

# Die Farbe von Fliegen und ihr Sehvermögen

## Tan und Ebony als funktionale Gegenspieler in *Drosophila*

Der Lauf der Evolution führt oftmals dazu, dass ein und derselbe enzymatische Mechanismus in verschiedenen Stadien der Entwicklung benutzt wird. Das Proteinpaar Ebony/Tan aus der Taufliege *Drosophila melanogaster* wird dabei sogar für völlig unterschiedliche physiologische Funktionen eingesetzt. So ist dieses an der Ausbildung der Körperhülle beteiligt, gleichzeitig ermöglichen dieselben Enzyme beim Sehvorgang auch den essentiellen Kreislauf des Neurotransmitters Histamin.

Die Ausbildung charakteristischer Muster aus hellen und dunklen Pigmentbereichen in der Körperhülle von *Drosophila melanogaster* hat wichtige biochemische Schritte gemeinsam mit der Wahrnehmung von Lichtreizen im visuellen System der Tiere. Auf verblüffend ökonomische Art bedient sich die Natur nämlich in beiden Fällen der enzymatischen Fähigkeiten des Proteinpaars Ebony/Tan. Zwar ist eine Mehrfachverwendung von Genprodukten in verschiedenen Entwicklungsphasen eines Lebewesens oft zu beobachten, dabei wird aber üblicherweise stets dieselbe physiologische Funktion bedient.

Im Fall der Genprodukte von *ebony* und *tan* hingegen setzen die Enzyme je nach Zeitpunkt und Ort ihres Vorkommens unterschiedliche Substrate um, die in den so grundlegend verschiedenen Prozessen der Neurotransmission im visuellen System und der Pigmentierung eine wichtige Rolle spielen.

### Gesteuerte Pigmentierung

Bereits beim Betrachten der Fliegen mit dem bloßen Auge macht sich das Fehlen eines der Enzyme bemerkbar. So haben *ebony*-Mutanten eine komplett ebholzschwarze Kutikula, während *tan*-Mutanten deutlich heller gefärbt sind als normale *Drosophila* (Abb. 1). Diese wechselseitigen Effekte liegen in einer fehlerhaften Ausbildung der verschiedenen Pigmentierungsbereiche in der Körperhülle begründet. Tan und Ebony nehmen in der Melanin- und Sklerotinbiosynthese eine zentrale regulierende Rolle ein, indem sie das korrekte Verhältnis zwischen Dopamin und N- $\beta$ -Alanyldopamin (NBAD) einstellen (Abb. 2). Die biochemische Charakterisierung des Ebony Proteins zeigte, dass es als N- $\beta$ -Alanylamin Synthetase in der Lage ist, verschiedene biogene Amine wie Dopamin, aber auch Histamin und einige andere, mit der Aminosäure  $\beta$ -Alanin kovalent zu verknüpfen [1]. Die Existenz eines reziprok agierenden Enzyms Tan wurde zwar schon lange aufgrund verschiedener Indizien gefordert, die Identität des entsprechenden Gens *tan* konnte jedoch erst vor kurzem geklärt und damit auch die Charakterisierung der enzymatischen Fähigkeiten von Tan begonnen werden. In diesen Untersuchungen stellte sich dann heraus, dass Tan in der Lage ist, als Hydrolase die kovalente Bindung zwischen  $\beta$ -Alanin und Dopamin oder Histamin unter Freisetzung der Amine zu lösen [2].



Prof. Dr. Bernhard Hovemann, Arbeitsgruppenleiter, Ruhr-Universität Bochum



Dipl.-Chem. Tobias Kemme, Wissenschaftl. Mitarbeiter, Ruhr-Universität Bochum

Mit diesem Regulationsmechanismus und der Aktivität des Enzyms Dopa-Decarboxylase (DDC) entstehen dann über Zwischenschritte in einem genau festgelegten räumlichen Muster die unterschiedlichen Pigmentprodukte. Ist das regulierende Tandem aus Ebony und Tan nun gestört, so wird ein Zweig dieses Biosynthesekomplexes stärker bedient. Fliegen mit fehlendem Ebony weisen dann einen erhöhten Level an Dopamin auf, der über eine noch nicht bekannte Beeinflussung des Dopa-Levels eine verstärkte Bildung des dunklen Pigments Dopa-Melanin bewirkt. Genau umgekehrt stellt sich die Situation in *tan* Mutanten dar. Dort ist das Gleichgewicht durch die fehlende Hydrolasefunktion auf die Seite des NBAD verschoben und es kommt zur vermehrten Bildung des gelblich/hellbraun gefärbten NBAD-Sklerotins und damit einer helleren Färbung der Kutikula in den adulten Fliegen.

### Histamin als Botenstoff im visuellen System

Bei *tan* und *ebony* Mutanten ist aber nicht nur die Kutikulaausbildung beeinträchtigt, sondern die Fliegen weisen auch einen Defekt in der visuellen Signaltransduktionskaskade auf. Verblüffenderweise spielt der Reaktionspartner Dopamin aber im optischen System von *Drosophila* überhaupt keine direkte Rolle – das Tandem aus Ebony und Tan übernimmt hier eine ganz andere Aufgabe.

Zur physikalischen Umsetzung von Photonen in elektrische Reize bildet die





Abb. 1: Unterschiedliche Färbung der Kutikula bei (A) *tan*, (B) Wildtyp und (C) *ebony* Fliegen

Taufliege das auch von Vertebraten bekannte Rhodopsin in ihren Photorezeptorneuronen. Diese sind in der hochsymmetrisch aufgebauten Retina in etwa 800 säulenartigen Ommatidien zu je acht Zellen gebündelt. Sechs von diesen Zellen, R1 bis R6, projizieren in die Lamina als erstem optischem Neuropil und bilden dort sogenannte Cartridges, in denen ihre Axone mit den Dendriten der nachgeschalteten Laminaneuronen synaptische Verbindungen ausbilden. Die Zellen R7 und R8 hingegen durchziehen die Lamina und bilden vergleichbare synaptische Kontakte im darunter liegenden Neuropil, der Medulla, aus.

An diesen Verschaltungsstellen fungiert das biogene Amin Histamin als chemischer Neurotransmitter, der aufgrund von Lichtreizen von den Photorezeptorneuronen ausgeschüttet wird und auf postsynaptisch lokalisierte Chlorid-Kanäle wirkt. Die Aktivierung dieser Kanäle durch tonisch freigesetztes Histamin bewirkt eine Inhibition der Postsynapse – ein Absinken der Histaminkonzentration bei Lichtreduktion führt hingegen zu einer Depolarisierung der Postsynapse und bewirkt dadurch eine Weiterleitung des Signals zu den höheren Gehirnregionen [3].

### Leistungsfähige Signalverarbeitung

Fliegende Insekten haben mit ihren Augen ein System entwickelt, um effektiv Informationen aus der Umgebung aufnehmen zu können. Um eine möglichst hohe Sensitivität der Wahrnehmung über eine sehr breite Spanne an Lichtintensitäten zu erreichen, wird Histamin an den Synapsen der Photorezeptoren kontinuierlich ausgeschüttet. Eine Adaptation auf den jeweiligen Helligkeitsgrad der Umgebung erlaubt dann, dass schon bei geringen Änderungen der Lichtintensität ein elektrischer Impuls ausgelöst werden kann. Für eine gleichzeitig hohe zeitliche Signalauflösung ist es dann aber notwendig, dass der ausgeschüttete Transmitter möglichst schnell wieder aus dem synaptischen Spalt entfernt wird. Dies geschieht nach unseren Vorstellungen durch einen Transport des Histamins in die Gliazellen, die den synaptischen Spalt

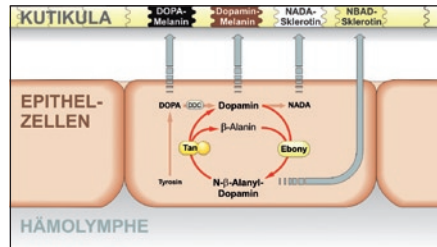


Abb. 2: Steuerung der Melanin- und Sklerotinbiosynthese  
In den Epithelzellen entstehen über den Tyrosinmetabolismus DOPA und Dopamin. Das Gleichgewicht zwischen Dopamin und N-β-Alanyl-Dopamin wird von Tan und Ebony reguliert. Der Farbton der gebildeten Pigmente ist durch die jeweiligen Kästen symbolisiert. NADA: N-Acetyl-Dopamin. (Modifiziert nach [2].)

unmittelbar umhüllen und in denen das Ebony Protein lokalisiert werden konnte [1]. Dort könnte Histamin dann durch die chemische Modifikation mit β-Alanin in eine inaktive Transportform überführt werden, die – auf bisher unbekanntem Wege – zurück in die Photorezeptorzellen gebracht werden kann (Abb. 3).

Die nachgewiesene Hydrolaseaktivität von Tan zusammen mit ersten Ergebnissen zu dessen genauer zellulärer Lokalisation (unveröffentl. Ergebnisse) unterstützen das Modell, nach dem N-β-Alanylhistamin in den Photorezeptorzellen wieder in freies Histamin gespalten wird. Dieses stünde dann für eine Neubeladung synaptischer Vesikel zur Verfügung. Ein solcher Recyclingmechanismus macht energetisch Sinn, da die Umsatzraten einer Neusynthese von Histamin zu gering sind, um den hohen Bedarf an Transmittermolekülen in diesem System stillen zu können.

### Verständnis des Transmitter-Kreislaufs

Unsere Ergebnisse zur Lokalisation und Funktion der beiden Enzyme Ebony und Tan erlauben eine Festigung des bisherigen Modells über den Kreislauf des Histamins im optischen System. Gleichzeitig eröffnen sich jedoch weitere Fragestellungen über die Art und Weise, wie die umgesetzten Moleküle überhaupt in die verschiedenen Zelltypen transportiert

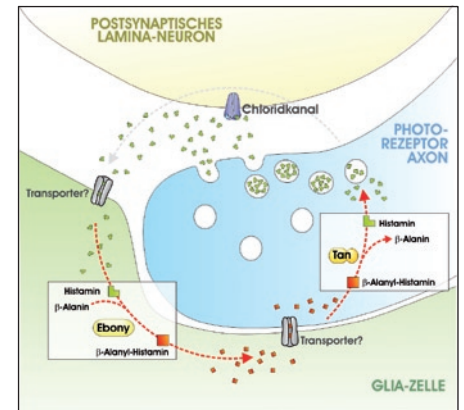


Abb. 3: Kreislaufmodell für den Transmitter Histamin im optischen System  
Histamin wird von den Photorezeptorzellen ausgeschüttet, wirkt auf einen postsynaptischen Chloridkanal und wird dann möglicherweise in die Gliazellen transportiert, wo es von Ebony zu β-Alanyl-Histamin inaktiviert werden könnte. Tan agiert in den Photorezeptorzellen, könnte dort die Rückbildung des Histamins katalysieren und so ein Wiederverpacken in synaptische Vesikel ermöglichen.

werden. Hier müssen spezifische Transportmechanismen über die jeweiligen Membranen gefordert werden, die jedoch noch nicht bekannt sind.

Es bleiben also offene Fragen bis zum vollständigen Verständnis des sehr leistungsfähigen und effektiven Systems der Wahrnehmung und Verarbeitung visueller Reize im Modellsystem *Drosophila*.

### Referenzen

- [1] Richardt A. *et al.*: The Journal of Biological Chemistry, 278 (42), 41160–41166 (2003)
- [2] True J. *et al.*: PLoS Genetics 1(5), e63 (2005)
- [3] Stuart A.E.: Neuron 22(3), 431–433 (1999)

### Kontakt:

Prof. Dr. Bernhard Hovemann  
Dipl.-Chem. Tobias Kemme  
AG Molekulare Zellbiochemie  
Lehrstuhl Biochemie II  
Ruhr-Universität Bochum  
Tel.: 0234/3224235  
Fax: 0234/3214235  
bernhard.hovemann@rub.de  
www.rub.de/ag-hovemann