 |
| Abb.50: | Analyse des Orientierungsgedächtnisses von <i>Mrtf</i> -Mutanten und<br>Rettungskreuzungen.....                        | 89 |
| Abb.51: | Varianz in der anatomischen Schadensausprägung bei<br><i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305.....              | 96 |
| Abb.52: | Varianz in der anatomischen Schadensausprägung bei   |    |

|         |   |    |
|---------|---|----|
|         | <i>ebo</i> <sup>678</sup> <i>SD3282</i> <sup>#23</sup> / <i>Y</i> ;UAS- <i>mCD8</i> :GFP/ <i>c305</i> ..... | 96 |
| Tab.6:  | Anatomische Analyse der im Buridan`schen Paradigma getesteten Tiere.....                                    | 42 |
| Tab.7:  | Anatomische Analyse der im Detour Paradigma getesteten Tiere...   | 42 |
| Tab.8:  | p-Werte des Kruskal-Wasllis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.22.....                            | 48 |
| Tab.9:  | p-Werte des Kruskal-Wasllis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.23.....                            | 49 |
| Tab.10: | p-Werte des Kruskal-Wasllis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.25.....                            | 52 |
| Tab.11: | p-Werte des Kruskal-Wasllis-Mehrfachvergleichstests zu den Daten aus Abb.26.....                            | 54 |
| Tab.12: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.31.....  | 60 |
| Tab.13: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.32.....  | 62 |
| Tab.14: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.33.....  | 63 |
| Tab.15: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.34.....  | 66 |
| Tab.16: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.36.....  | 70 |
| Tab.17: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.37.....  | 71 |
| Tab.18: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.40.....  | 74 |
| Tab.19: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.42.....  | 78 |
| Tab.20: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.43.....  | 80 |
| Tab.21: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.44.....  | 82 |
| Tab.22: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.49.....  | 88 |
| Tab.23: | p-Werte der statistischen Tests zu den Daten aus Abb.50.....  | 90 |
| Tab.24: | Anatomische Analyse der im Buridan`schen Paradigma getesteten Genotypen.....                                | 91 |
| Tab.25: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.31.....  | 91 |
| Tab.26: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.32.....  | 92 |
| Tab.27: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.33.....  | 92 |
| Tab.28: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.34.....  | 92 |
| Tab.29: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.35.....  | 93 |
| Tab.30: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.36.....  | 93 |
| Tab.31: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.37.....  | 93 |
| Tab.32: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.38.....  | 93 |
| Tab.33: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.39.....  | 93 |
| Tab.34: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.40.....  | 94 |
| Tab.35: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.42.....  | 94 |

|         |  |    |
|---------|--|----|
| Tab.36: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.44..... | 94 |
| Tab.37: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.49..... | 95 |
| Tab.38: | Anatomische Analyse der getesteten Tiere aus Abb.50..... | 95 |

## Diskussion

|         |   |     |
|---------|---|-----|
| Abb.53: | Schema der <i>ebo</i> -Funktion bezüglich des nukleären Exports von Aktin-Profilin-Komplexen..... | 106 |
| Abb.54: | Suppression des SFR-Transkriptionalen-Aktivator-Komplexes durch nukleäres Aktin.....              | 111 |

## Anhang

|          |   |       |
|----------|---|-------|
| Abb.A1:  | Orientierungsleistung der FMRFa-Rezeptormutanten im Buridan`schen Paradigma.....      | I     |
| Abb.A2:  | Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan`schen Paradigma                       | II    |
| Abb.A3:  | Frontale Paraffinschnitte der im Detour getesteten <i>bs</i> -mutanten Fliegen        | III   |
| Abb.A4:  | Frontale Paraffinschnitte der im Detour getesteten <i>Mrtf</i> -mutanten Fliegen..... | III   |
| Tab.A1:  | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.8.....                            | IV    |
| Tab.A2:  | Paarweiser Vergleich für die Mittelwertsdaten aus Abb.9.....                          | V     |
| Tab.A3:  | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.11.....                           | V     |
| Tab.A4:  | Paarweiser Vergleich für die Mittelwertsdaten aus Abb.12.....                         | VI    |
| Tab.A5:  | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.14.....                           | VI    |
| Tab.A6:  | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.15.....                           | VII   |
| Tab.A7:  | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.16.....                           | VII   |
| Tab.A8:  | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.19.....                           | VIII  |
| Tab.A9:  | Paarweiser Vergleich für die Mittelwertsdaten aus Abb.20.....                         | IX    |
| Tab.A10: | Statistik für Abb.22.....   | X     |
| Tab.A11: | Statistik für Abb.23.....   | XI    |
| Tab.A12: | Statistik für Abb.25.....   | XII   |
| Tab.A13: | Statistik für Abb.26.....   | XIII  |
| Tab.A14: | Statistik für Abb.28.....   | XIII  |
| Tab.A15: | Statistik für Abb.29.....   | XIV   |
| Tab.A16: | Statistik für Abb.31.....   | XIV   |
| Tab.A17: | Statistik für Abb.32.....   | XV    |
| Tab.A18: | Statistik für Abb.33.....   | XVI   |
| Tab.A19: | Statistik für Abb.34.....   | XVIII |
| Tab.A20: | Statistik für Abb.35.....   | XX    |

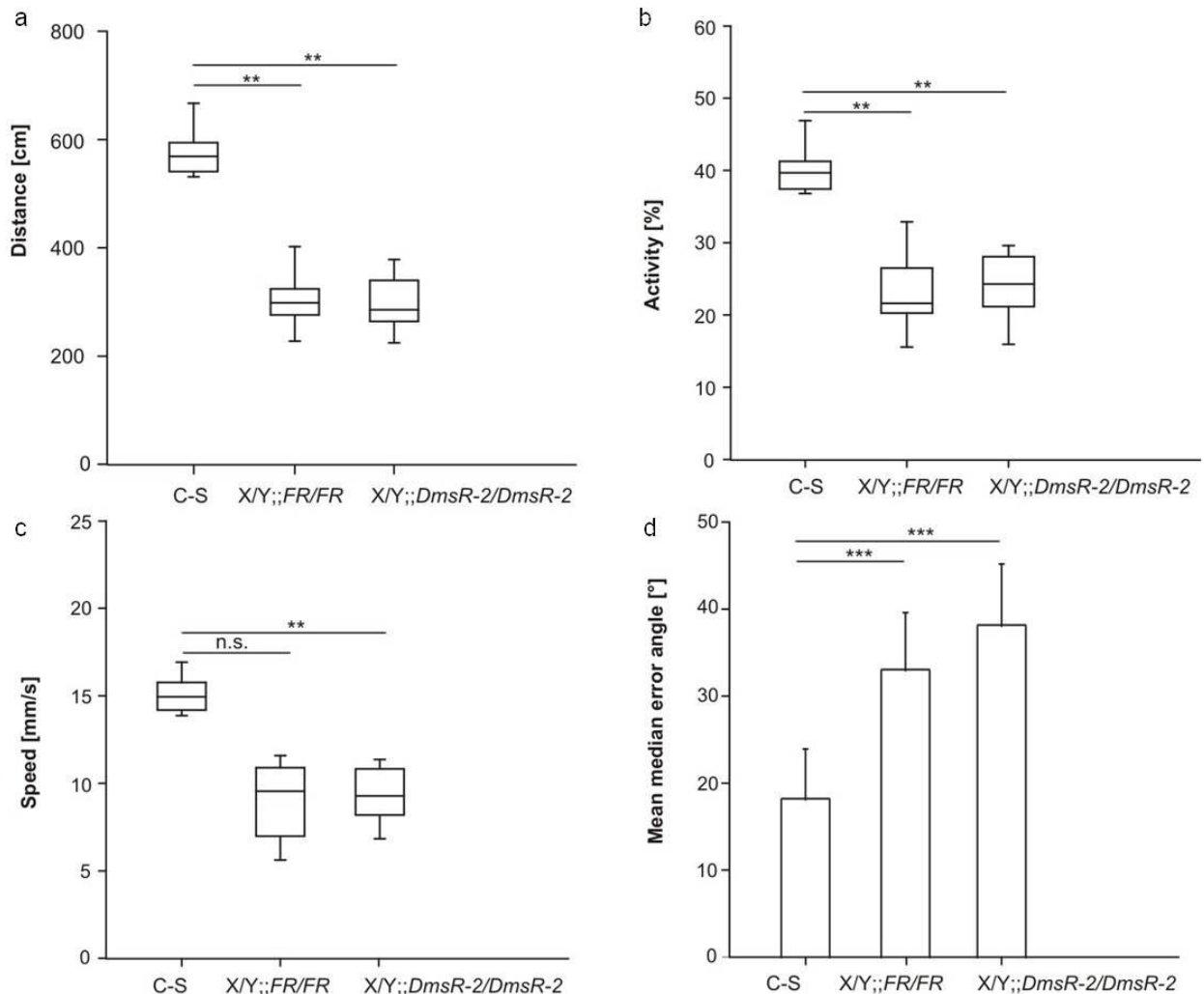
---

|          |   |       |
|----------|---|-------|
| Tab.A21: | Statistik für Abb.36.....                                   | XX    |
| Tab.A22: | Statistik für Abb.37.....                                   | XXI   |
| Tab.A23: | Statistik für Abb.38.....                                   | XXI   |
| Tab.A24: | Statistik für Abb.39.....                                   | XXII  |
| Tab.A25: | Statistik für Abb.40.....                                   | XXII  |
| Tab.A26: | Statistik für Abb.42.....                                   | XXIV  |
| Tab.A27: | Statistik für Abb.43.....                                   | XXV   |
| Tab.A28: | Statistik für Abb.44.....                                   | XXV   |
| Tab.A29: | Statistik für Abb.49.....                                   | XXVI  |
| Tab.A30: | Statistik für Abb.50.....                                   | XXVII |
| Tab.A31: | Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.A1..... | XXIX  |



## 10. Anhang

### 10.1. FMRFamid-Rezeptormutanten im Buridan`schen Paradigma



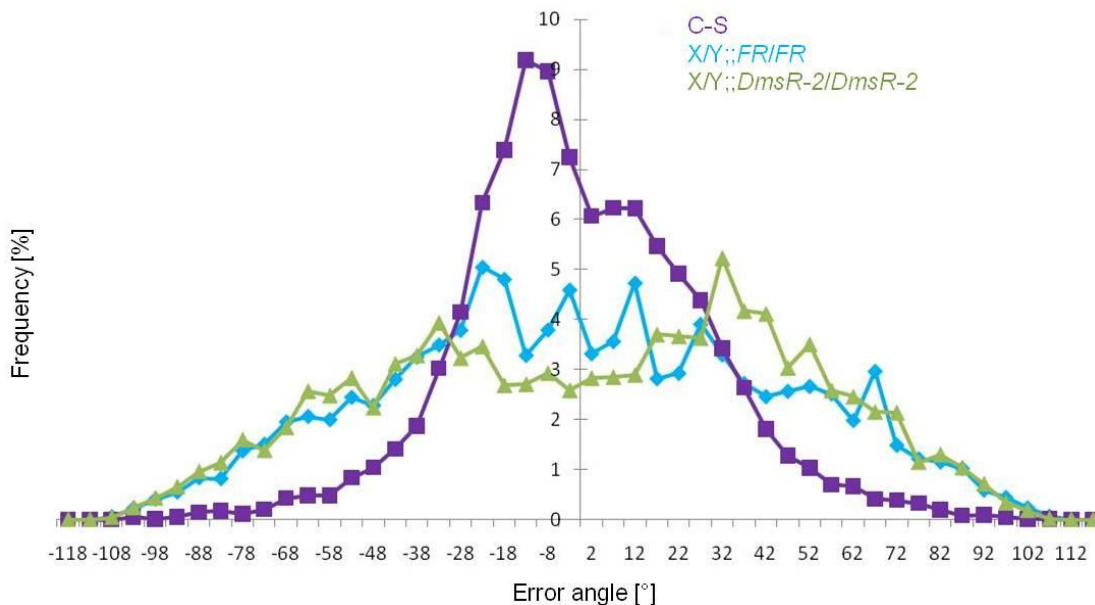
**Abb.A1: Orientierungsleistung der FMRFa-Rezeptormutanten im Buridan`schen Paradigma**

**a-d** Nicht-parametrische Median-Darstellung; Konventionen wie in Abb.12, N= 12 für alle Gruppen, t-Test für ungepaarte Stichproben, Mann-Whitney-Rank-Sum-Test. Sämtliche angewandte statistische Tests für alle Teilabbildungen sowie deren Ergebnisse s. Anhang 10.3. Tab.A31.

*X/Y;;FR/FR* und *X/Y;;DmsR-2/DmsR-2* zeigen im Vergleich zu C-S eine hoch signifikant geringere zurückgelegte Strecke, hoch signifikant weniger Aktivität und einen höchst signifikant größeren mittleren medianen Fehlerwinkel bezüglich der Orientierung auf ein Objekt hin. Außerdem ist *X/Y;;DmsR-2/DmsR-2* hoch signifikant langsamer als C-S. Der Genotyp *X/Y;;FR/FR* ist hoch signifikant weniger aktiv als C-S (p-Werte s. Tab.A31).

Die Tiere, welche mutant für *FR* bzw. *DmsR-2* sind, lassen sich zwar im Detour-Paradigma nicht testen, ihr allgemeines Laufverhalten jedoch konnte im Buridan`schen Paradigma analysiert werden. Abb.A1 zeigt, dass sich beide Rezeptormutantenlinien im

Vergleich zum Laborwildtyp C-S bezüglich ihrer zurückgelegten Distanz sowie der durchschnittlichen Aktivität hoch signifikant schlechter Verhalten (p-werte s. Tab.A31). Des Weiteren ist  $X/Y;;DmsR-2/DmsR-2$  mit einem Median von 10mm/s hoch signifikant langsamer als C-S mit einem Median von 14mm/s. Die mittleren medianen Fehlerwinkel sind von beiden Rezeptormutantenlinien höchst signifikant größer als bei C-S. Abb.A2 verdeutlicht diese sichtbar schlechtere Orientierung von  $X/Y;;DmsR-2/DmsR2$  und  $X/Y;;FR/FR$  auf eine Landmarke hin. Diese Ergebnisse passen zu der Tatsache, dass Fliegen der Rezeptormutantenlinien im Detour-Paradigma nicht zu testen waren.

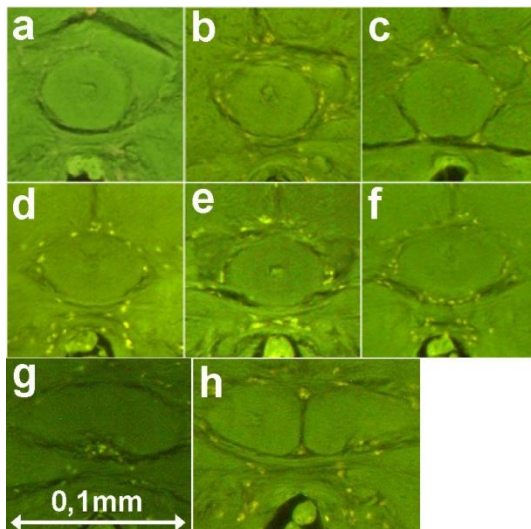


**Abb.A2: Fehlerwinkel der Objekt-Orientierung im Buridan'schen Paradigma**

Die Häufigkeit ein Objekt mit 0° Fehlerwinkel anzulaufen liegt bei  $X/Y;;FR/FR$  und  $X/Y;;DmsR-2/DmsR2$  bei 4% bzw. ca. 2,7% im Vergleich zu den laborwildtypischen 6,5%. (Datensatz wie in Abb.A1; N= 12 für alle Gruppen, Mittelwertdarstellung).

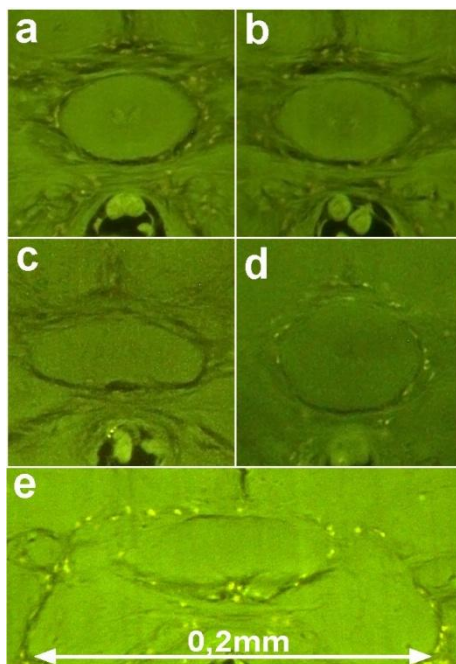
## 10.2. Photos der im Detour Paradigma getesteten *bs*- und *Mrtf*-Mutanten

Die Abbildungen A3 und A4 zeigen Photos mit der jeweilig typischen Gehirnanatomie von allen im Detour Paradigma untersuchten Genotypen, welche *bs* oder *Mrtf* betreffen.



**Abb.A3: Frontale Paraffinschnitte der im Detour getesteten *bs*-mutanten Fliegen**  
(Objektträger-Nr. 11, 43, 61, 13.07.2012; 44, 106, 31.08.2012; 1, 74, 07.09.2012) Durch  
Eigenfluoreszenz erscheinen das Neuropil grünlich und die Zellkörper gelblich.

Typisches Beispiel von **a** C-S, **b** *X/Y;;sp<sup>2</sup>bs<sup>2</sup>/+*, **c** *X/Y;;bs<sup>1348</sup>/+*, **d** *X/Y;bs<sup>2</sup>/II;c232/TM3,Sb*, **e** *X/Y;bs<sup>2</sup>/II;c232/UAS-bs*, **f** *X/Y;;sp<sup>2</sup>bs<sup>2</sup>/bs<sup>1348</sup>*, **g** *ebo<sup>678</sup>/Y;189Y/II;UAS-bs/III*, **h** *ebo<sup>678</sup>/Y;;c232/UAS-bs*.



**Abb.A4: Frontale Paraffinschnitte der im Detour getesteten *Mrtf*-mutanten Fliegen**  
(Objektträger-Nr. 14, 30.07.2012; 179, 12.09.2012; 168, 26.09.2012; 15, 179, 12.10.2012)  
(Konventionen wie in Abb.A1).

Typisches Beispiel von **a** *ebo<sup>678</sup>/X*, **b** *X/X;;Mrtf<sup>Δ7</sup>/+*, **c** *X/Y;;Mrtf<sup>Δ7</sup>/Mrtf<sup>Δ7</sup>*, **d** *ebo<sup>678</sup>/X;;Mrtf<sup>Δ7</sup>/III*, **e** *ebo<sup>678</sup>/Y;189Y/II;UAS-Mrtf/III*.

### 10.3. Statistische Angaben

Tab.A1: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.8 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben und Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| No. of transitions   | p      | t      | T       | p KS   | N 1 | N 2 |
|--|--------|--------|---------|--------|-----|-----|
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs. X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+  | 0,473  | 0,731  | -       | 0,176  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ | 0,006  | 3,053  | -       | 0,355  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ vs.<br>X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+             | 0,009  | -      | 104,500 | <0,050 | 12  | 12  |
| <b>Distance</b>  |        |        |         |        |     |     |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs. X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+  | 0,405  | -0,849 | -       | 0,243  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ | <0,001 | 4,077  | -       | 0,683  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ vs.<br>X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+             | 0,001  | -3,710 | -       | 0,224  | 12  | 12  |
| <b>Walking speed</b>   |        |        |         |        |     |     |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs. X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+  | 0,285  | -      | 169,000 | >0,050 | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ | 0,007  | 2,997  | -       | 0,622  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ vs.<br>X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+             | 0,011  | -2,767 | -       | 0,712  | 12  | 12  |
| <b>Activity</b>  |        |        |         |        |     |     |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs. X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+  | 0,518  | -0,657 | -       | 0,856  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ | 0,012  | 2,741  | -       | 0,403  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ vs.<br>X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+             | 0,024  | -2,421 | -       | 0,129  | 12  | 12  |

Tab.A2: Paarweiser Vergleich für die Mittelwertsdaten aus Abb.9 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben und Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| Orientation  | p     | t      | T       | p KS  | N1 | N2 |
|--|-------|--------|---------|-------|----|----|
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs. X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+  | 0,116 | -1,638 | -       | 0,870 | 12 | 12 |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ | 0,857 | 0,182  | -       | 0,402 | 12 | 12 |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+ vs.<br>X/Y;+/+; <i>elav</i> + <i>Appl</i> /+             | 0,931 | -      | 152,000 | 0,061 | 12 | 12 |

Tab.A3: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.11 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben und Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| No. of transitions  | p      | t       | T       | p KS   | N 1 | N 2 |
|---|--------|---------|---------|--------|-----|-----|
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+   | 0,795  | -       | 145,000 | 0,770  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 | <0,001 | -       | 207,500 | 0,851  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+  | <0,001 | -8,327  | -       | 0,498  | 12  | 12  |
| <b>Distance</b>   |        |         |         |        |     |     |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+   | 0,002  | -3,454  | -       | 0,231  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 | <0,001 | -       | 218,000 | 0,355  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+  | <0,001 | -11,495 | -       | 0,306  | 12  | 12  |
| <b>Walking speed</b>  |        |         |         |        |     |     |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+   | 0,751  | -       | 144,000 | 0,791  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 | <0,001 | 4,070   | -       | 0,647  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+  | <0,001 | -6,700  | -       | 0,419  | 12  | 12  |
| <b>Activity</b>   |        |         |         |        |     |     |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+   | <0,001 | -4,352  | -       | 0,461  | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs.<br><i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 | 0,007  | -       | 197,000 | <0,050 | 12  | 12  |
| <i>grf</i> <sup>C31</sup> -UAS- <i>grf</i> /Y;UAS-GFP/NP2320 vs.<br>X/Y;NP2320/+;Or83b/+  | <0,001 | -8,637  | -       | 0,605  | 12  | 12  |

Tab.A4: Paarweiser Vergleich für die Mittelwertsdaten aus Abb.12 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| Orientation   | p     | t      | T | p KS  | N1 | N2 |
|---|-------|--------|---|-------|----|----|
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs. X/Y;NP2320/+;Or83b/+</i>                       | 0,001 | -3,686 | - | 0,303 | 12 | 12 |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-GFP/+;Or83b/+ vs. grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-GFP/NP2320</i> | 0,078 | 1,847  | - | 0,721 | 12 | 12 |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;UAS-GFP/NP2320 vs. X/Y;NP2320/+;Or83b/+</i>                          | 0,045 | 2,127  | - | 0,870 | 12 | 12 |

Tab.A5: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.14 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben und Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| Detour   | p      | t      | T | p KS  | N1 | N2 |
|--|--------|--------|---|-------|----|----|
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+ vs. X/Y;+/+;elav+Appl/+</i>                         | <0,001 | 6,245  | - | 0,083 | 12 | 12 |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+ vs. grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+Appl/+</i> | 0,021  | 2,491  | - | 0,311 | 12 | 12 |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+Appl/+ vs. X/Y;+/+;elav+Appl/+</i>             | <0,001 | -4,076 | - | 0,112 | 12 | 12 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests.

| Detour   | p     | Statistischer Test | p KS   | N1 |
|--|-------|--------------------|--------|----|
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+ vs. 58%</i>             | 0,188 | one-sample-t-test  | 0,162  | 12 |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;+/+;elav+Appl/+ vs. 58%</i> | 0,047 | one-sample-t-test  | 0,063  | 12 |
| <i>X/Y;+/+;elav+Appl/+ vs. 58%</i>                         | 0,001 | sign-test          | <0,050 | 12 |

Tab.A6: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.15 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| Detour  | p     | t      | p KS  | N1 | N2 |
|---|-------|--------|-------|----|----|
| $grf^{C31}/Y;UAS-grf/+$ (x WT-B) vs. $X/Y;NP2320/+$ (x WT-B)      | 0,176 | -1,402 | 0,317 | 11 | 11 |
| $grf^{C31}/Y;UAS-grf/+$ (x WT-B) vs. $grf^{C31}/Y;UAS-grf/NP2320$ | 0,047 | -2,115 | 0,104 | 11 | 11 |
| $grf^{C31}/Y;UAS-grf/NP2320$ vs. $X/Y;NP2320/+$ (x WT-B)          | 0,448 | 0,773  | 0,650 | 11 | 11 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests, Test auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk (SW).

| Detour                                   | p     | Statistischer Test | p SW  | N1 |
|--|-------|--------------------|-------|----|
| $grf^{C31}/Y;UAS-grf/+$ (x WT-B) vs. 58% | 0,710 | one-sample-t-test  | 0,296 | 11 |
| $grf^{C31}/Y;UAS-grf/NP2320$ vs. 58%     | 0,007 | one-sample-t-test  | 0,275 | 11 |
| $X/Y;NP2320/+$ (x WT-B) vs. 58%          | 0,033 | one-sample-t-test  | 0,480 | 11 |

Tab.A7: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.16 mittels des t-Tests für gepaarte Stichproben und des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| Detour  | p      | t      | T       | p KS   | N1 | N2 |
|---|--------|--------|---------|--------|----|----|
| $grf^{C31}-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+$ (17,5°C) vs. $grf^{C31}-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+$ (30°C) | <0,001 | -4,690 | -       | 0,170  | 12 | 12 |
| WT-B (25°C) vs. WT-B (30°C)   | 0,463  | 0,761  | -       | 0,216  | 12 | 12 |
| $grf^{C31}-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+$ (17,5°C) vs. WT-B (25°C)                                | <0,001 | -      | 83,500  | <0,050 | 12 | 12 |
| $grf^{C31}-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+$ (30°C) vs. WT-B (30°C)                                  | 0,903  | -      | 152,500 | <0,050 | 12 | 12 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests, Test auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk (SW).

| Detour  | p      | Statistischer Test | p (SW) | N1 |
|---|--------|--------------------|--------|----|
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+ (17,5°C) vs. 58%</i> | 0,773  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>grf<sup>C31</sup>-UAS-grf/Y;;hsp70-GAL4/+ (30°C) vs. 58%</i>   | 0,001  | one-sample-t-test  | 0,228  | 12 |
| WT-B (25°C) vs. 58%   | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,160  | 12 |
| WT-B (30°C) vs. 58%   | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,077  | 12 |

Tab.A8: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.19 mittels des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel gemessen wurden (s. 2.5.).

| No. of transitions   | p      | T       | p KS   | N 1 | N 2 |
|--|--------|---------|--------|-----|-----|
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                                | 0,026  | 111,000 | 0,761  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> | <0,001 | 221,000 | <0,050 | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                    | <0,001 | 82,500  | <0,050 | 12  | 12  |
| <b>Distance</b>  |        |         |        |     |     |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                                | 0,141  | 124,000 | 0,497  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> | <0,001 | 222,000 | 0,189  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                    | <0,001 | 80,000  | <0,050 | 12  | 12  |
| <b>Walking speed</b>   |        |         |        |     |     |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                                | 0,065  | 117,500 | 0,357  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> | <0,001 | 78,000  | 0,121  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                    | <0,001 | 221,000 | 0,079  | 12  | 12  |
| <b>Activity</b>  |        |         |        |     |     |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                                | 0,564  | 139,500 | 0,439  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+ vs. ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+</i> | <0,001 | 89,000  | 0,294  | 12  | 12  |
| <i>ebo<sup>EY</sup>/Y;3282<sup>M7</sup>/+;elav+AppI/+ vs. X/Y;+/+;elav+AppI/+</i>                    | 0,003  | 202,000 | 0,572  | 12  | 12  |



**Tab.A9: Paarweiser Vergleich für die Mittelwertsdaten aus Abb.20 mittels des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).**

| Orientation  | p     | T       | p KS   | N1 | N2 |
|--|-------|---------|--------|----|----|
| $ebo^{EY}/Y;3282^{M7}/+$ vs. $X/Y;+/+;elav+AppI/+$                   | 0,507 | 138,000 | <0,050 | 12 | 12 |
| $ebo^{EY}/Y;3282^{M7}/+$ vs.<br>$ebo^{EY}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$ | 0,544 | 161,000 | <0,050 | 12 | 12 |
| $ebo^{EY}/Y;3282^{M7}/+;elav+AppI/+$ vs.<br>$X/Y;+/+;elav+AppI/+$    | 0,795 | 145,000 | <0,050 | 12 | 12 |

Tab.A10: Statistik für Abb.22

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(3, N = 47) = 20,60710$   $p = 0,0001$ .

| N / n   | No. of transitions   | 1               | 2               | 3               |
|---------|--|-----------------|-----------------|-----------------|
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav+Appl</i> + (1)<br><b>R:20,000</b> |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (2)<br><b>R:19,833</b>                     | <0,001<br>4,116 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>X/Y</i> ;+/+; <i>elav+Appl</i> + (3)<br><b>R:17,250</b>   | 0,124<br>2,315  | 0,430<br>1,801  |                 |
| 11 / 11 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>Appl</i> + (4)<br><b>R:40,273</b>      | ≈1,000<br>0,541 | 0,003<br>3,484  | 0,510<br>1,723  |
| N / n   | Distance   | 1               | 2               | 3               |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav+Appl</i> + (1)<br><b>R:20,000</b> |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (2)<br><b>R:19,833</b>                     | <0,001<br>4,124 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>X/Y</i> ;+/+; <i>elav+Appl</i> + (3)<br><b>R:17,250</b>   | 0,240<br>2,054  | 0,231<br>2,069  |                 |
| 11 / 11 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>Appl</i> + (4)<br><b>R:40,273</b>      | 0,003<br>3,486  | ≈1,000<br>0,547 | 0,838<br>1,477  |
| N / n   | Walking speed  | 1               | 2               | 3               |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav+Appl</i> + (1)<br><b>R:20,000</b> |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (2)<br><b>R:19,833</b>                     | <0,001<br>3,967 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>X/Y</i> ;+/+; <i>elav+Appl</i> + (3)<br><b>R:17,250</b>   | 0,129<br>2,300  | 0,573<br>1,667  |                 |
| 11 / 11 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>Appl</i> + (4)<br><b>R:40,273</b>      | ≈1,000<br>1,152 | 0,038<br>2,729  | ≈1,000<br>1,098 |
| N / n   | Activity   | 1               | 2               | 3               |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav+Appl</i> + (1)<br><b>R:20,000</b> |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (2)<br><b>R:19,833</b>                     | 0,016<br>3,000  |                 |                 |
| 12 / 12 | <i>X/Y</i> ;+/+; <i>elav+Appl</i> + (3)<br><b>R:17,250</b>   | ≈1,000<br>1,064 | 0,318<br>1,935  |                 |
| 11 / 11 | <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>Appl</i> + (4)<br><b>R:40,273</b>      | 0,003<br>3,471  | ≈1,000<br>0,537 | 0,091<br>2,430  |

Tab.A11: Statistik für Abb.23

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(3, N = 47) = 20,60710$   $p = 0,0001$ .

| N / n   | Orientation  | 1                        | 2                        | 3               |
|---------|--|--------------------------|--------------------------|-----------------|
| 12 / 12 | $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+;elav+Appl/+$ (1)<br><b>R:20,000</b> |                          |                          |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{KS263}/Y;3282^{M7}/+$ (2)<br><b>R:19,833</b>             | $\approx 1,000$<br>0,030 |                          |                 |
| 12 / 12 | $X/Y;+/+;elav+Appl/+$ (3)<br><b>R:17,250</b>                   | $\approx 1,000$<br>0,491 | $\approx 1,000$<br>0,462 |                 |
| 11 / 11 | $ebo^{KS263}/y;3282^{M7}/+;Appl/+$ (4)<br><b>R:40,273</b>      | 0,002<br>3,542           | 0,002<br>3,571           | <0,001<br>4,023 |

Tab.A12: Statistik für Abb.25

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(4, N = 58) = 18,13322$   $p = 0,0012$ .

| N / n   | No. of transitions                               | 1               | 2               | 3               | 4               |
|---------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 12 / 12 | C-S (1)<br>R:16,500                              |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$ (2)<br>R:19,583 | 0,005<br>3,511  |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$ (3)<br>R:49,083      | 0,010<br>3,294  | ≈1,000<br>0,218 |                 |                 |
| 11 / 11 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$ (4)<br>R:21,500      | ≈1,000<br>0,973 | 0,111<br>2,538  | 0,203<br>2,321  |                 |
| 10 / 10 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;App//+$ (5)<br>R:43,100  | 0,332<br>2,130  | ≈1,000<br>1,218 | ≈1,000<br>1,011 | ≈1,000<br>1,202 |
| N / n   | Distance   | 1               | 2               | 3               | 4               |
| 12 / 12 | C-S (1)<br>R:16,500                              |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$ (2)<br>R:19,583 | 0,001<br>4,074  |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$ (3)<br>R:49,083      | ≈1,000<br>1,330 | 0,061<br>2,744  |                 |                 |
| 11 / 11 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$ (4)<br>R:21,500      | ≈1,000<br>1,487 | 0,097<br>2,587  | ≈1,000<br>0,157 |                 |
| 10 / 10 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;App//+$ (5)<br>R:43,100  | ≈1,000<br>0,339 | 0,004<br>3,545  | ≈1,000<br>0,929 | ≈1,000<br>1,079 |
| N / n   | Walking speed                                    | 1               | 2               | 3               | 4               |
| 12 / 12 | C-S (1)<br>R:16,500                              |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$ (2)<br>R:19,583 | 0,001<br>4,061  |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$ (3)<br>R:49,083      | 0,016<br>3,155  | ≈1,000<br>0,907 |                 |                 |
| 11 / 11 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$ (4)<br>R:21,500      | ≈1,000<br>0,955 | <0,001<br>5,016 | <0,001<br>4,110 |                 |
| 10 / 10 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;App//+$ (5)<br>R:43,100  | 0,011<br>3,264  | ≈1,000<br>0,609 | ≈1,000<br>0,256 | <0,001<br>4,174 |
| N / n   | Activity   | 1               | 2               | 3               | 4               |
| 12 / 12 | C-S (1)<br>R:16,500                              |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/3282^{M7}$ (2)<br>R:19,583 | <0,001<br>4,545 |                 |                 |                 |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$ (3)<br>R:49,083      | 0,021<br>3,082  | ≈1,000<br>1,463 |                 |                 |
| 11 / 11 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$ (4)<br>R:21,500      | 0,074<br>2,677  | 0,618<br>1,868  | ≈1,000<br>0,405 |                 |
| 10 / 10 | $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;App//+$ (5)<br>R:43,100  | ≈1,000<br>0,108 | <0,001<br>4,225 | 0,047<br>2,831  | 0,145<br>2,444  |

Tab.A13: Statistik für Abb.26

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(4, N = 58) = 36,56727$   $p = 0,0000$ .

| N / n   | Orientation                                     | 1                        | 2                        | 3                        | 4              |
|---------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------|
| 12 / 12 | C-S (1)<br>R:16,500                             |                          |                          |                          |                |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/3282^{M7}$ (2)<br>R:19,583 | $\approx 1,000$<br>0,447 |                          |                          |                |
| 12 / 12 | $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/c305$ (3)<br>R:49,083      | <0,001<br>4,726          | <0,001<br>4,279          |                          |                |
| 11 / 11 | $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/189Y$ (4)<br>R:21,500      | $\approx 1,000$<br>0,725 | $\approx 1,000$<br>0,278 | 0,001<br>4,001           |                |
| 10 / 10 | $ebo^{EY/Y;3282^{M7}/+;Appl/+$ (5)<br>R:43,100  | 0,002<br>3,679           | 0,011<br>3,252           | $\approx 1,000$<br>0,828 | 0,028<br>2,987 |

Tab.A14: Statistik für Abb.28

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(2, N = 36) = 15,20208$   $p = 0,0005$ .

| N / n   | No. of transitions                               | 1                        | 2              |
|---------|--|--------------------------|----------------|
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$ (1)<br>R:14,542 |                          |                |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$ (2)<br>R:12,833  | $\approx 1,000$<br>0,397 |                |
| 12 / 12 | C-S (3)<br>R:28,125                              | 0,005<br>3,158           | 0,001<br>3,555 |
| N / n   | Distance   | 1                        | 2              |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$ (1)<br>R:14,542 | $\approx 1,000$<br>0,601 |                |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$ (2)<br>R:12,833  | 0,035<br>2,519           | 0,005<br>3,119 |
| 12 / 12 | C-S (3)<br>R:28,125                              |                          |                |
| N / n   | Walking speed                                    | 1                        | 2              |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$ (1)<br>R:14,542 |                          |                |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$ (2)<br>R:12,833  | $\approx 1,000$<br>0,174 |                |
| 12 / 12 | C-S (3)<br>R:28,125                              | 0,052<br>2,383           | 0,032<br>2,557 |
| N / n   | Activity   | 1                        | 2              |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;c305/+$ (1)<br>R:14,542 |                          |                |
| 12 / 12 | $ebo^{678}SD3282^{#23}/Y;CyO/+$ (2)<br>R:12,833  | $\approx 1,000$<br>0,542 |                |
| 12 / 12 | C-S (3)<br>R:28,125                              | 0,234<br>1,763           | 0,063<br>2,306 |

Tab.A15: Statistik für Abb.29

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(2, N = 36) = 12,44595$   $p = 0,0020$ .

| N / n   | Orientation  | 1               | 2              |
|---------|--|-----------------|----------------|
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+ (1)<br><b>R:14,542</b> |                 |                |
| 12 / 12 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;CyO/+ (2)<br><b>R:12,833</b>  | ≈1,000<br>0,174 |                |
| 12 / 12 | C-S (3)<br><b>R:28,125</b>   | 0,009<br>2,964  | 0,005<br>3,139 |

Tab.A16: Statistik für Abb.31

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(7, N = 99) = 27,09866$   $p = 0,0003$ .

| N / n    | Detour  | 1               | 2               | 3               | 4               | 5               | 6               | 7               |
|----------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 15 / 150 | C-S (1)<br><b>R:77,000</b>  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 14 / 140 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+ (x WT-B)<br>(2) <b>R:34,393</b>     | 0,002<br>3,992  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 14 / 140 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;elav+AppII<br>+ (3) <b>R:60,786</b> | ≈1,000<br>1,519 | 0,421<br>2,431  |                 |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;AppII+ (4)<br><b>R:44,667</b>       | 0,102<br>2,907  | ≈1,000<br>0,909 | ≈1,000<br>1,427 |                 |                 |                 |                 |
| 10 / 100 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /189Y (5)<br><b>R:49,100</b>           | 0,486<br>2,379  | ≈1,000<br>1,237 | ≈1,000<br>0,983 | ≈1,000<br>0,360 |                 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /c305 (6)<br><b>R:54,333</b>           | ≈1,000<br>2,038 | ≈1,000<br>1,765 | ≈1,000<br>0,571 | ≈1,000<br>0,824 | ≈1,000<br>0,426 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;c547/+ (7)<br><b>R:40,000</b>       | 0,025<br>3,326  | ≈1,000<br>0,496 | ≈1,000<br>1,840 | ≈1,000<br>0,398 | ≈1,000<br>0,740 | ≈1,000<br>1,222 |                 |
| 10 / 100 | <i>ebo</i> <sup>EY</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+ (8)<br><b>R:30,350</b>       | 0,002<br>3,978  | ≈1,000<br>0,340 | 0,294<br>2,559  | ≈1,000<br>1,164 | ≈1,000<br>1,460 | ≈1,000<br>1,950 | ≈1,000<br>0,785 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour                                       | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|--|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%                                  | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 15 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+$ (x WT-B) vs. 58%    | 0,113  | one-sample-t-test  | 0,095  | 14 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;elav+AppI/+$ vs. 58% | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,056  | 14 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;AppI/+$ vs. 58%      | 0,043  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/189Y$ vs. 58%          | 0,035  | one-sample-t-test  | 0,646  | 10 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/c305$ vs. 58%          | 0,001  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;c547/+$ vs. 58%      | 0,246  | one-sample-t-test  | 0,444  | 12 |
| $ebo^{EY/Y};3282^{M7}/+;c232/+$ vs. 58%      | 0,752  | sign-test          | <0,050 | 10 |

Tab.A17: Statistik für Abb.32

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(8, N = 113) = 37,24697$   $p = 0,0000$ .

| N / n    | Detour   | 1                        | 2                        | 3                        | 4                        | 5                        | 6                        | 7                        | 8                        |
|----------|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 15 / 150 | C-S (1)<br><b>R:91,500</b>   |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| 14 / 140 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/+$<br>(x WT-B) (2)<br><b>R:31,893</b>       | <0,001<br>4,896          |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| 14 / 140 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/+;$<br>$elav+AppI/+$ (3)<br><b>R:61,179</b> | 0,459<br>2,490           | 0,649<br>2,365           |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| 12 / 120 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/+;$<br>$AppI/+$ (4) <b>R:75,125</b>         | $\approx 1,000$<br>1,290 | 0,029<br>3,354           | $\approx 1,000$<br>1,082 |                          |                          |                          |                          |                          |
| 10 / 100 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/$<br>189Y (5) <b>R:65,591</b>               | $\approx 1,000$<br>1,992 | 0,385<br>2,553           | $\approx 1,000$<br>0,334 | $\approx 1,000$<br>0,697 |                          |                          |                          |                          |
| 12 / 120 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/$<br>c305 (6) <b>R:50,167</b>               | 0,040<br>3,257           | $\approx 1,000$<br>1,418 | $\approx 1,000$<br>0,854 | $\approx 1,000$<br>1,866 | $\approx 1,000$<br>1,128 |                          |                          |                          |
| 12 / 120 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/+;$<br>c42/+ (7) <b>R:41,409</b>            | 0,004<br>3,851           | $\approx 1,000$<br>0,721 | $\approx 1,000$<br>1,498 | 0,493<br>2,465           | $\approx 1,000$<br>1,731 | $\approx 1,000$<br>0,640 |                          |                          |
| 10 / 100 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/+;$<br>c547/+ (8) <b>R:46,125</b>           | 0,013<br>3,576           | $\approx 1,000$<br>1,104 | $\approx 1,000$<br>1,168 | $\approx 1,000$<br>2,168 | $\approx 1,000$<br>1,423 | $\approx 1,000$<br>0,302 | $\approx 1,000$<br>0,345 |                          |
| 10 / 100 | $ebo^{KS263/Y};3282^{M7}/+;$<br>c232/+ (9) <b>R:44,292</b>           | 0,007<br>3,720           | $\approx 1,000$<br>0,962 | $\approx 1,000$<br>1,310 | 0,762<br>2,305           | $\approx 1,000$<br>1,557 | $\approx 1,000$<br>0,439 | $\approx 1,000$<br>0,211 | $\approx 1,000$<br>2,168 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour   | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|--|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%  | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 15 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+ (x WT-B) vs. 58%             | 0,960  | one-sample-t-test  | 0,052  | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>elav+Appl</i> /+ vs. 58% | 0,006  | one-sample-t-test  | 0,242  | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+; <i>Appl</i> /+ vs. 58%      | 0,001  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /189Y vs. 58%                   | 0,003  | one-sample-t-test  | 0,518  | 10 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /c305 vs. 58%                   | 0,040  | one-sample-t-test  | 0,059  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c42/+ vs. 58%                | 0,520  | one-sample-t-test  | 0,084  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c547/+ vs. 58%               | 0,352  | one-sample-t-test  | 0,177  | 10 |
| <i>ebo</i> <sup>KS263</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+ vs. 58%               | 0,386  | sign-test          | <0,050 | 10 |

Tab.A18: Statistik für Abb.33

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(3, N = 53) = 14,78416$   $p = 0,0020$ .

| N / n    | Detour  | 1     | 2     | 3      |
|----------|---|-------|-------|--------|
| 15 / 150 | C-S (1)<br>R:38,067   |       |       |        |
| 14 / 140 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M5</sup> /Or83b (2)<br>R:15,750             | 0,001 |       |        |
| 14 / 140 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M5</sup> / <i>elav+Appl</i> (3)<br>R:26,321 | 0,244 | 0,491 |        |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;3282 <sup>M5</sup> / <i>Appl</i> (4)<br>R:25,208      | 0,189 | 0,801 | ≈1,000 |



Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests.  
Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour   | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|--|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%  | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 15 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ::3282 <sup>M5</sup> / <i>Or83b</i> vs. 58%     | 0,386  | sign-test          | <0,050 | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ::3282 <sup>M5</sup> / <i>elav+AppI</i> vs. 58% | 0,002  | one-sample-t-test  | 0,410  | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ::3282 <sup>M5</sup> / <i>AppI</i> vs. 58%      | 0,003  | one-sample-t-test  | 0,790  | 12 |

Tab.A19: Statistik für Abb.34

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(10, N = 151) = 43,00662$   $p = 0,0000$ .

| N / n    | Detour   | 1               | 2               | 3               | 4               | 5               | 6               | 7               | 8               | 9               | 10              |
|----------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 15 / 150 | C-S (1)<br>R:114,73  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y (2)<br>R:43,417   | 0,001<br>4,210  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 15 / 150 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Or83b/+ (3)<br>R:37,900                      | <0,001<br>4,811 | ≈1,000<br>0,326 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;c232/+ (4)<br>R:51,083                       | 0,009<br>3,758  | ≈1,000<br>0,429 | ≈1,000<br>0,778 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 10 / 100 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;189Y/+ (5)<br>R:90,150                        | ≈1,000<br>1,377 | 0,691<br>2,450  | 0,189<br>2,926  | ≈1,000<br>2,086 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;EB1/+ (6)<br>R:87,250                         | ≈1,000<br>1,623 | 0,775<br>2,455  | 0,197<br>2,914  | ≈1,000<br>2,026 | ≈1,000<br>0,155 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;;198Y/+ (7)<br>R:70,458                      | 0,492<br>2,614  | ≈1,000<br>1,515 | ≈1,000<br>1,922 | ≈1,000<br>1,085 | ≈1,000<br>1,052 | ≈1,000<br>0,940 |                 |                 |                 |                 |
| 21 / 210 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;ftz-ng/+ (8)<br>R:91,857                     | ≈1,000<br>1,547 | 0,121<br>3,061  | 0,014<br>3,650  | 0,549<br>2,576  | ≈1,000<br>0,102 | ≈1,000<br>0,291 | ≈1,000<br>1,352 |                 |                 |                 |
| 18 / 180 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;a19/+ (9)<br>R:71,972                        | 0,284<br>2,797  | ≈1,000<br>1,752 | ≈1,000<br>2,228 | ≈1,000<br>1,282 | ≈1,000<br>1,054 | ≈1,000<br>0,937 | ≈1,000<br>0,093 | ≈1,000<br>1,416 |                 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+ (10)<br>R:96,972                       | ≈1,000<br>1,059 | 0,154<br>2,989  | 0,028<br>3,477  | 0,576<br>2,560  | ≈1,000<br>0,355 | ≈1,000<br>0,534 | ≈1,000<br>1,475 | ≈1,000<br>0,312 | ≈1,000<br>1,523 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+ (11)<br>R:72,708 | 0,720<br>2,481  | ≈1,000<br>1,641 | ≈1,000<br>2,055 | ≈1,000<br>1,211 | ≈1,000<br>0,931 | ≈1,000<br>0,814 | ≈1,000<br>0,126 | ≈1,000<br>1,210 | ≈1,000<br>0,045 | ≈1,000<br>1,349 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests.  
Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour  | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|---|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%   | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 15 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> /Y vs. 58%  | 0,043  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Or83b/+ vs. 58%                     | 0,687  | one-sample-t-test  | 0,400  | 15 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;c232/+ vs. 58%                      | 0,113  | one-sample-t-test  | 0,146  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;189Y/+ vs. 58%                       | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,124  | 10 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;EB1/+ vs. 58%                        | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,137  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;;198Y/+ vs. 58%                     | 0,387  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;ftz-ng/+ vs. 58%                    | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,138  | 21 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;a19/+ vs. 58%                       | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 18 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+ vs. 58%                       | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,262  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;c232/+ vs. 58% | 0,002  | sign-test          | <0,050 | 12 |

Tab.A20: Statistik für Abb.35

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour  | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|---|--------|--------------------|--------|----|
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;Cha/+ vs. 58%                        | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,411  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;GAD1/+ vs. 58%                      | 0,087  | one-sample-t-test  | 0,087  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;3282 <sup>M7</sup> /+;GAD1/+ vs. 58% | 0,010  | sign-test          | <0,050 | 15 |

Tab.A21: Statistik für Abb.36

Vergleich für die medianen Daten aus Abb.36 mittels des gepaarten-t-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS).

| N / n    | Detour   | p      | t      | pKS   |
|----------|--|--------|--------|-------|
| 12 / 120 | C-S<br>18°C (1) vs. (2)  | ≈1,000 | 0,000  | 0,204 |
| 12 / 120 | C-S<br>18 > 25°C (2)   |        |        |       |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup><br>18°C (3) vs. (4)     | 0,001  | -4,432 | 0,300 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup><br>18 > 25°C (4)        |        |        |       |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+<br>18°C (5) vs. (6) | 0,021  | -2,691 | 0,212 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+<br>18 > 25°C (6)    |        |        |       |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour  | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|---|--------|--------------------|--------|----|
| C-S 18°C vs. 58%  | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,160  | 12 |
| C-S 18 > 25°C vs. 58%   | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,160  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup> 18°C vs. 58%             | 0,149  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/189YTubGAL80 <sup>ts</sup><br>18 > 25°C vs. 58%     | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,123  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+<br>18°C vs. 58%      | 0,913  | one-sample-t-test  | 0,181  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;UAS-mCD8:GFP/c305;TubGAL80 <sup>ts</sup> /+<br>18 > 25°C vs. 58% | 0,005  | one-sample-t-test  | 0,513  | 12 |

**Tab.A22: Statistik für Abb.37**

**Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.37 mittels des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests und Wilcoxon-Signed-Rank-Test; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS).**

| N / n    | Detour   | p     | T       | W      | pKS    |
|----------|--|-------|---------|--------|--------|
| 14 / 140 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>18°C (1) vs. (2) | 0,003 | -       | 61,000 | <0,050 |
| 14 / 140 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>18 > 25°C (2)    |       |         |        |        |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>25°C (3) vs. (4) | 0,022 | 214,000 | -      | <0,050 |
| 15 / 150 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+<br>25 > 18°C (4)    |       |         |        |        |

**Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.**

| Detour   | p     | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|--|-------|--------------------|--------|----|
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 18°C vs. 58%      | 0,155 | one-sample-t-test  | 0,146  | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 18 > 25°C vs. 58% | 0,001 | sign-test          | <0,050 | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 25°C vs. 58%      | 0,009 | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;hsp70-GAL4/+ 25 > 18°C vs. 58% | 0,693 | one-sample-t-test  | 0,153  | 15 |

**Tab.A23: Statistik für Abb.38**

**Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.38 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).**

| N / n    | Detour                                     | p     | t      | pKS   |
|----------|--|-------|--------|-------|
| 12 / 120 | C-S vs. X/Y;189Y/+;UAS- <i>ebo</i> -RNAi/+ | 0,021 | -2,493 | 0,052 |

**Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests. Normalverteilung mittels des Kolmogorov-Smirnov-test (KS).**

| Detour                                     | p      | Statistischer Test | p KS  | N1 |
|--|--------|--------------------|-------|----|
| C-S vs. 58%                                | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,160 | 12 |
| X/Y;189Y/+;UAS- <i>ebo</i> -RNAi/+ vs. 58% | 0,226  | one-sample-t-test  | 0,495 | 12 |

Tab.A24: Statistik für Abb.39

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(1, N = 23) = 0,1097747$   $p = 0,7404$ .

| N / n    | Detour                                | 1              |
|----------|---------------------------------------|----------------|
| 12 / 120 | C-S (1)<br>R:12,417                   |                |
| 12 / 120 | X/Y;c305/+;npf-RNAi/+ (2)<br>R:11,545 | 0,758<br>0,308 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour                        | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|-------------------------------|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%                   | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,077  | 12 |
| X/Y;c305/+;npf-RNAi/+ vs. 58% | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 12 |

Tab.A25: Statistik für Abb.40

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(5, N = 93) = 34,12579$   $p = 0,0000$ .

| N / n    | Detour                                   | 1               | 2               | 3               | 4               | 5               |
|----------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 15 / 150 | C-S (1)<br>R:75,300                      |                 |                 |                 |                 |                 |
| 18 / 180 | X/Y;c305/+;FMRFaRNAi/+ (2)<br>R: 28,500  | <0,001<br>4,960 |                 |                 |                 |                 |
| 15 / 150 | X/Y;189Y/+;FMRFaRNAi/+ (3)<br>R:59,900   | ≈1,000<br>1,563 | 0,013<br>3,328  |                 |                 |                 |
| 15 / 150 | X/Y;;FMRFaRNAi/ftz-ng (4)<br>R:36,300    | 0,001<br>3,957  | ≈1,000<br>0,827 | 0,250<br>2,395  |                 |                 |
| 15 / 150 | X/Y;;FMRFaRNAi/+;;198Y/+ (5)<br>R:48,233 | 0,090<br>2,746  | 0,548<br>2,091  | ≈1,000<br>1,184 | ≈1,000<br>1,211 |                 |
| 15 / 150 | X/Y;EB1/+;FMRFaRNAi/+ (6)<br>R:37,467    | 0,002<br>3,839  | ≈1,000<br>0,950 | 0,343<br>2,276  | ≈1,000<br>0,118 | ≈1,000<br>1,092 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests.  
Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour                            | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|-----------------------------------|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%                       | <0,001 | sign-test          | <0,050 | 15 |
| X/Y;c305/+;FMRFaRNAi/+ vs. 58%    | 0,034  | sign-test          | <0,050 | 18 |
| X/Y;189Y/+;FMRFaRNAi/+ vs. 58%    | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,116  | 15 |
| X/Y;;FMRFaRNAi/ftz-ng vs. 58%     | 0,121  | sign-test          | <0,050 | 15 |
| X/Y;;FMRFaRNAi/+;;;198Y/+ vs. 58% | 0,121  | sign-test          | <0,050 | 15 |
| X/Y;EB1/+;FMRFaRNAi/+ vs. 58%     | 0,123  | one-sample-t-test  | 0,246  | 15 |

Tab.A26: Statistik für Abb.42

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(8, N = 987) = 171,8146$   $p = 0,000$ .

| N / n     | Detour  | 1               | 2               | 3               | 4               | 5               | 6               | 7               | 8               |
|-----------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 117 / 117 | C-S (1)<br><b>R:669,55</b>  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 100 / 100 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Or83b/+ (2)<br><b>R:528,11</b>  | 0,010<br>3,643  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 115 / 115 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;Appl/+ (3)<br><b>R:696,77</b>   | ≈1,000<br>0,727 | 0,001<br>4,327  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 113 / 113 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;a19/+ (4)<br><b>R:478,28</b>    | <0,001<br>7,428 | 0,015<br>3,531  | <0,001<br>8,116 |                 |                 |                 |                 |                 |
| 110 / 110 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;189Y/+ (5)<br><b>R:393,29</b>    | <0,001<br>7,297 | 0,022<br>3,423  | <0,001<br>7,983 | ≈1,000<br>0,096 |                 |                 |                 |                 |
| 110 / 110 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;ftz-ng/+ (6)<br><b>R:473,89</b> | <0,001<br>7,960 | 0,001<br>4,155  | <0,001<br>8,624 | ≈1,000<br>0,740 | ≈1,000<br>0,830 |                 |                 |                 |
| 109 / 109 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;c305/+ (7)<br><b>R:428,34</b>    | <0,001<br>6,356 | 0,414<br>2,527  | <0,001<br>7,044 | ≈1,000<br>1,010 | ≈1,000<br>0,910 | ≈1,000<br>1,176 |                 |                 |
| 100 / 100 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;;198Y/+ (8)<br><b>R:360,61</b>  | <0,001<br>5,168 | ≈1,000<br>1,377 | <0,001<br>5,863 | 0,996<br>2,202  | ≈1,000<br>2,097 | 0,145<br>2,876  | ≈1,000<br>1,182 |                 |
| 112 / 112 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> SD3282 <sup>#23</sup> /Y;;mb247/+ (9)<br><b>R:389,62</b>  | <0,001<br>5,099 | ≈1,000<br>1,276 | <0,001<br>5,799 | 0,699<br>2,338  | 0,925<br>2,231  | 0,093<br>3,013  | ≈1,000<br>1,308 | ≈1,000<br>0,115 |



Tab.A27: Statistik für Abb.43

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(5, N = 646) = 226,5474$   $p = 0,000$ .

| N / n     | Detour   | 1               | 2               | 3                | 4               | 5              |
|-----------|--|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|
| 140 / 140 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;+/+ (x O-R) (1)<br><b>R:377,48</b>             |                 |                 |                  |                 |                |
| 93 / 93   | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;RanGAP/+ (2)<br><b>R:301,09</b>                | 0,033<br>3,059  |                 |                  |                 |                |
| 94 / 94   | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;ssh <sup>1-63</sup> /+ (3)<br><b>R:134,72</b>  | <0,001<br>9,754 | <0,001<br>6,095 |                  |                 |                |
| 100 / 100 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;tsr <sup>N121</sup> /+ (4)<br><b>R:220,21</b>  | <0,001<br>6,436 | 0,039<br>3,009  | 0,021<br>3,188   |                 |                |
| 107 / 107 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;chic <sup>1320</sup> /+ (5)<br><b>R:459,94</b> | 0,009<br>3,441  | <0,001<br>6,004 | <0,001<br>12,327 | <0,001<br>9,235 |                |
| 112 / 112 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;RanGEF/+ (6)<br><b>R:394,96</b>                | ≈1,000<br>0,739 | 0,005<br>3,585  | <0,001<br>9,968  | <0,001<br>6,806 | 0,150<br>2,576 |

Tab.A28: Statistik für Abb.44

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(5, N = 68) = 15,636$   $p = 0,0080$ .

| N / n    | Detour   | 1               | 2               | 3               | 4              | 5               |
|----------|--|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| 10 / 110 | O-R (1)<br><b>R:50,500</b>   |                 |                 |                 |                |                 |
| 11 / 110 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;+/+ (O-R) (2)<br><b>R:24,273</b>               | 0,036<br>3,036  |                 |                 |                |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;RanGAP/+ (3)<br><b>R:32,042</b>                | 0,439<br>2,180  | ≈1,000<br>0,941 |                 |                |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;chic <sup>1320</sup> /+ (4)<br><b>R:44,500</b> | ≈1,000<br>0,709 | 0,214<br>2,451  | ≈1,000<br>1,543 |                |                 |
| 11 / 110 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;tsr <sup>N121</sup> /+ (5)<br><b>R:29,182</b>  | 0,204<br>2,467  | ≈1,000<br>0,582 | ≈1,000<br>0,346 | 0,952<br>1,856 |                 |
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;ssh <sup>1-63</sup> /+ (6)<br><b>R:27,875</b>  | 0,113<br>2,672  | ≈1,000<br>0,436 | ≈1,000<br>0,516 | 0,592<br>2,059 | ≈1,000<br>0,158 |

Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.43 mittels des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| N / n    | Detour  | p      | T      | pKS    |
|----------|---|--------|--------|--------|
| 12 / 120 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;+/+ (O-R) II vs. <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ; <i>chic</i> <sup>1320</sup> /+ II | <0,001 | 91,500 | <0,050 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour   | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|--|--------|--------------------|--------|----|
| O-R vs. 58%  | 0,004  | sign-test          | <0,050 | 10 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;+/+ (O-R) vs. 58%                          | 0,522  | one-sample-t-test  | 0,064  | 11 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ; <i>RanGAP</i> /+ vs. 58%                  | 0,150  | one-sample-t-test  | 0,498  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ; <i>chic</i> <sup>1320</sup> /+ vs. 58%    | 0,004  | one-sample-t-test  | 0,455  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ; <i>tsr</i> <sup>N121</sup> /+ vs. 58%     | 0,071  | one-sample-t-test  | 0,217  | 11 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ; <i>ssh</i> <sup>1-63</sup> /+ vs. 58%     | 0,198  | one-sample-t-test  | 0,158  | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;+/+ (O-R) II vs. 58%                       | 0,386  | sign-test          | <0,050 | 12 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ; <i>chic</i> <sup>1320</sup> /+ II vs. 58% | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,455  | 12 |

Tab.A29: Statistik für Abb.49

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test:  $H(3, N = 64) = 15,667$   $p = 0,0013$ .

| N / n    | Detour   | 1              | 2               | 3               |
|----------|--|----------------|-----------------|-----------------|
| 16 / 160 | C-S (1)<br>R:47,875  |                |                 |                 |
| 16 / 160 | X/ <i>Y</i> ;; <i>sp</i> <sup>2</sup> <i>bs</i> <sup>2</sup> /+ (C-S) (2)<br>R:28,813                    | 0,023<br>2,896 |                 |                 |
| 16 / 160 | X/ <i>Y</i> ;; <i>bs</i> <sup>1348</sup> /+ (C-S) (3)<br>R:28,375  | 0,018<br>2,962 | ≈1,000<br>0,066 |                 |
| 16 / 160 | X/ <i>Y</i> ;; <i>sp</i> <sup>2</sup> <i>bs</i> <sup>2</sup> / <i>bs</i> <sup>1348</sup> (4)<br>R:24,938 | 0,003<br>3,484 | ≈1,000<br>0,589 | ≈1,000<br>0,522 |

Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.49 mittels des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| N / n    | Detour  | p     | T       | pKS    |
|----------|---|-------|---------|--------|
| 16 / 160 | X/Y;bs <sup>2</sup> /II;c232/TM3,Sb vs. X/Y;bs <sup>2</sup> /II;c232/UAS-bs | 0,025 | 322,500 | <0,050 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour   | p      | Statistischer Test | p SW   | N1 |
|--|--------|--------------------|--------|----|
| C-S vs. 58%  | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,253  | 16 |
| X/Y;;sp <sup>2</sup> bs <sup>2</sup> /+ (C-S) vs. 58%            | 0,075  | one-sample-t-test  | 0,180  | 16 |
| X/Y;;bs <sup>1348</sup> /+ (C-S) vs. 58%                         | 0,123  | one-sample-t-test  | 0,414  | 16 |
| X/Y;;sp <sup>2</sup> bs <sup>2</sup> /bs <sup>1348</sup> vs. 58% | 0,224  | one-sample-t-test  | 0,205  | 16 |
| X/Y;bs <sup>2</sup> /II;c232/TM3,Sb vs. 58%                      | 0,184  | one-sample-t-test  | 0,394  | 16 |
| X/Y;bs <sup>2</sup> /II;c232/UAS-bs vs. 58%                      | 0,001  | sign-test          | <0,050 | 16 |
| ebo <sup>678</sup> /Y;189Y/II;UAS-bs/III vs. 58%                 | 0,200  | one-sample-t-test  | 0,064  | 16 |
| ebo <sup>678</sup> /Y;;c232/UAS-bs vs. 58%                       | 0,861  | one-sample-t-test  | 0,255  | 16 |

Tab.A30: Statistik für Abb.50

p-Werte (Post-hoc-korrigierte-Wahrscheinlichkeiten; obere Zeile) und z'-Werte (untere Zeile) des Mehrfachvergleichstests (zweiseitig), Kruskal-Wallis-Test: H (4, N = 74) = 18,973 p = 0,0008.

| N / n    | Detour   | 1               | 2               | 3               | 4               |
|----------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 16 / 160 | C-S (1)<br>R:49,438  |                 |                 |                 |                 |
| 14 / 140 | ebo <sup>678</sup> /X (C-S) (2)<br>R:43,857                  | ≈1,000<br>0,709 |                 |                 |                 |
| 14 / 140 | X/X;;Mrtf <sup>D7</sup> /+ (C-S) (3)<br>R:42,036             | ≈1,000<br>0,940 | ≈1,000<br>0,224 |                 |                 |
| 16 / 160 | X/Y;;Mrtf <sup>D7</sup> /Mrtf <sup>D7</sup> (4)<br>R:31,875  | 0,209<br>2,310  | ≈1,000<br>1,522 | ≈1,000<br>1,291 |                 |
| 14 / 140 | ebo <sup>678</sup> /X;;Mrtf <sup>D7</sup> /+ (5)<br>R:19,393 | 0,001<br>3,817  | 0,026<br>3,010  | 0,053<br>2,786  | ≈1,000<br>1,586 |

Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.50 mittels des Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| N / n    | Detour   | p     | T       | pKS    |
|----------|--|-------|---------|--------|
| 13 / 130 | <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;189 <i>Y</i> /+;UAS- <i>Mrtf</i> /+ vs. <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;189 <i>Y</i> /+;TM3,Sb/+ | 0,522 | 163,000 | <0,050 |

Vergleich zum Zufallsniveau (58%) mittels des One-Sample-t-Tests und Sign-Tests. Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests.

| Detour  | p      | Statistischer Test   | p SW   | N1 |
|---|--------|--|--------|----|
| C-S vs. 58%   | <0,001 | one-sample-t-test  | 0,253  | 16 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>X</i> (C-S) vs. 58%                                | <0,001 | sign-test  | <0,050 | 14 |
| <i>X</i> / <i>X</i> :: <i>Mrtf</i> <sup>D7</sup> /+ (C-S) vs. 58%                 | <0,001 | sign-test  | <0,050 | 14 |
| <i>X</i> / <i>Y</i> :: <i>Mrtf</i> <sup>AΔ7</sup> / <i>Mrtf</i> <sup>AΔ7</sup>    | 0,005  | <i>X</i> / <i>Y</i> :: <i>Mrtf</i> <sup>AΔ7</sup> / <i>Mrtf</i> <sup>AΔ7</sup> | <0,050 | 16 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>X</i> :: <i>Mrtf</i> <sup>D7</sup> /+ vs. 58%      | 0,536  | one-sample-t-test  | 0,229  | 14 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;189 <i>Y</i> /+;UAS- <i>Mrtf</i> /+ vs. 58% | 0,484  | one-sample-t-test  | 0,314  | 13 |
| <i>ebo</i> <sup>678</sup> / <i>Y</i> ;189 <i>Y</i> /+;TM3,Sb/+ vs. 58%            | 0,151  | one-sample-t-test  | 0,139  | 13 |

Tab.A31: Paarweiser Vergleich für die medianen Daten aus Abb.A1 mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben und Mann-Whitney-Rank-Sum-Tests; Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-test (KS). Es musste nicht auf Mehrfachtestung korrigiert werden, da alle Genotypen parallel zueinander gemessen wurden (s. 2.5.).

| <b>Distance</b>                   | <b>p</b> | <b>t</b> | <b>T</b> | <b>p KS</b> | <b>N1</b> | <b>N2</b> |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|-------------|-----------|-----------|
| <i>X/Y;;FR/FR</i> vs. C-S         | 0,002    | -3,567   | -        | 0,051       | 12        | 12        |
| <i>X/Y;;DmsR-2/DmsR-2</i> vs. C-S | 0,002    | 3,603    | -        | 0,229       | 12        | 12        |
| <b>Walking speed</b>              |          |          |          |             |           |           |
| <i>X/Y;;FR/FR</i> vs. C-S         | 0,108    | -        | 101,500  | 0,734       | 12        | 12        |
| <i>X/Y;;DmsR-2/DmsR-2</i> vs. C-S | 0,007    | 2,997    | -        | 0,404       | 12        | 12        |
| <b>Activity</b>                   |          |          |          |             |           |           |
| <i>X/Y;;FR/FR</i> vs. C-S         | 0,003    | -        | 80,000   | <0,050      | 12        | 12        |
| <i>X/Y;;DmsR-2/DmsR-2</i> vs. C-S | 0,005    | 3,183    | -        | 0,398       | 12        | 12        |
| <b>Orientation</b>                | <b>p</b> | <b>t</b> | <b>T</b> | <b>p KS</b> | <b>N1</b> | <b>N2</b> |
| <i>X/Y;;FR/FR</i> vs. C-S         | <0,001   | 5,876    | -        | 0,862       | 12        | 12        |
| <i>X/Y;;DmsR-2/DmsR-2</i> vs. C-S | <0,001   | -7,582   | -        | 0,143       | 12        | 12        |