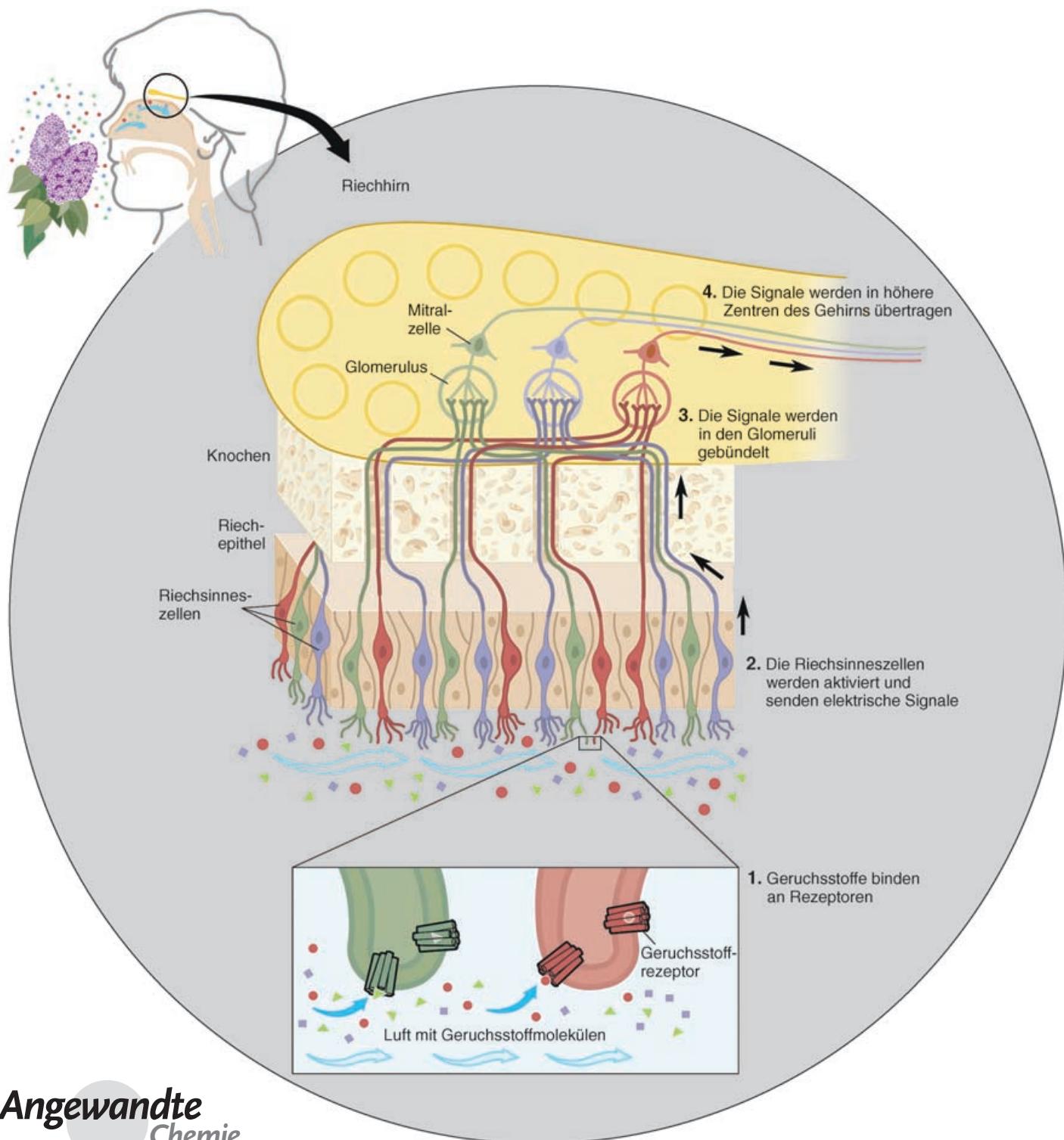




Geruchsstoffrezeptoren und der Aufbau des olfaktorischen Systems



Geruch und Empfindung: eine molekulare Logik der olfaktorischen Wahrnehmung (Nobel-Vortrag)**

Richard Axel*

Stichwörter:

Fluoreszenz · Hirnforschung · Nobel-Vortrag · Rezeptoren · Riechzellen

Aus dem Inhalt

Biographisches	6265
1. Einleitung	6269
2. Die große Familie der Geruchsrezeptorgene	6270
3. Eine topographische Karte im Riechhirn	6271
4. Rezeptorauswahl und die topographische Karte	6272
5. Die einmalige und dauerhafte Rezeptorauswahl	6274
6. Eine geklonte Maus aus einem Riechneuron	6275
7. Der Geruchssinn der Fliege: eine funktionale Karte in den Antennalloben	6276
8. Räumliche Darstellungen und angeborenes Verhalten	6278
9. Wie wird die Karte gelesen?	6279
10. Schlussfolgerungen	6280

Biographisches

New York City ist meine Welt. Ich wurde in Brooklyn als erstes Kind einer Immigrantenfamilie geboren. Die Ausbildung meiner Eltern war durch den Einmarsch der Nazis in Polen unterbrochen worden, und obwohl sie selbst nicht gebildet waren, hielten sie große Stücke auf das Lernen. Ich wuchs auf in einem Heim, das reich an Wärme, aber arm an Büchern, Kunst oder Musik war. Meine Jugendjahre verbrachte ich in den Straßen von Brooklyn. Stickball – Baseball mit einem rosafarbenen Ball und einem Besenstil – und Schulhofbasketball waren meine Kultur. Beim Stickball gewann man ein Single, wenn man mit einem Schlag einen Kanaldeckel erreichte, und einen Home Run, den „Nobelpreis“, wenn man vier Kanaldeckel schaffte. Mein Vater war Schneider. Meine Mutter, obwohl schnell und ausdrucksstark, entwickelte keinerlei intellektuellen Ehrgeiz, und ich dachte nicht im Entferntesten an eine akademische Karriere. Ich war glücklich auf der Straße. Zu dieser Zeit fingen wir relativ jung

an zu arbeiten. Mit elf Jahren lieferte ich als Bote falsche Zähne an Zahnärzte, mit zwölf verlegte ich Teppiche und mit dreizehn servierte ich Corned Beef and Pastrami in einem Feinschmeckerlokal. Vladimir, der russische Küchenchef, war der erste, der mich mit Shakespeare bekannt machte, den er zitierte, während wir Kohlköpfe für Krautsalat schnitten.

Die benachbarte High School hatte das beste Basketballteam in Brooklyn, aber der Direktor meiner Grundschule sah die Sache anders als ich und drängte darauf, dass ich die

[*] Prof. R. Axel
Howard Hughes Medical Institute
Columbia University College of Physicians and Surgeons
New York, NY 10032 (USA)
Fax: (+1) 212-923-7249
E-mail: ra27@columbia.edu

[**] Copyright © Die Nobel-Stiftung 2004. Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Erlaubnis zum Druck einer deutschen Fassung dieses Vortrags.

Stuyvesant High School, weit entfernt in Manhattan, besuchte. Stuyvesant High pries sich selbst als Schule für lernbegabte Jungen an, hatte aber das schlechteste Basketballteam der Stadt. Ich war unglücklich über die Aussicht, diese Schule zu besuchen, schien sie doch so gar nicht meinem Selbstverständnis zu entsprechen. Doch der Eintritt in diese Schule veränderte mein Leben. Ich genoß die Kultur und Ästhetik von Manhattan. Eine Welt der Kunst, Bücher und Musik tat sich vor mir auf, und ich verschlang sie. In der Schule hörte ich zum ersten Mal Stücke aus einer Oper. Ich erinnere mich genau an das Briefduett aus Mozarts *Hochzeit des Figaro*. Am nächsten Abend besuchte ich *Tannhäuser* in der Metropolitan Opera, und so begann eine lebenslange Liebesgeschichte. Zweimal pro Woche stand ich Schlange für Stehplatztickets in der Metropolitan Opera, wo ich von weitaus sachkundigeren Gleichgesinnten die verzwickten Zwischentöne dieses facettenreichen Genres erlernte. Der große italienische Tenor Franco Corelli würde uns Kaffee servieren und die Diva Joan Sutherland würde uns Backstage einladen.



Richard Axel

Andere Tage verbrachte ich im Leseraum der Central New York Public Library in der 42nd Street. Man schreitet zwischen den beiden Löwenskulpturen hindurch, steigt eine Treppe hinauf und betritt einen riesigen Saal mit hoher Decke, in dem eine beeindruckende Stille herrscht. Hier holte ich mit neu entdeckter Begeisterung durch zielloses Lesen nach, was ich in meinen Jugendjahren versäumt hatte. Ich traf auf eine Gemeinschaft von Bibliotheksbewohnern, Männer und Frauen aus New York, die all ihre Tage im Leseraum verbrachten. Ich wusste weder, wer sie waren, noch woher sie kamen, aber ihr Wissen und ihr Verständnis für Literatur erstaunten mich damals wie heute. Das war mein New York – eine Stadt von Kulturbesessenen, die mich in eine neue Welt einführten.

Dieses für einen Schüler extravagante Leben wollte finanziert sein, und so kellnerte ich in den Cafés und Nachtlokalen von Greenwich Village. In den Sechzigern war das Village die Heimat der Beatgeneration, die durch

Musik und Poesie und schließlich durch Protest wichtige Veränderungen in Amerika und weltweit herbeiführte. Die Stuyvesant High School lag am Rand von Greenwich Village und einige Lehrer waren Künstler, Schriftsteller oder Schauspieler. Sie trieben die politisch denkenden Schüler an, die nicht selten Söhne marxistischer Immigranten waren. Mit diesem Aufgebot an Künstlern nährte Stuyvesant meinen neuen, unersättlichen Appetit.

Alte Gewohnheiten legt man schwer ab. Daher spielte ich an der High School weiterhin Basketball, und dies brachte mir eine unvergessliche und ernüchternde Erfahrung ein. Ich lief als Center auf, und der Center des gegnerischen Teams von der Power Memorial High School tapste auf das Spielfeld – ein Schlacks, 7 Fuß 2 Zoll und sechzehn Jahre alt. Bei meinem ersten Ballkontakt streckte er mir seine Hände vors Gesicht, sah mich an und fragte: „Was hast Du hier verloren, Einstein?“ Ziemlich wenig, wie ich zugeben musste. Er erzielte 54 Punkte, ich zwei. Er war Lew Alcindor, später bekannt als Karim Abdul Jabar, und er wurde eine der größten Basketball-Legenden. Ich wurde Neurobiologe.

Meine Entscheidung, in New York zu bleiben und das Columbia College zu besuchen, gibt Aufschluss über den provinziellen, aber liebenswerten Charakter meiner Familie. Mein Vater war enttäuscht darüber, dass ich das Stipendium von Columbia annahm, wo doch jedermann wusste, dass die intelligentesten Kinder der Brooklyn-Immigranten das City College besuchten. Mein erstes Studienjahr verlebte ich völlig unbekümmert. Oper, Kunst, Freiheit und Protest ließen mir wenig Zeit fürs Studium. Im ersten Semester lernte ich Kevin Brownlee kennen, einen Studenten aus Tennessee. Heute lehrt er als Professor für mittelalterliches Französisch an der University of Pennsylvania, und wir sind immer noch befreundet. Brownlee drängte mich dazu, mich wieder ganz dem Lernen zu widmen. Die Künste würden bleiben, meine Zeit an der Columbia University aber war begrenzt. Wieder erschloss sich mir eine neue Welt. Gemeinsam mit Kevin studierte ich leidenschaftlich, wenn nicht besessen. Mein Leben spielte sich in der Columbia Bibliothek ab; in einem kleinen Zimmer, vollgestopft mit Bänden von Keats' Poesie, vergrub ich mich in meine Studien. Der Dichter Kenneth Koch und die Kritiker Lionel Trilling, Moses Hadas und Jacques Barzun machten das Literaturstudium am Columbia College in den Sechzigern zu einem fesselnden Ereignis. Ein glücklicher Zufall führte mich dann allerdings zur Biologie.

Um meinen College-Besuch zu finanzieren, jobbte ich als Glasgerätereiniger im Labor von Bernard Weinstein, einem Medizin-Professor an der Columbia University. Bernie untersuchte die Allgemeingültigkeit des genetischen Codes. Die frühen Sechziger waren die Jahre kurz nach der Aufklärung der DNA-Struktur. Man hatte erkannt, dass die DNA die Quelle aller Informationen ist, der genetische Code war gerade erst entschlüsselt worden, und das zentrale Dogma war komplett. Ich war fasziniert vom neuen Feld der Molekularbiologie und seiner enormen potenziellen Bedeutung. Da mich die Experimente sehr viel mehr interessierten als schmutzige Glaskolben, war ich ein schrecklich schlechter Glasgerätereiniger. Folglich wurde ich in dieser Funktion gefeuert und als Forschungsassistent wieder eingestellt, und

Bernie verbrachte geduldig endlose Stunden damit, einen wissenschaftlich ahnungslosen, aber eifigen jungen Studenten zu unterrichten. Ich war hin und her gerissen zwischen Literatur und Wissenschaft. Zweifelnd an meinen literarischen Ambitionen und fasziniert von der Molekularbiologie entschied ich mich für ein Aufbaustudium in Genetik.

Meine Pläne wurden aber von einem unseligen Krieg durchkreuzt; um meine Zurückstellung vom Militärdienst sicherzustellen, schrieb ich mich trotz einiger Bedenken als Student an der Johns Hopkins University School für Medizin ein. Ich war ein schrecklich schlechter Medizinstudent, denn der ständige Umgang mit Leidenden quälte mich, und ich durfte nicht experimentieren. Das wurde von den Fakultätsmitgliedern und den Dekanen sofort erkannt. Ich hörte selten ein Herzgeräusch, sah niemals die Netzhaut, meine Brille fiel in einen Bauchschnitt und ich nähte beim Schließen eines Schnittes einen Chirurgenfinger an den Patienten an. In dieser Periode der Inkompotenz und des Desinteresses lernte ich Frederick Kass, einen weiteren sehr guten Freund kennen, der heute Professor für Psychiatrie an der Columbia University ist. Fred war ein ungewöhnlicher Medizinstudent, ein Texaner mit einem Kunstgeschichte-Abschluss von Harvard, und ich verstehe mich immer noch gut mit ihm.

In dieser schwierigen Zeit wurde ich von Howard Dintzis, Victor McCusick und Julie Krevins gefördert und beschützt. Diese drei Professoren am Johns Hopkins hatten meinen Konflikt erkannt und respektierten ihn irgendwie. Ohne ihr Zutun wäre ich zweifellos gefeuert worden, aber sie drängten die Dekane, eine Lösung zu finden. Ich musste versprechen, niemals als Arzt an lebenden Patienten zu praktizieren, und durfte vorzeitig als Doktor der Medizin abgehen. Ich kehrte als Assistenzarzt an die Columbia University zurück und hielt mein Versprechen, indem ich Autopsien durchführte. Nach einem Jahr wurde ich von Don King, dem Präsidenten der Pathologie, gebeten, nie wieder an toten Patienten zu praktizieren.

Schließlich bot sich mir die Möglichkeit, mich ernsthaft mit Molekularbiologie zu befassen. Ich trat der Gruppe von Sol Spiegelman am Institut für Genetik an der Columbia University bei. Spiegelman war ein gedrungener, lebhafter Mann, dessen Zunge ebenso scharf war wie sein Verstand. Er synthetisierte als Erster infektiöse RNA *in vitro*, und mit einer Reihe durchdachter Experimente erklärte er daraufhin die Darwinsche Selektion auf Molekülebene im Reagenzglas. Sol erkannte die Bedeutung der frühen RNA-Welt für die Evolution des Lebens; daher hatte er sein Labor kurz zuvor für die Untersuchung von RNA-Tumrviren eingerichtet. Wir verstanden uns sofort, und Sol lehrte mich, wissenschaftlich zu denken, wichtige Probleme zu erkennen und Lösungen dafür zu finden.

Obwohl ich ein wachsendes Zutrauen in meine molekularebiologischen Fähigkeiten verspürte, wusste ich von anderen Bereichen der Biologie kaum etwas, insbesondere von Biophysik. Doch ich hatte schon zu diesem frühen Zeitpunkt meiner Karriere das Gefühl, dass mein Interesse an Biologie umfassend war; was mir fehlte war ein breites biologisches Grundwissen. Daher untersuchte ich als Postdoktorand bei Gary Felsenfeld an den National Institutes of Health (NIH)

DNA- und Chromatinstrukturen. Seit ich Medizin studiert hatte, um der Musterung zu entgehen, hatte ich eine Verpflichtung dem Militär gegenüber. Diese verniedlichend als „gelbes Barett“, bezeichnete Verpflichtung erfüllte ich durch meine Jahre am NIH. Gary war großartig, aber an das NIH, eine Regierungseinrichtung mit festen Arbeitszeiten, konnte ich mich nicht gewöhnen. Als Nachtmensch machte mir dies in mancher Hinsicht zu schaffen: Als ich mittags ankam, waren schon alle Parkplätze besetzt, und dadurch, dass ich erst um Mitternacht ging, kassierte ich einen Strafzettel nach dem anderen. Mitten in einer molekularen Hybridisierungsreaktion wurde ich von zwei FBI-Agenten (das NIH ist eine bundesstaatliche Institution) wegen 100 Strafzetteln verhaftet.

In Felsenfelds Labor untersuchte ich die Rolle von Chromatin bei der Regulierung der Genexpression. Auch hier schloss ich neue Freundschaften, die bis heute andauern. Ich diskutierte mit Tom Maniatis und Harold Weintraub am Strand von Cold Spring Harbor über Chromosomenreplikation und Genexpression, und diese wenigen Stunden genügten, um ein Band aus Respekt vor dem anderen und seiner Denkweise zu knüpfen, das dreißig Jahre bestehen sollte. Hal starb leider vor zehn Jahren an einem Gehirntumor, aber seine Wärme und Kreativität sind unvergessen.

Sol Spiegelman lud mich 1974 ein, als Assistant Professor an das Institute of Cancer Research an die Columbia University zurückzukehren. Ich freute mich sehr darüber, ein Labor mit Büro direkt neben ihm zu belegen. In jenen Jahren empfing Sol viele Besucher, und wenn ein Gespräch ihn langweilte, ging er unter einem Vorwand und versteckte sich in meinem Büro, wo wir wissenschaftliche Fragen diskutierten bis seine Besucher schließlich aufgaben und verschwanden. Ich untersuchte die Struktur der Gene im Chromatin und hatte das große Glück, an einer bahnbrechenden Entwicklung beteiligt zu sein, die durch die rekombinante DNA-Technologie möglich wurde. Ich verbrachte sehr viel Zeit mit Tom Maniatis, einem Wegbereiter vieler rekombinanter DNA-Techniken. Tom verließ Harvard und wechselte ans Caltech, da die Durchführung rekombinanter DNA-Versuche in Cambridge, Massachusetts, eingeschränkt worden war. Wir lernten, DNA zu schneiden und zu verbinden, Gene zu isolieren und ihren Aufbau bis ins kleinste Detail zu analysieren. Um Gensteuerung und Genfunktion aufzuklären, war allerdings eine Funktionsanalyse erforderlich. Wenige Monate nachdem ich 1974 mein eigenes Labor bezogen hatte, entwickelte Michael Wigler, mein erster Student, in Zusammenarbeit mit Professor Sol Silverstein von der Columbia University, neue Methoden zur DNA-vermittelten Transformation von Säugetierzellen. Bereits in diesem frühen Stadium seiner Karriere war Michael in konzeptioneller und technischer Hinsicht großartig, und innerhalb weniger Jahre erfand er Verfahren, die das Einsetzen nahezu jeden Gens in eine beliebige Zellkultur ermöglichten. Er entwickelte ein System, mit dem Gene nicht nur isoliert, sondern auch hinsichtlich ihrer Arbeitsweise detailliert analysiert werden konnten. Wir verfügten nun über ein einfaches Prüfverfahren für die Sequenzen, die Genexpression und Genfunktion regulieren.

Michael wechselte an die Cold Spring Harbor Laboratories und identifizierte gleichzeitig mit Bob Weinberg am MIT das mutierte ras-Gen als Ursache der malignen Transformation in vielen Krebszellen. Meine Gruppe forschte in viele Richtungen; zuerst versuchten wir, die regulatorischen Sequenzen der spezifischen Genexpression zu identifizieren. Zur gleichen Zeit erhielt unsere Gruppe Verstärkung von Dan Littman, der jetzt Professor an der NYU ist. Er interessierte sich für die beiden Moleküle, die die wichtigsten Klassen der T-Zellen charakterisieren, und gemeinsam mit einem Studenten, Paul Maddon, gelang es ihm, den Gentransfer zur Isolierung dieser beiden Moleküle zu nutzen. Wie so oft in der Wissenschaft, vergrößerte ein glücklicher Zufall das Interesse an diesen beiden Molekülen: Wir zeigten, dass einer dieser Rezeptoren, CD4, der hochaffine Rezeptor für HIV ist, der die Anlagerung an Immunzellen und ihre Infektion ermöglicht.

Diese frühen Untersuchungen zu rekombinanter DNA fielen in eine aufregende Zeit, denn sie führten zu einem grundlegenden Umdenken in der Biologie und sie bereiteten den Weg für neue Technologien und einen neuen Industriezweig, die Biotechnologie. Anfangs waren wir als ihre Mitgestalter möglicherweise ein bisschen hochmütig, aggressiv und stolz, und viele haben uns deswegen beschuldigt, „Gott“ zu spielen. Als Beweis notierte die Presse, dass „ich meinem ersten Kind den Namen Adam gab.“

Die rekombinante DNA entfachte einige Streitigkeiten. Es wurde behauptet, dass am Leben herumgefuscht und dadurch das Leben gefährdet werde, und dieser Aufschrei wurde einer der Hauptanklagepunkte gegen die moderne Biologie. Die Experimente lösten endlose Debatten aus, weil schon die Vorstellung an sich beunruhigend ist, dass Gene aus einem Organismus entnommen und in einen anderen eingesetzt werden können. Die Leistungsfähigkeit rekombinanter DNA wurde nicht vorurteilsfrei beurteilt. Man fürchtete, dass Biologen mithilfe von rekombinanter DNA sowohl Individuen als auch die Evolution ganzer Spezies verändern könnten. Diese Kontroverse bestätigt, dass Fortschritte in der Wissenschaft nicht immer Vorteile bringen, sondern manchmal auch Nachteile. Im Fall der rekombinanten DNA sagte Francois Jacob sinngemäß: „Die Apokalypse wurde vorhergesagt, aber nichts geschah.“ Tatsächlich hatte die rekombinante DNA nur positive Effekte. Auf praktischer Ebene ermöglichte uns die Fähigkeit, eukaryotische Gene replizierende Bakterien zu bilden, die Produktion von immer mehr klinisch wichtigen Proteinen. Auf konzeptioneller Ebene lieferte uns das Klonen von Genen einen detaillierten Einblick in den molekularen Aufbau einzelner Gene. Durch die präzise Analyse dieser Gene erfuhren wir ihren Informationsgehalt und die Art und Weise, mit der sie die Eigenschaften eines Organismus festlegen.

Auf persönlicher Ebene führte mich der Aufstieg der Biotechnologie in die Welt außerhalb der Hochschule, und ich lernte, dass Scharfsinn kein Vorrecht der Universitäten ist. Ich traf zwei dynamische Leitfiguren der technologischen Entwicklung, Fred Adler und Joe Pagano, mit denen ich heute noch gut befreundet bin. Ungeachtet unserer ungleichen Werdegänge bleiben wir eng verbunden, und sie faszinieren

mich stets auf Neue, da sich ihr Leben so sehr von dem eines Universitätsprofessors unterscheidet.

1982 begann ich, über mögliche Anwendungen von Molekularbiologie und rekombinanter DNA-Technologie auf neurowissenschaftliche Fragen nachzudenken. Die Molekularbiologie wurde erfunden, um grundlegende Probleme der Genetik auf molekularer Ebene zu lösen. Mit der Entmystifizierung des Gehirns, mit der Erkenntnis, dass der Verstand aus dem Gehirn hervorgeht und dass die Gehirnzellen sehr häufig den gleichen Organisations- und Funktionsprinzipien gehorchen wie ein Bakterium oder eine Leberzelle, könnten Molekularbiologen und Genetiker sich vielleicht der Neurowissenschaft anschließen, um eine Verbindung zwischen Genen und Verhalten, Erkenntnis, Gedächtnis, Gefühlen und Wahrnehmung zu etablieren. Zu dieser Ansicht kamen Eric Kandel und ich während einer Fakultätssitzung, bei der wir unsere Langeweile durch ein wissenschaftliches Gespräch bezwangen. Eric pries wie immer überschwänglich sein jüngstes Ergebnis, eine Korrelation zwischen einer einfachen Form des Gedächtnisses bei der Meeresschnecke *Aplysia* und dem Zellgedächtnis auf der Ebene einer spezifischen Synapse. Auf das Zellgedächtnis waren Molekularbiologen zuvor bei der Steuerung der Genexpression gestoßen. Der Zeitpunkt schien gekommen, molekularbiologische Techniken auf die Gehirnfunktion anzuwenden, und Eric Kandel sollte dabei mein Lehrer sein.

Ein mutiger Postdoktorand, Richard Scheller, jetzt Forschungsleiter bei Genentech, übernahm ein Thema der molekularen Neurobiologie, ohne dass irgendjemand in meiner Arbeitsgruppe Erfahrungen in Neurowissenschaft hatte. Gemeinsam mit Richard und Eric suchten wir die Gene, die angeborene Verhaltensmuster erzeugen. Alle Organismen zeigen angeborene Verhaltensweisen, die durch die Evolution geprägt wurden, über Generationen vererbt werden und trotz Erfahrungen und Lernprozessen weitgehend unverändert bleiben. Die Annahme erschien vernünftig, dass diese angeborenen Verhaltensweisen von Genen diktiert werden, die auf molekulare Klonen ansprechen. Die Untersuchungen waren aufregend und amüsant, wenn man bedenkt, dass ich von Aktionspotentialen etwa so wenig Ahnung hatte wie Kandel vom zentralen Dogma. Richard Scheller identifizierte mithilfe rekombinanter DNA-Techniken eine Genfamilie für einen Satz verwandter Neuropeptide, deren koordinierte Freisetzung wahrscheinlich das Verhaltensmuster bei der Eiablage festlegt. Ein einziges Gen, das ELH-Gen, spezifiziert ein Polyprotein, das in kleine, biologisch aktive Peptide zerfällt wird. Auf diese Weise können Peptide, die von einem einzigen Gen verschlüsselt werden, einzelne Komponenten eines Verhaltensmusters vermitteln.

Es hat großes Vergnügen bereitet, diese Schnittstelle von Molekularbiologie und Neurowissenschaft zu untersuchen. Wichtiger ist noch, dass aus der Zusammenarbeit eine dauerhafte Freundschaft mit Eric Kandel erwuchs, dessen scharfen Verstand, unnachahmliches Lachen und unbegrenzte Energie ich zu schätzen lernte. 1986 gewann die Neurowissenschaft für mich weiter an Bedeutung, als Tom Jessell an die Columbia University kam und ein Labor neben meinem bezog. Da sein Labor erwartungsgemäß noch nicht fertig war,

nahm ich Tom gerne als Gast auf, und es entwickelte sich eine langandauernde wissenschaftliche und persönliche Freundschaft. Jessell, der zu Understatement neigende, ironische Brite mit dem scharfen Verstand, schloss sich mit meinem Mitarbeiter David Julius zusammen, der heute an der University of California in San Francisco lehrt, und gemeinsam ersannen sie einen intelligenten Versuch zur Isolierung von Genen, die Neurotransmitter-Rezeptoren verschlüsselten. Durch diese Versuche, möglicherweise die letzten, die Jessell eigenhändig durchgeführt hat, gelang die Isolierung der Gene des sieben Transmembrandomänen enthaltenden Serotoninrezeptors 5HT1C. Allgemeiner lieferten sie ein Expressionssystem zur Identifizierung funktionsfähiger Rezeptorgene, für das die Proteinsequenz nicht bekannt sein muss. Mit Kandel eine Etage über mir und Jessell direkt neben mir konnte ich der Neurowissenschaft nicht entkommen. Ich war umzingelt, aber ich wollte nicht flüchten, denn ich spürte, dass die Neurowissenschaft eine geeignete Beschäftigung für Molekularbiologen war. Woody Allen, wie ich ein New Yorker, würde es so formulieren: „Das Gehirn ist mein zweitliebstes Organ.“

In den späten 80er Jahren hat mich das Problem der Wahrnehmung beschäftigt: Wie bildet das Gehirn die Außenwelt ab? Die Beobachtung tierischer Verhaltensweisen versetzte mich in Erstaunen. Jeder Organismus nimmt nur einen Teil seiner Umgebung wahr, und worin dieser Teil besteht, kann bei unterschiedlichen Organismen variieren. Das Gehirn speichert demnach kein exaktes Bild der Welt, sondern es erschafft selektiv ein eigenes Bild. Die biologische Realität spiegelt somit die besondere Abbildung der Außenwelt wider, die ein Gehirn aufbauen kann, und für diese Aufgabe benutzt es Gene. Wenn die Gene tatsächlich bestimmen, welchen Teil der Außenwelt wir wahrnehmen, dann sollte die Aufklärung der Genfunktion uns einen Einblick vermitteln, wie die Außenwelt im Gehirn repräsentiert wird. Gemeinsam mit meiner Kollegin Linda Buck untersuchte ich, wie chemische Reize im Gehirn abgebildet werden. Die Aufklärung des Geruchssinns war die perfekte intellektuelle Zielsetzung für einen Molekularbiologen. Wie erkennen wir die unermessliche Vielfalt von Geruchsstoffmolekülen? Wir gingen davon aus, dass daran eine große Genfamilie beteiligt sein müsste, und Linda Buck entwickelte einen kreativen Ansatz, mit dem sie die Gene der Geruchsrezeptoren identifizierte. Sie zeigte mir spät eines Nachts voller Überschwang ihre Versuchsauswertungen, und ich verstummte – was sonst

nicht meine Art ist. Das Erbgut der Ratte enthielt 1000 Geruchsrezeptorgene, die größte Genfamilie im Chromosom, und somit war der Schlüssel für die Erkennung einer Vielfalt von Gerüchen gefunden. Noch bedeutender war, dass die Identifizierung dieser 1000 Gene und deren Expression schon früh eine unvorhergesehene Logik des Geruchssinns offenbarte. Die Verwendung dieser Gene zur Manipulation des Erbguts von Mäusen hat uns in der Folge einen Eindruck vermittelt, wie Gerüche im Gehirn abgebildet werden könnten und wie die Gene unsere Wahrnehmung der Umwelt gestalten. Von diesem Moment an bis heute war es ein Vergnügen, diese Entwicklung zu beobachten.

Für diese Untersuchungen haben Linda Buck und ich den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin verliehen bekommen, der uns mit tiefempfundener Ehre und großem Glück erfüllt. Aber es gibt tiefere, menschlichere Freuden – meine beiden Söhne, Adam und Jonathan, meine Schwester Linda, ein Kreis enger Freunde und eine neue Liebe. Einerseits ist es bewegend, meine Kinder aufwachsen zu sehen und meinen Beitrag dazu zu leisten. Andererseits muss ich ernüchtert eingestehen, wie sehr mich meine intensive Beschäftigung mit der Wissenschaft, die an Besessenheit grenzte, vom Vatersein abgehalten hat. Aber meine Söhne haben sich von unbändigen Teenagern zu anständigen Studenten entwickelt, und es ist äußerst unwahrscheinlich, dass sie eine wissenschaftliche Karriere einschlagen werden. Meine Schwester bleibt ein enges Mitglied unserer zusehends kleiner werdenden Familie. Eine neue Liebe ist in mein Leben getreten: die Verhaltensgenetikerin Cori Bargmann, die heute an der Rockefeller University arbeitet. Hinter ihrem intensiven Engagement für die Wissenschaft verbirgt sich eine Leidenschaft für Bücher, Musik und Kunst. Ich habe viel von ihr gelernt, am wichtigsten aber ist, dass Cori mich gelehrt hat, Wissensdurst mit Menschlichkeit und Wärme zu verbinden.

Der Nobelpreis wurde mir nicht als Mensch, sondern für meine Arbeit zuteil. Dazu haben zahlreiche hervorragende Studenten mit ihren Untersuchungen und meine Kollegen mit scharfsinnigen Anregungen beigetragen. Ich bin ebenfalls stolz auf die wissenschaftlichen Leistungen meiner Gruppe und auf die Forscher, die für mich gearbeitet haben und nun eigenständig zum Verständnis der Biologie beitragen. Deswegen nehme ich den Nobelpreis zu treuen Händen entgegen, stellvertretend für meine Gruppe und die Columbia University, denen ich zu großem Dank verpflichtet bin.

1. Einleitung

Das Gemälde *La Bonne Aventure* des Surrealisten René Magritte stellt keine Nase dar (Abbildung 1), sondern es gibt vielmehr die Abbildung von der Außenwelt im Gehirn des Malers wieder. Dieses Bild verrät die Spannung zwischen Vorstellung und Wirklichkeit, eine stetige Quelle künstlerischer Kreativität, die im Surrealismus ihren Höhepunkt erreichte. Die Abbildung der Außenwelt im Gehirn ist nicht nur ein zentrales Thema in der Kunst, sondern auch die

Kernfrage von Philosophie, Psychologie und Neurowissenschaft. Wir haben untersucht, wie die Sinneswelt im Gehirn abgebildet wird.

Alle Organismen haben einen Mechanismus entwickelt, mit dem sie Sinnesinformationen in der Umwelt erkennen und ins Gehirn weiterleiten, wo dann eine interne Abbildung der Außenwelt erstellt werden muss. Organismen verfügen über zahlreiche Möglichkeiten, mit der Außenwelt in Kontakt zu treten: Einige riechen sie, andere hören sie, viele sehen sie. Jede Spezies lebt so in ihrer eigenen, einzigartigen Sinneswelt,

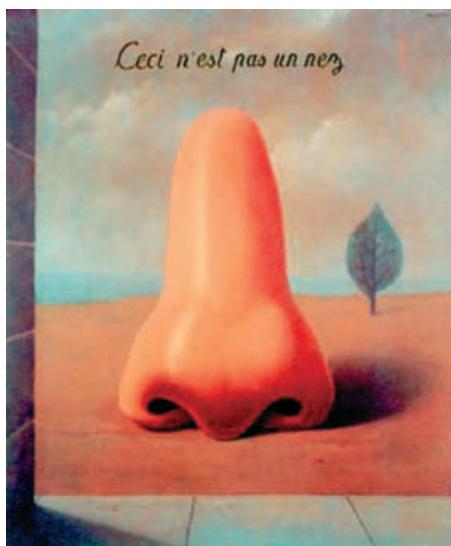


Abbildung 1. Das Gemälde *La Bonne Aventure* („Das schöne Abenteuer“) von René Magritte (1937) zeigt eine monumentale Nase. Ich habe die Überschrift „Ceci n'est pas un nez“ („Dies ist keine Nase“) in Magrittes Handschrift eingefügt, um die Spannung zwischen Bild und Realität zu betonen – ein Konflikt, der vielen seiner Kunstwerke ebenso innewohnt wie der Wahrnehmungswissenschaft.

die anderen Spezies teilweise oder vollständig verschlossen bleibt. So wurde eine Reihe spezifischer Hilfsmittel entwickelt, die dem menschlichen Wahrnehmungsvermögen fremd sind: das Biosonar bei Fledermäusen, Infrarotdetektoren bei Schlangen, elektrische Organe bei Fischen und die Empfindlichkeit für Magnetfelder bei Vögeln. Ein Organismus nimmt lediglich einen Teil seiner Umgebung wahr, und dieser Teil ist bei unterschiedlichen Organismen verschieden. Die Gehirnfunktionen geben die Umwelt daher nicht genau wieder, sondern sie schaffen sich ihr eigenes, selektives Bild – ein Bild, das weitestgehend davon bestimmt wird, was wichtig ist für das Überleben und die Fortpflanzung der Art.

Sinneseindrücke werden folglich durch das jeweilige Gehirn verarbeitet; das Gehirn muss also grundsätzlich über die Möglichkeit verfügen, die Sinneswelt zu erkennen.^[1] Unsere Wahrnehmungen sind keine direkten Aufzeichnungen unserer Umwelt, sie werden vielmehr von uns nach angeborenen Regeln erzeugt. Farben, Klänge, Geschmäcker und Gerüche sind Gebilde, die unser Gehirn aus der Sinneserfahrung heraus aktiv errichtet; außerhalb unserer Sinneserfahrung existieren sie als solche nicht.^[2] Meiner Meinung nach ist die biologische Realität demzufolge gleichbedeutend mit der jeweiligen Abbildung der Außenwelt, die ein Gehirn erstellen kann – und ein Gehirn tut dies mit Genen.

Wenn unsere Gene tatsächlich unsere Wahrnehmung der Außenwelt bestimmen, dann sollte die Kenntnis ihrer Funktion zeigen, auf welche Weise die Außenwelt in unserem Gehirn abgebildet wird. Aber was kann die Molekularbiologie uns über die schwer fassbare Gehirnfunktion der Wahrnehmung verraten? Die Molekularbiologie löst grundlegende Probleme der Genetik auf molekularer Ebene. Durch die Entmystifizierung des Gehirns und die Erkenntnis, dass der Verstand im Gehirn entsteht und die Gehirnzellen häufig die gleichen Organisations- und Funktionsprinzipien einsetzen

wie ein Bakterium oder eine Leberzelle, konnten Molekularbiologie und Genetik sich mit der Neurowissenschaft zusammenschließen, um die Beziehung zwischen Genen und Verhalten, Erkennen, Gedächtnis, Gefühl und Wahrnehmungsfähigkeit aufzuklären.

Warum sollte sich ein Molekularbiologe als Neurowissenschaftler, der sich für das Wahrnehmungsvermögen interessiert, auf den Geruchsinn konzentrieren? Beim Menschen wird der Geruch häufig als ein ästhetischer Sinn angesehen, der bleibende Gedanken und Erinnerungen auslösen kann; doch der Geruch ist der wichtigste Sinn, denn die meisten Organismen erkennen so Nahrung, Feinde und Partner. Über den Geruch als zentrales Sinneselement nehmen die meisten Organismen Kontakt zu ihrer Umgebung auf. Menschen sind weiterhin in der Lage, Hunderttausende verschiedener Gerüche zu erkennen. Der Mechanismus, mit dem ein Organismus die Vielzahl molekularer Strukturen, die Gerüche definieren, unterscheidet, ist ein faszinierendes Problem der molekularen Erkennung und des Wahrnehmungsvermögens. Schließlich führt die Untersuchung der Wahrnehmungsfähigkeit zwangsläufig zu der Frage, wie ein Sinnesreiz letztlich in ein aussagekräftiges Ergebnis auf neuraler Ebene – Gedanken und Verhalten – übersetzt wird. Beim Geruchssinn erfolgt der Sinnesreiz durch Chemikalien mit exakt definierter molekularer Struktur. Diese Art der Eingabe ist bei weitem einfacher als bei einem visuellen Bild, das sich aus Konturen, Strukturen, Farben, Bewegung und Formen von verwirrender Komplexität zusammensetzt. Das Problem der Abbildung ist beim Geruchssinn auf die Frage reduziert, wie definierte chemische Strukturen vom Gehirn erkannt werden.

Linda Buck und ich haben das Thema der Geruchswahrnehmung in zwei Fragen aufgeteilt: Welche Mechanismen wurden zur Erkennung der unermesslich großen Zahl molekularer Strukturen, die Gerüche definieren, entwickelt? Offensichtlich müssen die Sinnesnervenzellen der Nase Rezeptoren enthalten, die Geruchsstoffmoleküle binden können. Verfügen wir über eine relativ kleine Anzahl „primitiver“ Rezeptoren, die jeweils auf viele Geruchsstoffmolekülen ansprechen? Oder läuft die Geruchserkennung über viele „keusche“ Rezeptoren ab, die jeweils nur eine begrenzte Menge von Geruchsstoffmolekülen binden? Die zweite Frage ist konzeptionell sehr viel schwieriger: Wie unterscheidet der Geruchssinn zwischen der Vielzahl von Geruchsstoffmolekülen, die von der Nase erkannt werden? Formulieren wir es einfacher: Woher weiß das Gehirn, was die Nase riecht? Um diese Frage zu beantworten, muss man wissen, wie die verschiedenen Gerüche im Gehirn abgebildet und verschlüsselt werden.

2. Die große Familie der Geruchsrezeptorgene

Wir haben uns der Frage nach der Geruchserkennung direkt genähert, indem wir die Gene zur Verschlüsselung der Geruchsrezeptoren isolierten.^[3] Die Experimente zur Isolierung dieser Gene beruhen auf drei Hypothesen: 1) Die Geruchsrezeptoren gehören wahrscheinlich zur Großfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (G-protein coupled receptors, GPCR), die intrazelluläre Signale durch Kopplung

an GTP-Bindungsproteine übertragen.^[4–7] 2) Die große Bandbreite strukturell unterschiedlicher Geruchsmoleküle lässt vermuten, dass die Geruchsrezeptoren selbst deutliche Unterschiede aufweisen müssen und deswegen wahrscheinlich von einer Multigenfamilie verschlüsselt werden. 3) Die Expression der Geruchsrezeptorgene sollte auf das Riechepithel beschränkt werden. Im Experiment vervielfältigten wir die Mitglieder der GPCR-Genfamilie, die in Riechneuronen exprimiert werden, mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Anschließend untersuchten wir, ob die PCR-Produkte einer großen Multigenfamilie angehören. Dabei erzeugte die Spaltung einer einzelnen PCR-Bande durch ein Restriktionsenzym einen Satz von DNA-Fragmenten, deren summarisches Molekulargewicht deutlich größer war als das des ursprünglichen PCR-Produkts.^[3] Auf diese Weise identifizierten wir eine Multigenfamilie, die eine große Zahl von GPCRs verschlüsselt und deren Expression auf die Riechneuronen beschränkt ist. Später wurde gezeigt, dass die Rezeptoren mit den Geruchsstoffen wechselwirken, wobei die Energie der Geruchsstoffbindung in Änderungen des Membranpotentials übertragen wird.^[8–11]

Die komplette Entschlüsselung des Erbguts von Maus und Mensch hat schließlich 1300 Geruchsrezeptoren bei der Maus^[12,13] und 500 beim Menschen identifiziert.^[14–16] Wenn Mäuse 20000 Gene besitzen, dann verschlüsseln 5% des Erbguts (eines von 20 Genen) die Geruchsrezeptoren. Eine große Familie von Geruchsrezeptoren wurde nicht nur bei den Wirbeltieren, sondern auch in den weitaus einfacheren Sinnessystemen von Wirbellosen beobachtet. Eine etwas kleinere, aber hoch diversifizierte Familie von über 80 Geruchsrezeptorgenen liegt im Erbgut von *Drosophila* vor.^[17–19, 50, 67] Der Wirbellose *C. elegans* mit lediglich 302 Neuronen und 16 Riechneuronen exprimiert über 1000 Geruchsrezeptorgene.^[20,21] Diese Experimente beantworten die erste Frage: Wir erkennen die Vielzahl molekularer Strukturen, die als Gerüche definiert sind, durch eine große Anzahl von Geruchsrezeptoren, die in unserem Erbgut durch Gene verschlüsselt sind.

Die Beobachtung, dass zum Erkennen von Gerüchen mehr als 1000 Rezeptoren benötigt werden, lässt einen konzeptionellen Unterschied zwischen dem Geruchssinn und anderen Sinnen vermuten. Beim Farbensehen unterscheidet der Mensch mithilfe von nur drei verschiedenen Photorezeptoren zwischen über hundert Farbtönen.^[22,23] Diese Photorezeptoren haben unterschiedliche, aber übereinanderliegende Absorptionsspektren. Die Farberkennung wird als Ergebnis eines Vergleichs von Informationen dieser drei Arten von Photorezeptoren angesehen. Wohingegen drei Photorezeptoren Licht des gesamten sichtbaren Spektrums absorbieren, lassen unsere Ergebnisse den Schluss zu, dass eine kleine Anzahl von Geruchsstoffrezeptoren nicht das komplette Spektrum verschiedener Molekülstrukturen abdeckt, die von der Säugetiernase wahrgenommen werden. Vielmehr erfolgt die Geruchswahrnehmung durch eine Vielzahl von Rezeptoren, die jeweils nur wenige Geruchsstoffe als Liganden erkennen.

Die verglichen mit der Rezeptorzahl in anderen Sinnesystemen große Zahl von Geruchsrezeptoren spiegelt vielleicht die Tatsache wider, dass der Reiz beim Sehen und

Hören stufenlos variiert. Bei Farbe ist es ein quantitativer Unterschied eines einzigen Parameters, der Wellenlänge des Lichts. Ebenso stetig ändert sich ein wichtiger Parameter beim Hören, die Schallfrequenz. Die vielfältigen chemischen Strukturen von Geruchsstoffen unterscheiden sich nicht durch die stetige Veränderung eines einzelnen Parameters, und deshalb können sie nicht von wenigen Rezeptoren erfasst werden. Vielmehr erfordert das komplette Spektrum molekularer Strukturen, die vom Geruchssinn wahrgenommen werden, eine Vielzahl von Rezeptoren, die jeweils nur wenige Geruchsstoffe spezifisch als Liganden erkennen.

3. Eine topographische Karte im Riechhirn

Als nächstes wandten wir uns der Frage der Geruchsunterscheidung zu: Woher weiß das Gehirn, was die Nase riecht? Durch die Identifizierung einer großen Familie von Rezeptorgenen war es uns möglich, diese Frage auf molekularer Ebene zu formulieren: Woher weiß das Gehirn, welcher der zahlreichen Rezeptoren von einem bestimmten Geruchsstoff aktiviert wurde? Die Erklärung eines Mechanismus, mit dem das Gehirn die von verschiedenen Geruchsstoffen aktivierten Rezeptorkombinationen erkennt, würde eine Logik der Geruchsunterscheidung liefern. Durch den Beweis, dass jedes einzelne Riechneuron nur eines von 1000 Rezeptorgenen exprimiert, wurde das Problem weiter vereinfacht.^[10,24] Diese Beobachtung resultierte aus Klonierungsversuchen mit cDNA aus einzelnen Neuronen. So konnten wir die Frage, wie das Gehirn feststellt, welcher Rezeptor aktiviert wurde, weiter reduzieren: Woher weiß das Gehirn, welches Neuron von einem bestimmten Geruchsstoff aktiviert wurde? Ebenso wie in anderen Sinnessystemen könnte ein unveränderliches räumliches Muster der Projektionen der Riechneuronen eine topographische Karte der Rezeptoraktivität liefern, die die Qualität eines Reizes festlegt.

In anderen Sinnessystemen erzeugen räumlich getrennte afferente Eingaben von peripheren Sinnesneuronen eine topographische Karte, die den Ausgangspunkt des Reizes in der Umgebung lokalisiert und seine Qualität festlegt. Die Prozesse der Geruchswahrnehmung liefern keine Informationen über die Position der Quelle eines Geruchsreizes. Da es diese Lokalisierungsfunktion nicht ausführt, könnte das olfaktorische System die räumliche Auftrennung einsetzen, um die Qualität eines Geruchs zu definieren. Mein Mitarbeiter Robert Vassar und Kerry Ressler in Linda Bucks Gruppe haben aus diesem Grund das räumliche Muster der Rezeptorgensexpression im Riechepithel mithilfe von In-situ-Hybridisierung untersucht. Dabei beobachteten sie, dass Zellen, die ein bestimmtes Rezeptogen exprimieren, auf einen von vier ausgedehnten, aber getrennten Zonen beschränkt sind.^[25,26] Das Hauptmerkmal bei dieser Ordnung besteht allerdings darin, dass Neuronen, die ein bestimmtes Rezeptogen exprimieren, innerhalb einer Zone nicht in Gruppen angeordnet sind, sondern vielmehr wie zufällig verteilt erscheinen. Bei In-situ-Hybridisierungsexperimenten am Riechhirn, der ersten Anlaufstelle der Riechneuronen im Gehirn, entdeckten sie eine topographische Ordnung:^[27,28] Neuronen, die ein bestimmtes Rezeptogen exprimieren,

projizieren trotz ihrer willkürlichen Position im Riechepithel auf räumlich unveränderliche Glomeruli an bestimmten Stellen im Riechhirn und erzeugen so eine topographische Karte.

Mein Mitarbeiter Peter Mombaerts entwickelte eine genetische Methode, um den Weg der Axone von Riechneuronen, die ein bestimmtes Geruchsrezeptoren exprimieren, zum Gehirn zu visualisieren.^[29] Wir haben Rezeptorgene durch gezielte Mutagenese in der Keimbahn von Mäusen verändert. Diese genetisch veränderten Rezeptorgene verschlüsselten nun eine bicistronische mRNA, die die Translation des Rezeptors zusammen mit tau-lacZ ermöglicht, einer Fusion aus dem Mikrotubuli-assoziierten Protein tau und β-Galactosidase. Bei diesen Mäusen exprimierten die Riechneuronen, die einen bestimmten Rezeptor transkribieren, auch tau-lacZ in ihren Axonen, sodass die Projektionsmuster im Gehirn direkt visualisiert werden konnten (Abbildung 2).

Neuronen, die ein bestimmtes Rezeptogen exprimieren, enden in nur zwei topographisch feststehenden Orten oder Glomeruli; so werden in beiden Riechhirnhälften spiegelbildliche Karten erzeugt. Neuronen, die unterschiedliche Rezeptorgene exprimieren, projizieren auf verschiedene Glomeruli. Die Position der einzelnen Glomeruli ist topographisch definiert und bei allen Individuen einer Spezies gleich (Abbildung 3). Einzelne Geruchsstoffe könnten eine Teilmenge von Rezeptoren aktivieren, die dann im Riechhirn ein spezifisches topographisches Aktivitätsmuster erzeugen würden; so wäre die Qualität eines Geruchsreizes durch ein räumliches Muster der Glomeruliaktivität verschlüsselt.

Die Identifizierung einer anatomischen Karte des Geruchssinns wirft vier Fragen auf. 1) Wie verhält es sich mit der Einzigartigkeit bei der Rezeptorgenauswahl? Welcher Mechanismus stellt sicher, dass ein Sinnesneuron nur einen einzigen Rezeptogen exprimiert und dann präzise zu einem

von 1000 topographisch feststehenden Glomeruli verläuft. 2) Wird die anatomische Karte in eine funktionale Karte übersetzt, sodass unterschiedliche Gerüche verschiedene Aktivitätsmuster auslösen? 3) Besteht eine Verbindung zwischen bestimmten räumlichen Mustern der Glomeruliaktivität und spezifischen Verhaltensweisen? 4) Wie wird die Karte gelesen? Wie ordnet das Gehirn einem Aktivitätsmuster einen bestimmten Geruch zu?

4. Rezeptorauswahl und die topographische Karte

Die topographische Karte des olfaktorischen Systems unterscheidet sich in ihrer Art von den geordneten retinotopischen, tonotopischen oder somatotopischen Sinneskarten, die die periphere Rezeptoranordnung im zentralen Nervensystem (ZNS) in einer Weise abbilden, dass Nachbarschaften in der Peripherie im ZNS konserviert sind (für Übersichten siehe Lit. [30,31]). So kann die Identität peripherer Rezeptorzellen durch ihren Platz in einer Rezeptoranordnung vorherbestimmt werden. Räumliche Muster in der Peripherie geben in diesen Fällen den individuellen Neuronen Lageinformationen vor, die ihre geordnete Abbildung im Gehirn regeln.

Im olfaktorischen System liegen die Rezeptorzellen in der Peripherie dagegen nicht geordnet vor. Neuronen, die einen bestimmten Rezeptor abbilden, sind über eine festgelegte Zone verstreut, und die Ordnung wird erst im Riechhirn hergestellt, indem Neuronen, die ein bestimmtes Rezeptogen exprimieren, an einem Glomerulus gebündelt werden, und so eine topographische Karte erzeugen. Riechneuronen unterscheiden sich voneinander nicht durch ihre Position in einer Rezeptoranordnung, sondern vielmehr durch die Art des Rezeptorgens. Die enge Verflechtung zwischen der

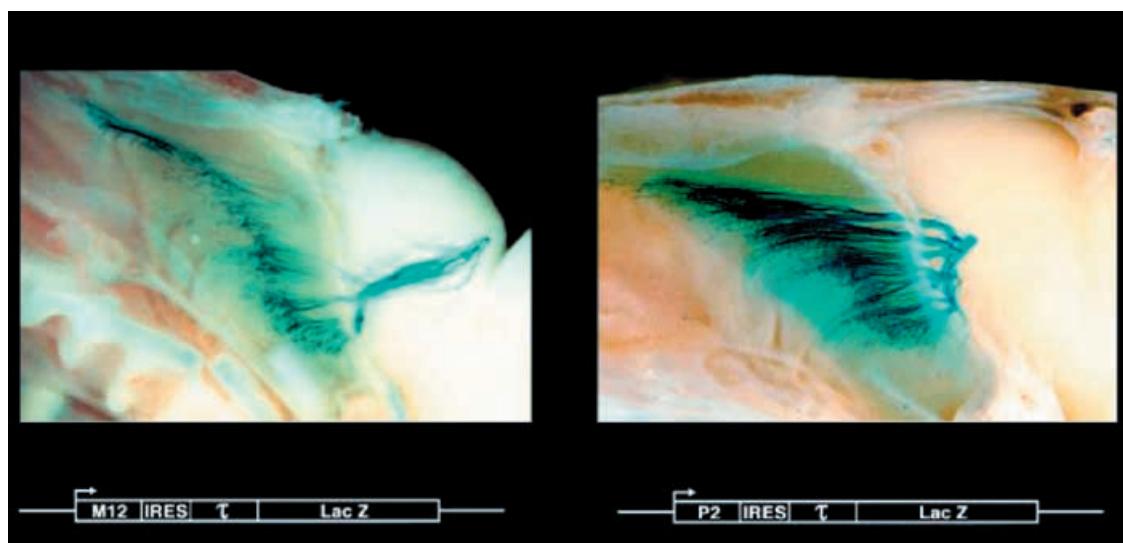


Abbildung 2. Die Konvergenz der Axone von Neuronen, die ein bestimmtes Rezeptogen exprimieren. Geruchsrezeptorgenloci wurden durch homologe Rekombination in ES-Zellen verändert, um Mäusestämme zu erzeugen, bei denen Zellen, die einen bestimmten Rezeptor synthetisieren, auch ein Fusionsprodukt aus dem Mikrotubuli-assoziierten Protein tau und β-Galactosidase produzieren. Die Photos zeigen Neuronen, die entweder das M12- (links) oder das P2-Rezeptogen (rechts) exprimieren, sowie deren Axone, die durch das Siebbein zu einem definierten Ort im Riechhirn verlaufen. Neuronen, die verschiedene Rezeptorgene exprimieren, enden in unterschiedlichen Glomeruli. Die genetischen Veränderungen, die zur koordinierten Expression von Rezeptogenen und tau-lacZ führen, sind unterhalb der Photos zu sehen.

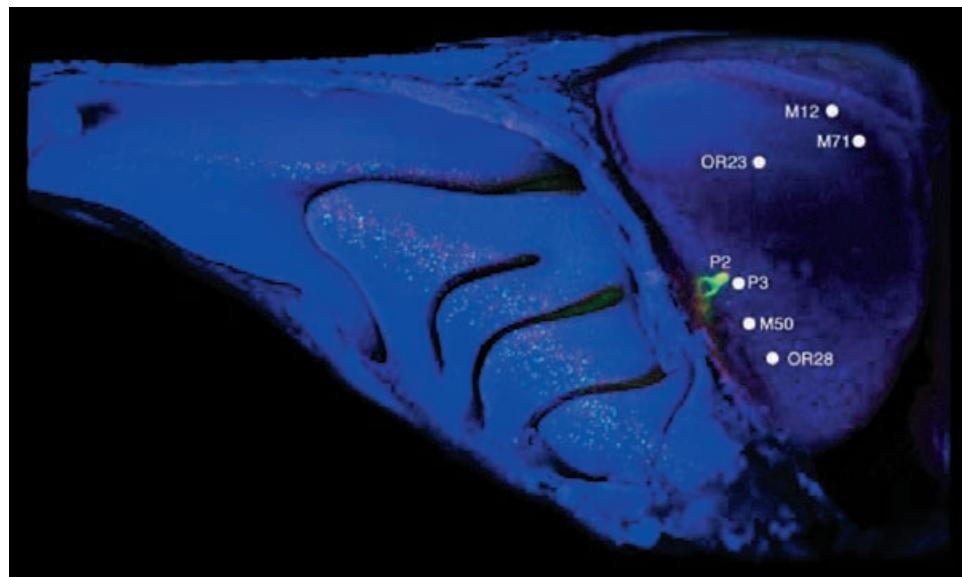


Abbildung 3. Topographische Karte der Axone von Sinneszellen im Riechhirn. Das Bild zeigt Neuronen, die zwei modifizierte P2-Allele exprimieren: P2-IRES-tau-lacZ (rot) oder P2-IRES-GFP (grün). Die Axone dieser Neuronen treffen sich in einem gemeinsamen Glomerulus des Riechhirns. Neuronen, die unterschiedliche Rezeptorgene exprimieren, enden in verschiedenen Glomeruli (schematisch dargestellt). Alle Zellkerne sind mit TOTO-3 blau eingefärbt. Die relativen Positionen der verschiedenen Glomeruli sind bei individuellen Mäusen identisch; dies belegt die Unveränderlichkeit der topographischen Karte im Riechhirn.

Auswahl eines Geruchsrezeptors und dem Ort der Axonkonvergenz lässt auf ein Modell schließen, bei dem der Geruchsrezeptor sowohl in Dendriten vorliegt, wo er in der Peripherie Geruchsstoffe erkennt, als auch in Axonen, wo er die Zielauswahl im Riechhirn bestimmt. Dies würde dem Riechneuron eine eindeutige Identität geben: Sowohl der Geruchsstoff, auf den es anspricht, als auch der Zielglomerulus, in dem sein Axon endet, sind vorgeschrieben. Dient der Geruchsrezeptor auch als Aktivierungsmolekül, so ergeben sich zwei experimentell überprüfbare Voraussagen: Zum einen sollte der Rezeptor sowohl in Axonen als auch in Dendriten vorhanden sein, und zum anderen könnten genetische Veränderungen in der Rezeptorsequenz die topographische Karte verändern.

Die erste Voraussage wurde von Gilad Barnea geprüft, der spezifische Antikörper gegen zwei Geruchsrezeptoren erzeugte und den Ort der Rezeptorgenexpression in Sinnesneuronen untersuchte.^[32] Mit Antikörpern gegen extrazelluläre und cytoplasmatische Epitope der Geruchsrezeptoren MOR28 und MOR11-4 der Maus stellten wir in den dendritischen Verästelungen des Riechepithels, in denen die Geruchsstoffbindung erfolgt, eine intensive Anfärbung fest. Im Riechhirn färbte der Antikörper Axontermini, deren Stränge zu zwei Glomeruli führen (Abbildung 4). Die Anfärbung im Riechhirn von Mäusen, die das Allel MOR28-IRES-tau-lacZ tragen, zeigt deutlich, dass die mit dem Antikörper für MOR28 angefärbten Glomeruli auch die tau-lacZ-Fasern aufnehmen. Somit wurde der Rezeptor sowohl in den Dendriten als auch in den Axonen der Sinnesneuronen nachgewiesen.

In einer zweiten Versuchsreihe lieferte meine Studentin Fan Wang den genetischen Beweis dafür, dass der Rezeptor auf Axonen ein Aktivierungsmolekül ist. Wir modifizierten unseren Gentargeting-Ansatz, um festzustellen, ob die Sub-

stitution der P2-Rezeptor-Codierungssequenz das Projektionsverhalten der Neuronen verändert, die dieses modifizierte Allel exprimieren.^[33] Wir tauschten die Codierungsregion des P2-Gens gegen die Codierungsregionen verschiedener anderer Rezeptoren und untersuchten die Auswirkungen auf die topographische Karte. Die Substitution der Codierungsregion von P2 durch diejenige des Rezeptorgens P3, das homolog zu P2 ist und in der gleichen Epithelregion exprimiert wird, führte zur Projektion von Axonen auf einen anderen Glomerulus, der sich in unmittelbarer Nähe des P3-Glomerulus im Wildtyp befand. Substitutionen, bei denen die P2-Codierungssequenzen durch Rezeptorgensequenzen ersetzt werden, die entweder aus anderen Regionen oder von anderen Chromosomenloci stammen, führten ebenfalls zur Konvergenz an anderen Glomeruli. Zusammen mit neueren Experimenten mit weitreichenderen genetischen Modifikationen^[34,35] stützen diese Beobachtungen die Annahme, dass der Geruchsrezeptor als Komponente des Aktivierungsprozesses eine wichtige Rolle beim Axon-Targeting spielt.

Auf welche Weise beteiligen sich die Geruchsrezeptoren am Aktivierungsprozess? In einem Modell liegt der Geruchsrezeptor gemeinsam mit anderen Aktivierungsrezeptoren am Axon-Terminus vor, wo er Positionssignale des Riechhirns erkennt. Jede der 1000 verschiedenen Arten von Sinnesneuronen wird folglich eine einzigartige Kombination von Aktivierungsrezeptoren enthalten, die jeweils einen Code für einen einzigen Glomerulus definiert. Ein solches Modell impliziert nicht notwendigerweise, dass 1000 verschiedene Signale an bestimmten Stellen des Riechhirns auftreten. Vielmehr könnte eine kleine Zahl abgestufter Signale für die unterschiedliche Aktivierung der verschiedenen Geruchsrezeptoren auf den Axon-Termini sorgen. Auf diese Weise werden die unterschiedlichen Affinitäten einzelner Rezeptoren für eines oder wenige Signale, und möglicherweise die

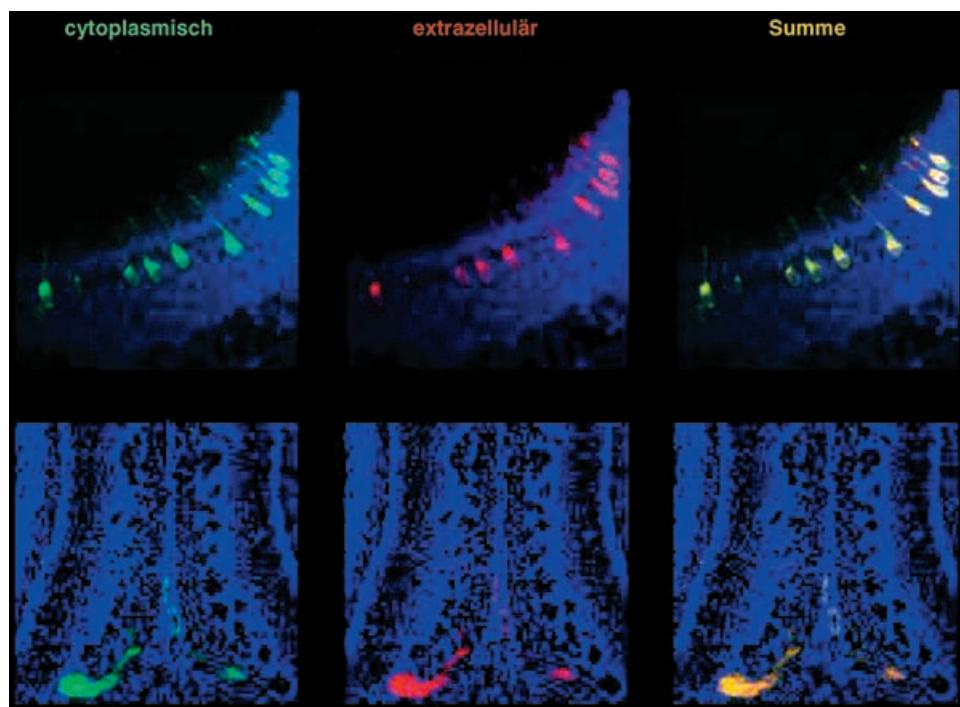


Abbildung 4. Der Geruchsrezeptor liegt sowohl an den Dendriten als auch an den Axonen der Riechneuronen vor. Im Riechepithel (obere Bilder) und Riechhirn (untere Bilder) der Maus wurde der MOR28-Rezeptor mit einem Antikörper an einem cytoplasmatischen (links) oder extrazellulären Epitop (Mitte) angefärbt. Diese Experimente bestätigen, dass Geruchsrezeptoren sowohl im Zellkörper und den Dendriten im Epithel als auch in den Axon-Termini innerhalb eines Glomerulus des Riechhirns vorhanden sind. Die Antikörperanfärbung im Riechhirn zeigt den Ort, an dem die MOR28-Axone konvergieren. Adaptiert mit Erlaubnis aus Lit. [32].

verschiedenen Rezeptorkonzentrationen, die Auswahl des Ziels bestimmen. Ein solches Modell entspricht den Retinotopie-Modellen, bei denen ein Gradient des Aktivierungsrezeptors auf Retina-Axonen zu einem Positionsgradienten der Aktivierungssignale im Tectum führt (für Übersichten siehe Lit. [31]).

5. Die einmalige und dauerhafte Rezeptorauswahl

Wenn ein Geruchsrezeptor die Funktion eines Sinnesneurons und seinen Projektionsort im Gehirn festlegt, dann ist die Expression eines einzelnen Rezeptorgens in einem Neuron ein Hauptmerkmal der Geruchswahrnehmung. Dies wirft sofort die Frage auf, welcher Mechanismus zur Expression eines einzigen Rezeptorgens aus einer Familie von über 1000 Genen entwickelt wurde. Ein Modell zur Kontrolle der Geruchsrezeptorgenexpression sagt die Existenz von 1000 verschiedenen Sinnesneuronen voraus, die jeweils durch eine einzigartige Kombination von Regulatoren dazu gebracht werden, ein anderes Geruchsrezeptorgens auszuwählen. Dieses deterministische Modell besagt, dass alle Geruchsrezeptorgene verschiedene *cis*-regulatorische Sequenzen enthalten, die von einzigartigen Sätzen von Transkriptionsfaktoren erkannt werden. Eine Variante, das stochastische Modell der Rezeptorgenauswahl, geht davon aus, dass alle Geruchsrezeptorgene innerhalb eines Bereichs die gleiche *cis*-regulatorische Information enthalten und von dem gleichen Satz von Transkriptionsfaktoren gesteuert werden. Bei

diesem Modell muss ein spezieller Mechanismus sicherstellen, dass genau ein Rezeptogen exprimiert wird. Sobald ein spezifischer Rezeptor zur Expression ausgewählt wurde, muss darüber hinaus die gewählte Transkription über die gesamte Lebensdauer der Zelle Bestand haben, weil ein Wechsel des Rezeptors nach der Bildung stabiler Synapsen starke Störungen bei der Geruchsunterscheidung hervorrufen würde.

Eine Reihe transgener Experimente, die von Ben Shykind in meiner Arbeitsgruppe sowie von anderen Gruppen ausgeführt wurden, hat den stochastischen Mechanismus der Rezeptorgenauswahl bestätigt.^[36,37] Wir erzeugten Mäuse, bei denen das endogene Allel P2 durch das Allel P2-IRES-tau-lacZ ersetzt war, und setzten ebenfalls ein zufällig integriertes P2-IRES-GFP-Transgen in die Chromosomen dieses Stamms ein. Bei einem deterministischen Modell sollte eine einzigartige Kombination von Transkriptionsfaktoren sowohl das endogene als auch das transgene Allel P2 aktivieren, sodass Zellen, die lacZ des endogenen Allels P2-IRES-tau-lacZ exprimieren, auch das GFP des Transgens P2 exprimieren müssten. Bei der Untersuchung des Riechepithels dieser Mäuse zeigte sich allerdings eine ausschließliche P2-Expression: Zellen, die das endogene Allel P2 exprimieren, exprimieren niemals das Transgen. Bei einem konzeptionell ähnlichen Experiment erzeugten wir transgene Mäuse mit einer integrierten Reihe multipler P2-Transgene, darunter P2-IRES-tau-lacZ und P2-IRES-GFP, am gleichen Chromosomenlocus. Bei diesen Stämmen beobachteten wir eine ausschließliche Transgenexpression: Neuronen, die das Transgen P2-IRES-tau-lacZ exprimieren, exprimieren nicht das ange-

bundene Gen P2-IRES-GFP. Diese Experimente stützen ein Modell, in dem die Rezeptorauswahl nicht deterministisch, sondern vielmehr stochastisch ist.

Sobald ein bestimmtes Rezeptorgen zur Expression ausgewählt wurde, muss diese Transkription während der Lebensdauer der Zelle Bestand haben, weil ein Wechsel des Rezeptors nach der Bildung stabiler Synapsen starke Störungen bei der Geruchsunterscheidung hervorrufen würde. Kürzlich entwickelte mein Mitarbeiter Ben Shykind zusammen mit den Gruppen um Randall Reed und Hitoshi Sakano genetische Strategien, um die Stabilität der Rezeptorauswahl zu prüfen.^[38–40] Wir verfolgten mithilfe eines Markers das Verhalten von Sinnesneuronen, die entweder ein intaktes oder ein infolge Deletion nichtfunktionales MOR28-Gen exprimieren. Vollentwickelte Neuronen, die ein intaktes MOR28-Rezeptorgen exprimieren, aber noch keine stabilen Synapsen im Gehirn gebildet haben, können den Rezeptor wechseln, wenn auch nur langsam. Solche Wechsel sind eine Eigenart der Rezeptorgenauswahl im Wildtyp. Neuronen, die zunächst ein mutiertes MOR28-Rezeptorgen exprimieren, wechseln schnell zur Expression anderer Rezeptorgene, sodass jedes Neuron nur ein bestimmtes Rezeptorgen stabil transkribiert. Diese Beobachtungen lassen einen Mechanismus der Rezeptorgenauswahl vermuten, bei dem eine Zelle nur ein Rezeptorallel auswählt, aber langsam wechselt kann. Die Expression eines Gens für einen funktionsfähigen Rezeptor würde dabei ein Signal auslösen, das den Wechsel unterdrückt und die Geruchsrezeptorauswahl stabilisiert. Neuronen, die zunächst ein mutiertes Rezeptorgen exprimieren, erhalten kein solches Signal und wechseln die Gene, bis

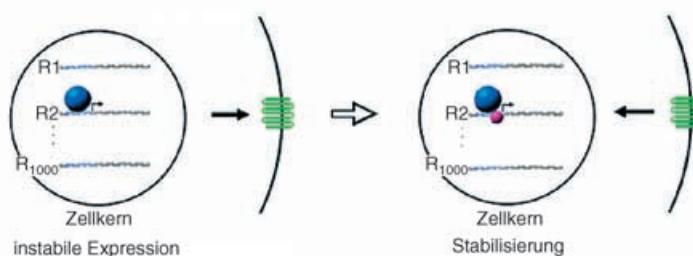
sie sich auf das Gen eines funktionsfähigen Rezeptors festlegen (Abbildung 5).

Das Erbgut der Maus enthält 340 Geruchsrezeptor-Pseudogene, wohingegen das menschliche Erbgut 550 Pseudogene enthält, von denen einige weiterhin transkribiert werden.^[12, 16] Die Expression eines Pseudogens würde Sinnesneuronen erzeugen, die unfähig zur Geruchserkennung sind. Ein Mechanismus, der einen Wechsel ermöglicht, löst das Problem der Pseudogene: So steht eine alternative Transkriptionsmöglichkeit zur Verfügung, falls Pseudogene ausgewählt werden, und jedes Neuron kann ein Gen für einen funktionsfähigen Rezeptor exprimieren. Durch dieses Serienmonogamie-Modell ist sichergestellt, dass jedes Neuron über seine gesamte Lebensdauer nur einen einzigen Rezeptor synthetisiert. Die Rückkopplung, die bei Expression des Gens eines funktionsfähigen Geruchsrezeptors den Wechsel zu anderen Geruchsrezeptoren verbietet, erinnert an das Prinzip des Allelauschlusses bei T- und B-Lymphozyten.

6. Eine geklonte Maus aus einem Riechneuron

Welcher Mechanismus steuert, dass ein einzelnes Rezeptorgen stochastisch in einem Sinnesneuron ausgewählt wird? Ein Modell postuliert die DNA-Rekombination von Geruchsrezeptorgenen an einem einzigen aktiven Expressionsort im Chromosom. Die DNA-Rekombination stattet *Saccharomyces cerevisiae*,^[41] Trypanosomen^[42] und Lymphozyten^[43] mit einem Mechanismus aus, um ein stochastisch ausgewähltes Mitglied eines Gensatzes, der Wechselwirkun-

A Auswahl eines funktionsfähigen Rezeptors führt zu Stabilisierung durch Rückkopplung:



B Auswahl eines nicht funktionsfähigen Rezeptors führt zum Wechsel:

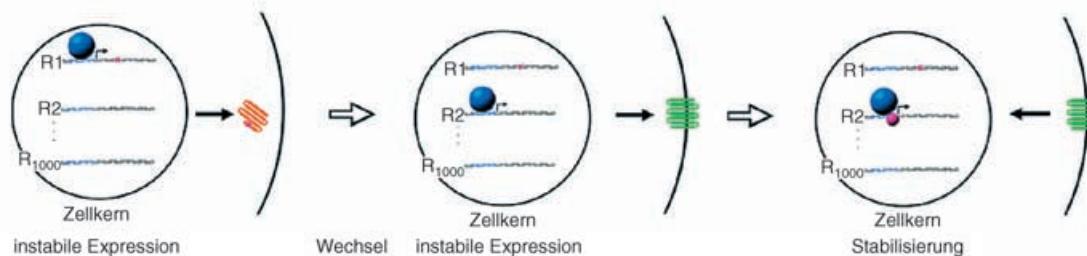


Abbildung 5. Rückkopplungsmodell der stabilen Expression eines funktionsfähigen Rezeptorgens. A) Die Transkriptionsmaschinerie (blaue Kugel) exprimiert nur eines von 1000 Geruchsrezeptorgenen (im Beispiel R2). R2 verschlüsselt einen funktionsfähigen Rezeptor; eine Rückkopplung (rote Kugel) schreibt die Rezeptorauswahl fest. B) Wählt die Transkriptionsmaschinerie den nicht funktionsfähigen Rezeptor R1 aus, der keine Rückkopplung senden kann, so kommt es zu einem Wechsel: Die Transkriptionsmaschinerie wählt einen zweiten Rezeptor zur Expression aus, der eine Rückkopplung aussendet (im Beispiel R2). Durch diesen Mechanismus ist sichergestellt, dass ein Neuron das Gen eines funktionsfähigen Geruchsrezeptors exprimiert.

gen der Zellen mit der Umgebung vermittelt, zu exprimieren. Die Neuordnung der Gene in Trypanosomen und Lymphozyten hat ein wichtiges Merkmal mit der Rezeptorgenauswahl bei Riechneuronen gemeinsam: die zufällige Genauswahl. Der Nachweis der Rekombination von Geruchsrezeptorgenen wurde allerdings erheblich durch den Umstand erschwert, dass keine Neuronenpopulationen oder Populationen klonaler Zell-Linien erhalten werden konnten, die das gleiche Rezeptorgen exprimieren. Meine Mitarbeiterin Kristin Baldwin beschäftigte sich in Zusammenarbeit mit Rudy Jaenisch, Kevin Eggan und Andy Chess am MIT mit dieser Aufgabe; sie erzeugten ES-Zell-Linien und klonen Mäuse ausgehend von den Zellkernen der Riechneurone, die das P2-Rezeptorgen exprimieren (Abbildung 6).^[44] Die Idee für die

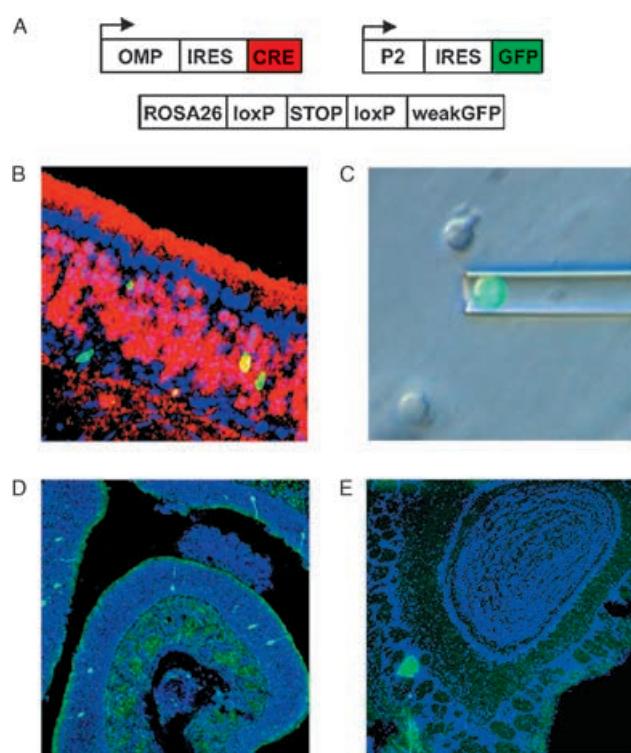


Abbildung 6. Klonen einer Maus aus Riechneuronen, die das P2-Geruchsrezeptorgen exprimieren. A) Genetische Strategie zur Markierung des Sinnesneurons, das P2 exprimiert, mit GFP sowie zur Markierung von Riechneuronen durch eine einzige Deletion in der DNA. B) Das Riechepithel einer Maus mit den in (A) beschriebenen genetischen Veränderungen. Der Kern einer Zelle, die das P2-Geruchsrezeptorgen exprimiert, wurde ausgewählt und in einen Oozyten ohne Zellkern eingesetzt. Das Epithel wurde einerseits mit dem Antikörper von Cre-Recombinase (rot) angefärbt, um die Sinnesneuronen zu markieren, andererseits mit GFP (grün), um Zellen zu identifizieren, die P2 exprimieren. C) Ein grünes P2-IRES-GFP-exprimierendes Neuron wurde dem Riechepithel eines Versuchstiers entnommen. D) Das Riechepithel einer Maus, die aus dem Kern einer das P2-Rezeptorgen exprimierenden Zelle geklont wurde, zeigt eine normale Verteilung von P2-exprimierenden Zellen. Axone dieser Neuronen konvergieren in einem einzigen Glomerulus im Riechhirn (E). Alle Zellkerne wurden mit TOTO-3 blau gefärbt. Da Mäuse, die aus Kernen von P2-exprimierenden Zelle geklont wurden, dieses Gen nicht vorzugsweise im Riechepithel exprimieren, liegt die Vermutung nahe, dass die Rezeptorgenauswahl nicht mit einer DNA-Rekombination einhergeht. Adaptiert mit Erlaubnis aus Lit. [44].

Erzeugung geklonter Mäuse aus Nasenzellen stammt ursprünglich aus der futuristischen Komödie *Sleeper*, die Woody Allen 1978 verfilmte. In diesem Film wird versucht, einen totalitären Führer durch Klonen seines einzigen überlebenden Körperteils, der Nase, wieder auferstehen zu lassen. Fünfundzwanzig Jahre später hat die Wissenschaft die Kunst durch die Erzeugung geklonter Mäuse aus einem einzigen Riechneuron eingeholt.

Falls eine DNA-Rekombination mit der Rezeptorgenauswahl einhergeht, so behaupten wir, dass das Riechepithel geklonter Mäuse, die von einem P2-exprimierenden Sinnesneuron abstammen, in Bezug auf die Rezeptogenexpression klonal wäre; alle Zellen müssten das neu geordnete Allel P2 transkribieren. Die Analyse der DNA-Sequenz und -Organisation in der Umgebung des in geklonten Mäusen exprimierten Allels P2 ergab keinen Hinweis auf Genkonversion oder -verschiebung am P2-Locus. Darüber hinaus war das Muster der Rezeptogenexpression im Riechepithel der geklonten Maus normal. Multiple Geruchsrezeptorgene werden abgebildet, ohne dass eine Präferenz für das im Stammkern transkribierte Allel P2 festzustellen wäre (Abbildung 6). Diese Daten und die Ergebnisse ähnlicher Experimente von Peter Mombaerts^[45] belegen, dass der Mechanismus für die Auswahl eines einzigen Geruchsrezeptorgens keine irreversiblen Veränderungen der DNA bewirkt. Weiter gefasst deutet die Erzeugung fruchtbare geklonter Mäuse, die in Bezug auf Anatomie und Verhalten vom Wildtyp nicht unterscheidbar sind, darauf hin, dass das Erbgut eines postmitotischen, vollständig differenzierten Riechneurons wieder in den Zellzyklus eintreten und nach Kerntransfer einen Totipotenzzustand erreichen kann. Die stochastiche Auswahl eines einzelnen Geruchsrezeptorgens erfolgt demnach nicht durch DNA-Rekombination, sondern vielmehr mit einem geschwindigkeitsbestimmenden Transkriptionsprozess, an dem möglicherweise eine einzelne Transkriptionsmaschine beteiligt ist, die nur ein bestimmtes Geruchsrezeptoren stabil anzuordnen vermag.

7. Der Geruchssinn der Fliege: eine funktionale Karte in den Antennalloben

Die Identifizierung einer anatomischen Karte im Riechhirn wirft sofort die Frage auf, ob diese Karte die Geruchsqualität aussagekräftig wiedergibt und in ein geeignetes Verhalten umsetzt. Wir haben die Abbildung von Geruchsreizen aus der Umwelt im Gehirn der Fruchtfliege untersucht. Bei Fruchtfliegen werden komplexe Verhaltensweisen durch ein olfaktorisches System gesteuert, das in anatomischer und genetischer Hinsicht einfacher ist als das der Wirbeltiere. Die genetische Analyse des Geruchssinns von *Drosophila* bietet uns somit ein Modell, um den mechanistischen Zusammenhang zwischen Verhalten und Geruchswahrnehmung zu erforschen. Die Geruchserkennung erfolgt bei *Drosophila* über Sinneshärchen auf der Oberfläche des dritten Antennensegments und des Kieferfühlers. Die Riechneuronen im Innern der Sinneshärchen verlaufen zu einem der zahlreichen Glomeruli im Antennallobus des Gehirns.^[46,47] Leslie Vosshall und Allan Wong haben gezeigt, dass diese Sinnesneuronen

nur jeweils eines von über 80 Geruchsrezeptorogenen exprimieren. Neuronen, die das gleiche Rezeptorogen exprimieren, projizieren genau auf ein, oder selten zwei, räumlich unveränderliche Glomeruli im Antennallobus, dem anatomischen Äquivalent zum Riechhirn der Säugetiere (Abbildung 7).^[48–50]

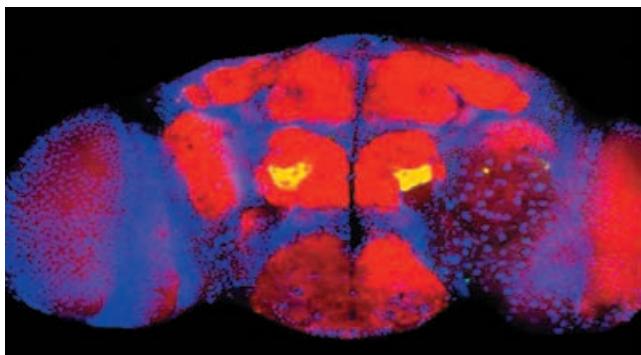


Abbildung 7. Eine Karte der Geruchswahrnehmung im Antennallobus der Fliege. Neuronen, die das Geruchsrezeptorogen OR47b exprimieren, exprimieren auch das Transgen Synaptobrevin-GFP und konvergieren jeweils in einem einzigen Glomerulus. Die Karten in beiden Teilen des Antennallobus sind symmetrisch.

Die anatomische Organisation des olfaktorischen Systems ist somit bei *Drosophila* und den Säugetieren bemerkenswert ähnlich. Ungeachtet der 600 Millionen Evolutionsjahre, die Insekten von Säugetieren trennen, hat sich das Prinzip der Geruchserkennung also nicht geändert, und daher ist es als eine effiziente Lösung für dieses komplexe Problem anzusehen. Bei Fliegen wie bei Mäusen liefert die Konvergenz gleicher Axone in diskreten Glomeruli ein Muster der Rezeptoraktivierung in der ersten Anlaufstelle für Geruchsinformationen im Gehirn, sodass die Qualität eines Geruchs durch räumliche Aktivitätsmuster wiedergegeben wird, zunächst im Antennallobus bzw. im Riechhirn und schließlich in höheren Riechzentren.

Eine funktionale Analyse der Logik der Geruchswahrnehmung zeigt durch Gerüche hervorgerufene Aktivitätsmuster auf neuraler Ebene und entschlüsselt letztlich die Bedeutung dieser Muster für die Geruchsunterscheidung. Mithilfe von Zweiphotonen-Calciumbildgebung untersuchten wir die Beziehung zwischen der anatomischen Karte und der funktionalen Karte im Antennallobus.^[51] Meine Mitarbeiter Jing Wang und Allan Wong stellten *Drosophila*-Gehirnpräparate her, die durch Zweiphotonen-Calciumbildgebung analysierbar waren und bis zu fünf Stunden auf Geruchsstimulation ansprachen. Wir führten das calciumempfindliche fluoreszierende Protein G-CaMP in primäre Riechneuronen und Projektionsneuronen ein. G-CaMP besteht aus einem circular permuierten EGFP, das am N-Terminus von der Calcium-Bindungsstelle von Calmodulin und am C-Terminus vom M13-Fragment der Myosin-Light-Chain-Kinase flankiert ist.^[52] In Gegenwart von Calcium wechselwirkt Calmodulin mit dem M13-Fragment und löst damit eine Konformationsänderung im EGFP aus. Der daraus resultierende Anstieg der Fluoreszenzintensität spiegelt die Veränderungen der intrazellulären Calciumkonzentration wider, die als Maß für die elektrische Aktivität angesehen wird. Darüber hinaus konnten wir durch die Expression von G-CaMP in genetisch definierten Neuronenpopulationen den Ort der neuralen Aktivität sicher bestimmen. Durch Gerüche hervorgerufene Veränderungen der Fluoreszenzintensität im Antennallobus wurden mit einem Zweiphotonen-Laserrastermikroskop beobachtet.^[53]

Mithilfe dieser Bildgebungstechnik gelang es uns, die Ansprechverhalten von 23 Glomeruli auf 16 verschiedene Geruchsstoffe zu messen.^[51] Die Experimente haben einige interessante Gesichtspunkte der Reaktion von Glomeruli auf Gerüche aufgezeigt. Erstens führen verschiedene Gerüche zu verschiedenen Mustern der Glomeruliaktivierung, und diese Muster sind innerhalb einer Tierart konserviert (Abbildung 8). Bei Geruchsstoffkonzentrationen, wie sie wahrscheinlich in der Natur anzutreffen sind, ist die Karte nur wenig aktiv und die Glomeruli sind fein abgestimmt.

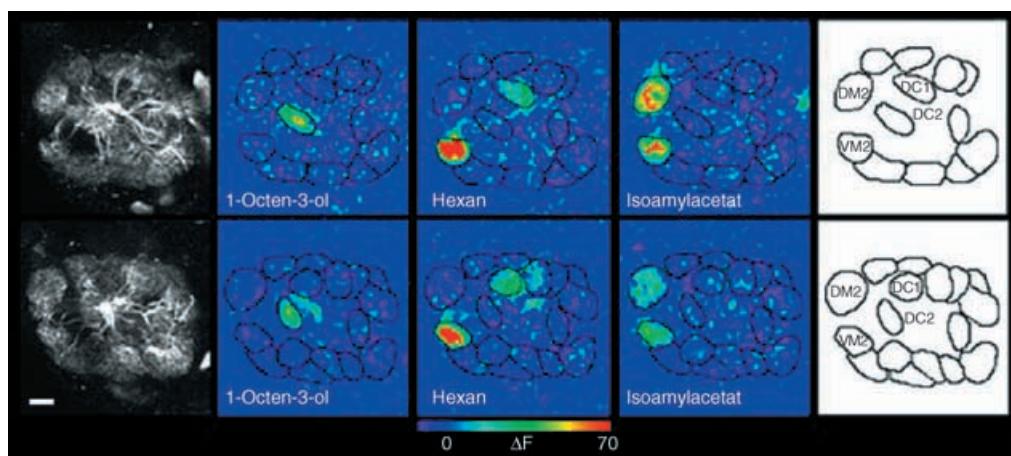


Abbildung 8. Unterschiedliche Geruchsstoffe rufen verschiedene Muster der Glomeruliaktivierung hervor, die in unterschiedlichen Organismen konserviert sind. Zwei Fliegen (obere und untere Felder), die die Transgene GH146-Gal4 und UAS-G-CaMP tragen, wurden drei Geruchsstoffen ausgesetzt. Die Glomeruli zeigen bei den unterschiedlichen Gerüchen spezifische Aktivitätsmuster, die in einer Tierart konserviert sind. Die Bilder vor der Stimulation (links) zeigen die Glomerulistruktur, rechts sind die einzelnen Glomeruli schematisch bezeichnet.

Zweitens haben die Aktivitätsmuster Inselcharakter: Benachbarte Glomeruli reagieren nicht notwendigerweise gemeinsam auf einen bestimmten Geruchsstoff, vielmehr scheint jeder anatomisch sichtbare Glomerulus eine eigene Funktionseinheit zu sein. Drittens sind die Muster der Glomeruliaktivität bei der Bildgebung von Sinnesneuronen oder Projektionsneuronen qualitativ ähnlich. Diese Beobachtungen weisen auf die zuverlässige Übertragung des Sinnesreize auf höhere Gehirnzentren hin. Viertens haben wir genetische Experimente und Bildgebung gekoppelt, um zu zeigen, dass die Reaktion, die ein Geruch in einem bestimmten Glomerulus hervorruft, direkt das Ansprechen eines individuellen Geruchsstoffrezeptors widerspiegelt. Diese Ergebnisse sind in Einklang mit früheren molekulargenetischen und anatomischen Studien, die belegen, dass Neuronen, die nur eine einzige Rezeptorart in ähnlichen Axonen aufweisen, in einem einzigen Glomerulus konvergieren. Gemeinsam mit anderen Bildgebungsstudien an Insekten^[54,55] beweisen diese Untersuchungen somit, dass die anatomische Karte auch funktional ist. Jeder Geruch sollte zu einem Glomeruliaktivierungsmuster führen, das als Signatur des jeweiligen Geruchs an das Gehirn weitergeleitet wird. Bildgebungsexperimente an Wirbeltieren ergaben eine ähnliche funktionale Darstellung der anatomischen Karte.^[56–58]

8. Räumliche Darstellungen und angeborenes Verhalten

Alle Tiere reagieren auf spezifische Sinnesreize mit angeborenen Verhaltensweisen, die wahrscheinlich durch die Aktivierung in der Entwicklung programmieter Schaltkreise ausgelöst werden. Meine Mitarbeiter Allan Wong und Jing Wang untersuchten in Zusammenarbeit mit Greg Suh, David Anderson und Seymour Benzer vom Caltech, ob eine Beziehung zwischen dem durch einen Geruch ausgelösten Glomeruliaktivierungsmuster und einem spezifischen Verhalten besteht.^[59] Zuvor hatte Benzer beobachtet, dass *Drosophila*

energisch Gerüchen ausweicht, die von gestressten Fliegen ausgelöst wurden. Durch Gaschromatographie und Massenspektrometrie wurde CO₂ als eine Komponente dieses „*Drosophila* stress odorant“ (DSO) identifiziert. CO₂-Konzentrationen von 0.1% genügten bereits, um bei Fliegen ein Vermeidungsverhalten auszulösen (Abbildung 9).

Wir versuchten deswegen in Zweiphotonenmikroskopie-Bildgebungsexperimenten mit dem calciumempfindlichen Fluoreszenzindikator G-CaMP herauszufinden, ob wir ein Muster der Glomeruliaktivität als Reaktion auf DSO und CO₂ erkennen können. Zunächst untersuchten wir Fliegen, bei denen der G-CaMP-Indikator durch den panneuronalen Aktivator Elav-Gal4 in allen Neuronen angetrieben wurde. DSO aktivierte lediglich zwei Glomeruli, DM2 und den V-Glomerulus, wohingegen CO₂ nur den V-Glomerulus aktivierte. Dieser Glomerulus wurde schon durch CO₂-Konzentrationen von 0.05% aktiviert, dafür aber von keinem anderen der 26 getesteten Geruchsstoffe (Abbildung 9).

Wir haben bewiesen, dass die zum V-Glomerulus projizierenden Axone von Sinnesneuronen stammen, die den Rezeptor GR21A enthalten.^[50] Wir untersuchten deswegen Fliegen mit Calciumbildgebung, bei denen der Reporter UAS G-CaMP von einem GR21A-Promotor-Gal4-Aktivator angetrieben wurde. Sowohl CO₂ als auch DSO aktivierten die sensorischen Termini der GR21A-exprimierenden Neuronen in den V-Glomeruli. Als nächstes fragten wir uns, ob die GR21A-Sinnesneuronen für die Vermeidungsreaktion auf CO₂ notwendig sind. Die Hemmung der synaptischen Transmission in den GR21A-Sinnesneuronen, die den V-Glomerulus innervieren, durch das temperaturempfindliche Gen *shibire*, *shi*^{ts},^[60] unterbindet die CO₂-Vermeidungsreaktion (Abbildung 9). Bei der überwiegenden Mehrheit der Riechneuronen oder Projektionsneuronen, die den V-Glomerulus nicht anregen, hatte die Hemmung der synaptischen Freisetzung keine Auswirkungen auf dieses Verhalten.

Die Identifizierung der Riechneuronen, die einen einzelnen Glomerulus innervieren, der ein ausgeprägtes Vermeidungsverhalten gegenüber einem natürlichen Geruchsstoff

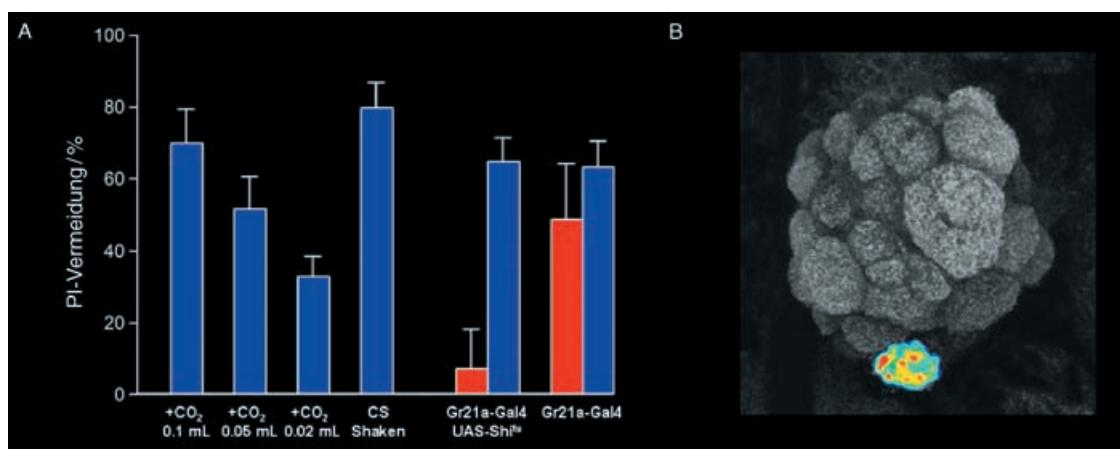


Abbildung 9. CO₂ aktiviert einen einzelnen Glomerulus und löst ein Vermeidungsverhalten aus. A) Vermeidung des Geruchs gestresster Fliegen (CS) sowie erhöhte CO₂-Konzentrationen. Die Hemmung der synaptischen Transmission in den GR21A-Neuronen, die auf den V-Glomerulus projizieren, durch *shi*^{ts} verhindert die CO₂-Vermeidung. Rote und blaue Balken zeigen das Vermeidungsverhalten bei nicht tolerierten (28 °C) bzw. tolerierten Temperaturen (21 °C). B) Zweiphotonenbildgebung in einem Stamm mit GR21a-Gal4 und UAS G-cAMP zeigt eine starke Aktivierung des V-Glomerulus.

hervorruft, vermittelt uns einen Einblick in das neurale Schalschema, das diesem angeborenen Verhalten zugrunde liegt. Diese Beobachtungen legen nahe, dass bei *Drosophila* eine einzige Gruppe von Riechneuronen die CO₂-Detektion bewirkt. Da diese erste Stufe der Geruchsverarbeitung so einfach aufgebaut ist, können die Schaltkreise erforscht werden, die die Geruchsdetektion in eine Vermeidungsreaktion übertragen.

9. Wie wird die Karte gelesen?

Unsere Experimente zeigen, dass unterschiedliche Gerüche verschiedene Muster der Glomeruliaktivität im Antennallobus der Fliege hervorrufen und dass bestimmte Aktivitätsmuster mit spezifischen Verhaltensweisen in Verbindung gebracht werden können. Beim Betrachten der Aktivitätsmuster im Antennallobus unter einem Zweiphotonenmikroskop konnten wir erkennen, welchen Geruch die Fliege erfasst. Somit können wir mit unseren Augen (und unserem Gehirn) bestimmen, welchen Geruchsstoff die Fliege riecht – wie aber liest das Gehirn der Fliege die Sinneskarte?

Auf einer topographischen Karte im Antennallobus rufen unterschiedliche Gerüche verschiedene räumliche Aktivitätsmuster hervor, bei denen es sich um einen Code für die Geruchsqualität handelt könnte. Die bloße Existenz einer Karte – anatomisch oder funktional – beweist allerdings nicht, dass ihre räumliche Information der grundlegende Parameter des Geruchscodes ist. Es wurde beispielsweise behauptet, dass die Qualität eines Geruchs durch die zeitliche Dynamik eines verstreuten Ensembles von Projektionsneuronen verschlüsselt wird.^[61,62] Bei diesem Modell kann ein bestimmter Geruch wenige Glomeruli und ein großes Ensemble von Projektionsneuronen aktivieren, wobei unterschiedliche Gerüche verschiedene zeitliche Aktivitätsmuster des gleichen Projektionsneurons hervorrufen. Diese Hypothese einer zeitlichen Veränderung setzt in ihrer einfachsten Form voraus, dass das Gehirn auf der Grundlage dynamischer Schaltkreise ein Raum-Zeit-Muster der Neuronenaktivierung erstellt und auf diese Weise die Codierungsmöglichkeiten vergrößert. Um welchen Code auch immer es sich handelt, die Aktivitätsmuster im Antennallobus müssen durch höhere Sinneszentren übersetzt werden, um die komplexe Geruchsinformation zu verarbeiten. Wenn die Geruchsqualität durch räumliche Muster verschlüsselt wird, können wir davon ausgehen, dass die Ordnung der Glomerulikarte durch das Vorderhirn übernommen wird.

Wir haben uns mit der Frage beschäftigt, wie die Karte im Antennallobus in höheren Riechzentren abgebildet wird, indem wir die Bahnen der Projektionsneuronen verfolgten, die von den Glomeruli ins Vorderhirn führen. Allan Wong und Jing Wang kennzeichneten einzelne Projektionsneuronen nach dem Zufallsprinzip und beobachteten, wie definierte Glomeruli mit ihren Zielen im Pilzkörper und Vorderhirn verbunden sind. Wir haben dazu eine „Enhancer-trap“-Linie verwendet, bei der Gal4 in einer Subpopulation von Projektionsneuronen exprimiert wird, mit der „FLP-out“-Technik kombiniert, um einzelne Projektionsneuronen mit einem CD8-GFP-Reporter zu markieren.^[63] Mit einer ähnlichen

experimentellen Methode wurde die Verzweigung individueller Projektionsneuronen bestimmt und das Muster ihrer Axon-Projektionen untersucht.^[64,65] Dabei zeigte sich, dass die meisten Projektionsneuronen Dendriten zu einem einzelnen Glomerulus senden. Die Axone von Projektionsneuronen, die mit einem bestimmten Glomerulus verbunden sind, bilden ein unveränderliches räumliches Muster im Vorderhirn (Abbildung 10).

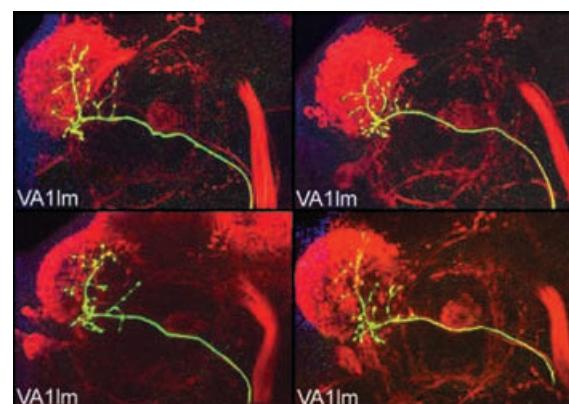


Abbildung 10. Projektionsneuronen, die den gleichen Glomerulus anregen, haben ähnliche Axon-Projektionsmuster. Individuelle Projektionsneuronen, die mit VA1-LM-Glomeruli verbunden sind, wurden im Vorderhirn verschiedener Fliegen visualisiert. Die Muster von Projektionsneuronen, die in einem bestimmten Glomerulus enden, sind auffallend analog. Auch im Vorderhirn liegt also eine unveränderliche topographische Karte vor, die sich jedoch in ihren Eigenschaften von der Karte im Antennallobus unterscheidet (Wiedergabe mit Erlaubnis aus Lit. [63]).

Die Axon-Projektionsmuster der Projektionsneuronen verschiedener Glomeruli sind getrennt, aber häufig miteinander verwoben (Abbildung 11). Unsere Daten zeigen eine auffallende Invarianz der Muster bei den Axonbäumen von Projektionsneuronen, die einen bestimmten Glomerulus innervieren; diese präzise Verknüpfung stellt den Informationstransfer sicher.

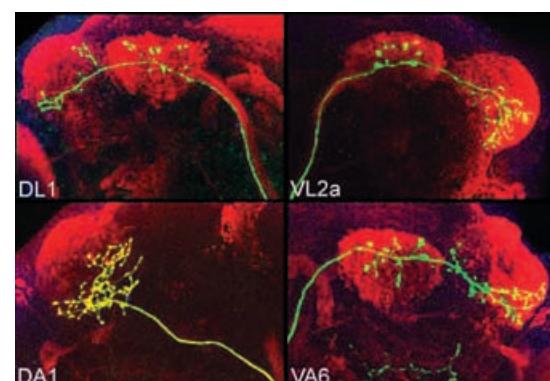


Abbildung 11. Der Verlauf der Axone einzelner Projektionsneuronen über den Pilzkörper bis zur Verzweigung im Vorderhirn kann visualisiert werden. Projektionsneuronen, die mit unterschiedlichen Glomeruli verbunden sind, zeigen verschiedene Muster der Axon-Projektion. Anders als die isolierten Bäume in den Glomeruli, sind die Axonbäume im Vorderhirn verzweigt und können somit in höheren Riechzentren integriert werden (Wiedergabe mit Erlaubnis aus Lit. [63]).

Eine räumliche Darstellung der Glomeruliaktivität in höheren Gehirnzentren belegt die Genauigkeit der Projektionsneuronen. Die Eigenschaften dieser Karte unterscheiden sich aber von denjenigen der Karte im Antennallobus: Im Vorderhirn sind die Axonbäume weit verzweigt und großflächig, häufig breiten sie sich über die gesamte Hirnhälfte aus (Abbildung 10 und 11). Dies ist ein deutlicher Unterschied zu der strengen Konvergenz der primären sensorischen Axone, deren Bäume in einem nur 5–10 µm großen kugelförmigen Glomerulus enden. Daher sind die Projektionsneuronen verschiedener Glomeruli, obwohl klar getrennt, häufig miteinander verflochten, und die Punkt-zu-Punkt-Auflösung, die im Antennallobus beobachtet wird, ist in den Projektionen zweiter Ordnung im Vorderhirn nicht mehr gegeben. So können die Eingaben mehrerer verschiedener Glomeruli zusammengeführt werden, was für Prozesse höherer Ordnung entscheidend ist. Neuronen dritter Ordnung im Vorderhirn können mit Projektionsneuronen mehrerer verschiedener Glomeruli verbunden sein und dadurch die räumlichen Muster entschlüsseln, die die Grundlage für Geruchsunterscheidung und Verhaltensreaktionen bilden.

10. Schlussfolgerungen

Die vorgestellten Ergebnisse stützen ein Modell, bei dem Informationen aus zerlegten Mustern im Antennallobus auf einer höheren Hierarchieebene des Wahrnehmungssystems, durch Kardinalzellen im Vorderhirn, wieder zusammengefügt werden. Bei der Geruchswahrnehmung aktivieren zunächst die Strukturelemente eines Geruchsstoffs einen definierten Satz von Rezeptoren, was wiederum zur Aktivierung eines Satzes von Glomeruli führt. Höhere Sinneszentren müssen daraufhin ermitteln, welche der zahlreichen Glomeruli aktiviert wurden, und ausgehend von dieser Information die Geruchsreize rekonstruieren. Die räumlich unveränderliche, breit gestreute Sinneskarte im Vorderhirn ermöglicht höheren Geruchsneuronen die Integration der Signale vieler Glomeruli.

Mit all unserem Wissen über die Geruchskarten sowohl im Riechhirn oder Antennallobus als auch in höheren Riechzentren stehen wir immer noch vor einer Reihe offener Fragen. Wir können zwar diese durch Gerüche hervorgerufenen Bilder betrachten und mit unserem Gehirn verarbeiten. Dabei werden wir ein räumliches Muster als einzigartig erkennen und leicht mit einem besonderen Reiz in Verbindung bringen – doch das Gehirn selbst hat keine Augen. Wie wertet das Gehirn das Geruchsbild aus? Wie liest es die Karte? Wie wird eine räumliche Anordnung von Datenpunkten mit elektrischer Information im Gehirn entschlüsselt, um einen Geruch wahrzunehmen? Wir bleiben mit einem alten Problem zurück: dem Problem des Geistes in der Maschine.

Wie können wir die Einzigartigkeit der Geruchswahrnehmung erklären? Die angeborene Sinneswahrnehmung durch die von mir beschriebenen Karten des Geruchssinns muss plastisch sein. Unsere Gene erzeugen nur einen Rohbau, den unsere Erfahrungen bei der Wahrnehmung der Außenwelt weiter formen. Sicherlich ruft der Duft einer Madeleine nicht in uns allen dieses „unermeßliche Gebäude der Erinnerung“

hervor, wie es Marcel Proust beschrieben hat. Für Proust ist der Geruchssinn der Sinn, der starke Erinnerungen und Assoziationen heraufbeschwört, und dies in einer bei anderen Sinnesreizen unbekannten Fülle. Nirgends ist das offensichtlicher als in der Passage seines Romans *Auf der Suche nach der verlorenen Zeit*, in der er sich der Begebenheit mit der Madeleine entsinnt.^[66]

„.... Aber wenn von einer früheren Vergangenheit nichts existiert nach dem Ableben der Personen, dem Untergang der Dinge, so werden allein, zerbrechlicher aber beständiger, immateriell und doch haltbar, beständig und treu Geruch und Geschmack noch lange wie irrende Seelen ihr Leben weiterführen, sich erinnern, warten, hoffen, auf den Trümmern alles übrig und in einem beinahe unwirklich winzigen Tröpfchen das unermeßliche Gebäude der Erinnerung unfehlbar in sich tragen.“

Dieser Vortrag umfasst die Arbeiten zur molekularen Logik der Geruchswahrnehmung, die meine Gruppe während der vergangenen dreizehn Jahre ausgeführt hat. Ich möchte dem Howard Hughes Medical Institute, den National Institutes of Health und der Mathers Foundation für ihre stetige Unterstützung unserer Forschung danken. Das Howard Hughes Medical Institute bot uns die Möglichkeit, Molekularbiologie und Neurowissenschaft miteinander zu verbinden und neue Richtungen einzuschlagen. Die Verleihung des Nobelpreises für Physiologie oder Medizin erfüllt Linda Buck und mich mit tiefempfundener Ehre und großem Glück. Doch diese Auszeichnung ehrt nicht mich als Person, sondern als den Wissenschaftler, der durch die Arbeiten zahlreicher hervorragender Studenten und wichtige Anregungen von Kollegen unterstützt wurde. Daher bin ich stolz auf die Leistungen meiner Gruppe und auf die Wissenschaftler, die zu unseren Untersuchungen beigetragen haben, und ich nehme diesen Preis zu treuen Händen entgegen – stellvertretend für meine Arbeitsgruppe und die Columbia University, die uns während der vergangenen dreißig Jahre durch ein Umfeld gefördert hat, das intellektuelle Strenge und Kreativität mit Wärme und Kollegialität verband.

Eingegangen am 19. Mai 2005
Übersetzt von Charlotte Gentes, Maulbronn

-
- [1] I. Kant [1781/1787], *Kritik der reinen Vernunft* (Hrsg.: I. Heidemann), Reclam, Ditzingen, **1998**.
 - [2] *Principles of Neural Science*, 4. Aufl. (Hrsg.: E. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessell), McGraw Hill, New York, **2000**.
 - [3] „A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition“: L. Buck, R. Axel, *Cell* **1991**, 65, 175–187.
 - [4] „Odorant-sensitive adenylate cyclase may mediate olfactory reception“: U. Pace, E. Hanski, Y. Salomon, D. Lancet, *Nature* **1985**, 316, 255–258.
 - [5] „The odorant-sensitive adenylate cyclase of olfactory receptor cells: differential stimulation by distinct classes of odorants“: P. B. Sklar, R. R. H. Anholt, S. H. Snyder, *J. Biol. Chem.* **1986**, 261, 15536–15543.

- [6] „G_{olf}, an olfactory neuron-specific G-protein involved in odorant signal transduction“: D. T. Jones, R. R. Reed, *Science* **1989**, *244*, 790–795.
- [7] „Rapid kinetics of second messenger formation in olfactory transduction“: H. Breer, L. Boekhoff, E. Tarelius, *Nature* **1990**, *345*, 65–68.
- [8] „Functional expression of a mammalian odorant receptor“: H. Zhao, L. Ivic, J. M. Otaki, M. Hashimoto, K. Mikoshiba, S. Firestein, *Science* **1998**, *279*, 237–242.
- [9] „Identification of ligands for olfactory receptors by functional expression of a receptor library“: D. Krautwurst, K.-W. Yau, R. R. Reed, *Cell* **1998**, *95*, 917–926.
- [10] „Combinatorial receptor codes for odors“: B. Malnic, J. Hirono, T. Sato, L. B. Buck, *Cell* **1999**, *96*, 713–723.
- [11] „Functional identification and reconstitution of an odorant receptor in single olfactory neurons“: K. Touhara, S. Sengoku, K. Inaki, A. Tsuboi, J. Hirono, T. Sato, H. Sakano, T. Haga, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 4040–4045.
- [12] „The olfactory receptor gene superfamily of the mouse“: X. Zhang, S. Firestein, *Nat. Neurosci.* **2002**, *5*, 124–133.
- [13] „The mouse olfactory receptor gene family“: P. A. Godfrey, B. Malnic, L. B. Buck, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 2156–2161.
- [14] „The complete human olfactory subgenome“: G. Glusman, I. Yanai, I. Rubin, D. Lancet, *Genome Res.* **2001**, *11*, 685–702.
- [15] „The human olfactory receptor repertoire“: S. Zozulya, F. Echeverri, T. Nguyen, *Adv. Genome Biol.* **2001**, *2*, 0018.1–0018.12.
- [16] „The sense of smell: genomics of vertebrate odorant receptors“: J. M. Young, B. J. Trask, *Hum. Mol. Genet.* **2002**, *11*, 1153–1160.
- [17] „A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: candidate odorant receptors in *Drosophila*“: P. J. Clyne, C. G. Warr, M. R. Freeman, D. Lessing, J. Kim, J. R. Carlson, *Neuron* **1999**, *22*, 327–338.
- [18] „Identification of candidate *Drosophila* olfactory receptors from genomic DNA sequence“: Q. Gao, A. Chess, *Genomics* **1999**, *60*, 31–39.
- [19] „A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna“: B. L. Vosshall, H. Amrein, P. S. Morozov, A. Rzetsky, R. Axel, *Cell* **1999**, *96*, 725–736.
- [20] „Divergent seven transmembrane receptors are candidate chemosensory receptors in *C. elegans*“: E. R. Troemel, J. H. Chou, N. D. Dwyer, H. A. Colbert, C. I. Bargmann, *Cell* **1995**, *83*, 207–218.
- [21] „odr-10 encodes a seven transmembrane domain olfactory receptor required for responses to the odorant diacetyl“: P. Sengupta, J. H. Chou, C. I. Bargmann, *Cell* **1996**, *84*, 899–909.
- [22] „Iodopsin“: G. Wald, P. K. Brown, P. H. Smith, *J. Gen. Physiol.* **1955**, *38*, 623–681.
- [23] „Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green, and red pigments“: J. Nathans, D. Thomas, D. S. Hogness, *Science* **1986**, *232*, 193–202.
- [24] „Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression“: A. Chess, I. Simon, H. Cedar, R. Axel, *Cell* **1994**, *78*, 823–834.
- [25] „A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium“: K. J. Ressler, S. L. Sullivan, L. B. Buck, *Cell* **1993**, *73*, 597–609.
- [26] „Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium“: R. Vassar, J. Ngai, R. Axel, *Cell* **1993**, *74*, 309–318.
- [27] „Information coding in the olfactory system: evidence for a stereotyped and highly organized epitope map in the olfactory bulb“: K. J. Ressler, S. L. Sullivan, L. B. Buck, *Cell* **1994**, *79*, 1245–1255.
- [28] „Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb“: R. Vassar, S. K. Chao, R. Sitcheran, J. M. Nunez, L. B. Vosshall, R. Axel, *Cell* **1994**, *79*, 981–991.
- [29] „Visualizing an olfactory sensory map“: P. Mombaerts, F. Wang, C. Dulac, S. K. Chao, A. Nemes, M. Mendelsohn, J. Edmondson, R. Axel, *Cell* **1996**, *87*, 675–686.
- [30] „Development of inner ear afferent connections: forming primary neurons and connecting them to the developing sensory epithelia“: B. Fritzsch, *Brain Res. Bull.* **2003**, *60*, 423–433.
- [31] „Regulation of axial patterning of the retina and its topographic mapping in the brain“: T. McLaughlin, R. Hindges, D. M. O’Leary, *Curr. Opin. Neurobiol.* **2003**, *13*, 57–69.
- [32] „Odorant receptors on axon termini in the brain“: G. Barnea, S. O’Donnell, F. Mancia, X. Sun, A. Nemes, M. Mendelsohn, R. Axel, *Science* **2004**, *304*, 1468.
- [33] „Odorant receptors govern the formation of a precise topographic map“: F. Wang, A. Nemes, M. Mendelsohn, R. Axel, *Cell* **1998**, *93*, 47–60.
- [34] „Axon guidance of mouse olfactory sensory neurons by odorant receptors and the b2 adrenergic receptor“: P. Feinstein, T. Bozza, I. Rodriguez, A. Vassali, P. Mombaerts, *Cell* **2004**, *117*, 833–846.
- [35] „A contextual model for axonal sorting into glomeruli in the mouse olfactory system“: P. Feinstein, P. Mombaerts, *Cell* **2004**, *117*, 817–831.
- [36] „Mutually exclusive expression of odorant receptor transgenes“: S. Serizawa, T. Ishii, H. Nakatani, A. Tsuboi, F. Nagawa, M. Asano, K. Sudo, J. Sakagami, H. Sakano, T. Ijiri, Y. Matsuda, M. Suzuki, T. Yamamori, Y. Iwakura, H. Sakano, *Nat. Neurosci.* **2000**, *3*, 687–693.
- [37] „Minigenes impart odorant receptor-specific axon guidance in the olfactory bulb“: A. Vassali, A. Rothman, P. Feinstein, M. Zapotocky, P. Mombaerts, *Neuron* **2002**, *35*, 681–696.
- [38] „Negative feedback regulation ensures the one receptor-one olfactory neuron rule in mouse“: S. Serizawa, K. Miyamichi, H. Nakatani, M. Suzuki, M. Saito, Y. Yoshihara, H. Sakano, *Science* **2003**, *302*, 2088–2094.
- [39] „A feedback mechanism regulates monoallelic odorant receptor expression“: J. L. Lewcock, R. R. Reed, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 1069–1074.
- [40] „Gene switching and the stability of odorant receptor gene choice“: B. Shykind, C. Rohani, S. O’Donnell, A. Nemes, M. Mendelsohn, Y. Sun, R. Axel, G. Barnea, *Cell* **2004**, *117*, 801–815.
- [41] „Transposable mating type genes in *Saccharomyces cerevisiae*“: J. Hicks, J. N. Strathern, A. J. Klar, *Nature* **1979**, *282*, 478–483.
- [42] „Gene conversion as a mechanism for antigenic variation in trypanosomes“: E. Pays, S. Van Assel, M. Laurent, M. Darville, T. Vervoort, N. Van Meirvenne, M. Steinart, *Cell* **1983**, *34*, 371–381.
- [43] „A complete immunoglobulin gene is created by somatic recombination“: C. Brack, M. Hirama, R. Lenhard-Schuller, S. Tonegawa, *Cell* **1978**, *15*, 1–14.
- [44] „Mice cloned from olfactory sensory neurons“: K. Eggan, K. Baldwin, M. Tackett, J. Osborne, J. Gogos, A. Chess, R. Axel, R. Jaenisch, *Nature* **2004**, *428*, 44–49.
- [45] „Odorant receptor gene choice is reset by nuclear transfer from mouse olfactory sensory neurons“: J. Li, T. Ishii, P. Feinstein, P. Mombaerts, *Nature* **2004**, *428*, 393–399.
- [46] „The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review“: R. F. Stocker, *Cell Tissue Res.* **1994**, *275*, 3–26.
- [47] „Three-dimensional reconstruction of the antennal lobe in *Drosophila melanogaster*“: P. P. Laissue, C. Reiter, P. R. Hiesinger, S. Halter, K. F. Fischbach, R. F. Stocker, *J. Comp. Neurol.* **1999**, *405*, 543–552.

- [48] „Convergent projections of *Drosophila* olfactory neurons to specific glomeruli in the antennal lobe“: Q. Gao, B. Yuan, A. Chess, *Nat. Neurosci.* **2000**, 3, 780–785.
- [49] „An olfactory sensory map in the fly brain.“: L. B. Vosshall, A. M. Wong, R. Axel, *Cell* **2000**, 102, 147–159.
- [50] „A chemosensory gene family encoding candidate gustatory and olfactory receptors in *Drosophila*“: K. Scott, R. Brady, Jr., A. Cravchik, P. Morozov, A. Rzhetsky, C. Zuker, R. Axel, *Cell* **2001**, 104, 661–673.
- [51] „Two-photon calcium imaging reveals an odor-evoked map of activity in the fly brain“: J. W. Wang, A. M. Wong, J. Flores, L. B. Vosshall, R. Axel, *Cell* **2003**, 112, 271–282.
- [52] „A high signal-to-noise Ca^{2+} probe composed of a single green fluorescent protein“: J. Nakai, M. Ohkura, K. Imoto, *Nat. Biotechnol.* **2001**, 19, 137–141.
- [53] „Two photon laser scanning fluorescence microscopy“: W. Denk, J. H. Strickler, W. W. Webb, *Science* **1990**, 248, 73–76.
- [54] „Representations of odours and odour mixtures visualized in the honeybee brain“: J. Joerges, A. Juttner, C. G. Galizia, R. Menzel, *Nature* **1997**, 387, 285–287.
- [55] „Transmission of olfactory information between three populations of neurons in the antennal lobe of the fly“: M. Ng, R. D. Roorda, S. Q. Lima, B. V. Zemelman, P. Morcillo, G. Miesenbock, *Neuron* **2002**, 36, 463–474.
- [56] „Optical imaging of odorant representations in the mammalian olfactory bulb“: B. D. Rubin, L. C. Katz, *Neuron* **1999**, 23, 499–511.
- [57] „Odor maps in the mammalian olfactory bulb: domain organization and odorant structural features“: N. Uchida, Y. K. Takahashi, M. Tanifuji, K. Mori, *Nat. Neurosci.* **2000**, 3, 1035–1043.
- [58] „Tuning and topography in an odor map on the rat olfactory bulb“: M. Meister, T. Bonhoeffer, *J. Neurosci.* **2001**, 21, 1351–1360.
- [59] „A single population of olfactory neurons mediates an innate avoidance behavior in *Drosophila*“: S. B. Suh, A. M. Wong, A. C. Hergarden, J. W. Wang, A. Simon, S. Benzer, R. Axel, D. J. Anderson, *Nature* **2004**, 431, 854–859.
- [60] „Conditional modification of behavior in *Drosophila* by targeted expression of a temperature-sensitive *shibire* allele in defined neuron“: T. Kitamoto, *J. Neurobiol.* **2001**, 47, 81–92.
- [61] „A systems perspective on early olfactory coding“: G. Laurent, *Science* **1999**, 286, 723–728.
- [62] „Transformation of olfactory representations in the *Drosophila* antennal lobe“: R. I. Wilson, G. Laurent, *Science* **2004**, 303, 366–370.
- [63] „Spatial representation of the glomerular map in the *Drosophila* protocerebrum“: A. M. Wong, J. W. Wang, R. Axel, *Cell* **2002**, 109, 229–241.
- [64] „Target neuron prespecification in the olfactory map of *Drosophila*“: G. S. Jefferis, E. C. Marin, R. F. Stocker, L. Luo, *Nature* **2001**, 414, 204–208.
- [65] „Representation of the glomerular olfactory map in the *Drosophila* brain“: E. C. Marin, G. S. Jefferis, T. Komiyama, H. Zhu, L. Luo, *Cell* **2002**, 109, 243–255.
- [66] „In Swanns Welt“: M. Proust, *Auf der Suche nach der verlorenen Zeit*, 1. Band, Suhrkamp, Frankfurt/Main, **1954**, S. 66–67.
- [67] „Spatially restricted expression of candidate taste receptors in the *Drosophila* gustatory system“: L. Dunipace, S. Meister, C. McNeely, H. Amrein, *Curr. Biol.* **2001**, 822–835.