

**Zeitschrift:** Bulletin de la Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles = Bulletin der Naturforschenden Gesellschaft Freiburg  
**Herausgeber:** Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles  
**Band:** 100 (2011)  
  
**Artikel:** 30 Jahre Drosophila als weltweit etabliertes olfaktorisches Modellsystem  
**Autor:** Stocker, Reinhard F.  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-358069>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 29.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# 30 Jahre *Drosophila* als weltweit etabliertes olfaktorisches Modellsystem

Abschiedsvorlesung, gehalten am 19. November 2010  
im Departement Biologie der Universität Freiburg

REINHARD F. STOCKER  
Departement Biologie, Universität Freiburg / Schweiz

## *Zusammenfassung*

*Das wichtigste Ziel meiner hier skizzierten Forschung war es den klassischen genetischen Modellorganismus *Drosophila* mit seinen vielfältigen experimentellen Möglichkeiten auch für das Studium des Geruchssinns zu nutzen. Anfänglich ging es in unseren Arbeiten darum eine solide neuroanatomische Grundlage für das adulte olfaktorische Netzwerk zu schaffen. Die molekulargenetischen Errungenschaften der 80er und 90er Jahre waren dafür eine unschätzbare Hilfe. Sie ermöglichten auch zum ersten Mal den Duftsinn gezielt zu manipulieren und so die funktionelle Bedeutung seiner zellulären Elemente zu analysieren. Ein weiteres Interessensgebiet war die Entwicklung des adulten Geruchssystems. Vor etwa 20 Jahren beschlossen wir unsere Forschung auf das noch einfachere olfaktorische Netzwerk der Larve zu fokussieren. Dank einer Vielzahl von genetischen Werkzeugen konnten wir in diesem Projekt die strukturelle und funktionelle Organisation eines einfachen Dufterkennungssystems weltweit zum ersten Mal vollständig und auf der Ebene identifizierter Zellen analysieren, und zwar von der Peripherie bis in höhere Hirnzentren. Die letzten 10 Jahre waren schliesslich von äusserst erfolgreichen Interaktionen zwischen chemosensorischer und Lernforschung im Larvenmodell geprägt.*

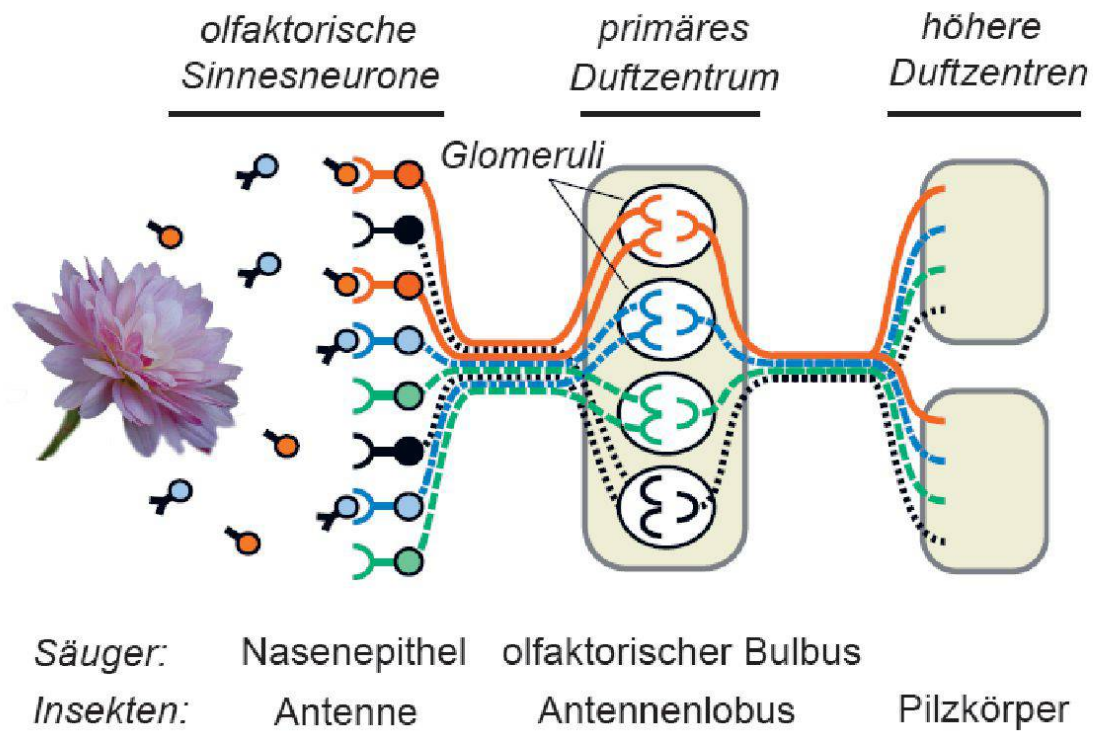
## *Résumé*

*Le objectif principal des recherches rapportées ci-dessous fut d'adapter la *Drosophile*, ce modèle génétique classique avec ses multiples possibilités expérimentales, pour l'étude de l'olfaction. Le début de ces travaux fut marqué par l'établissement d'une description neuroanatomique solide du*

*réseau olfactif de la mouche adulte. Durant les années 80 et 90, le développement de nouvelles techniques de génétique moléculaire facilita grandement ces efforts. Ces techniques permirent aussi pour la première fois de manipuler finement le système olfactif et ainsi d'analyser la fonction de ses divers éléments cellulaires. Un autre aspect de mon travail consista en l'étude du développement du système olfactif pendant la métamorphose. Il y a 20 ans, nos efforts se concentrèrent autour d'un système olfactif encore plus élémentaire que celui de la mouche adulte, à savoir celui de la larve. La richesse des outils génétiques disponibles permit pour la première fois, de décrire dans son intégralité l'organisation structurelle et fonctionnelle d'un système olfactif simple, et cela de la périphérie jusqu'aux centres olfactifs supérieurs du cerveau. Enfin, les 10 dernières années de ma carrière furent marquées par des interactions fructueuses entre l'étude de la chémosensation et celle des mécanismes d'apprentissage, tout en utilisant le modèle larvaire.*

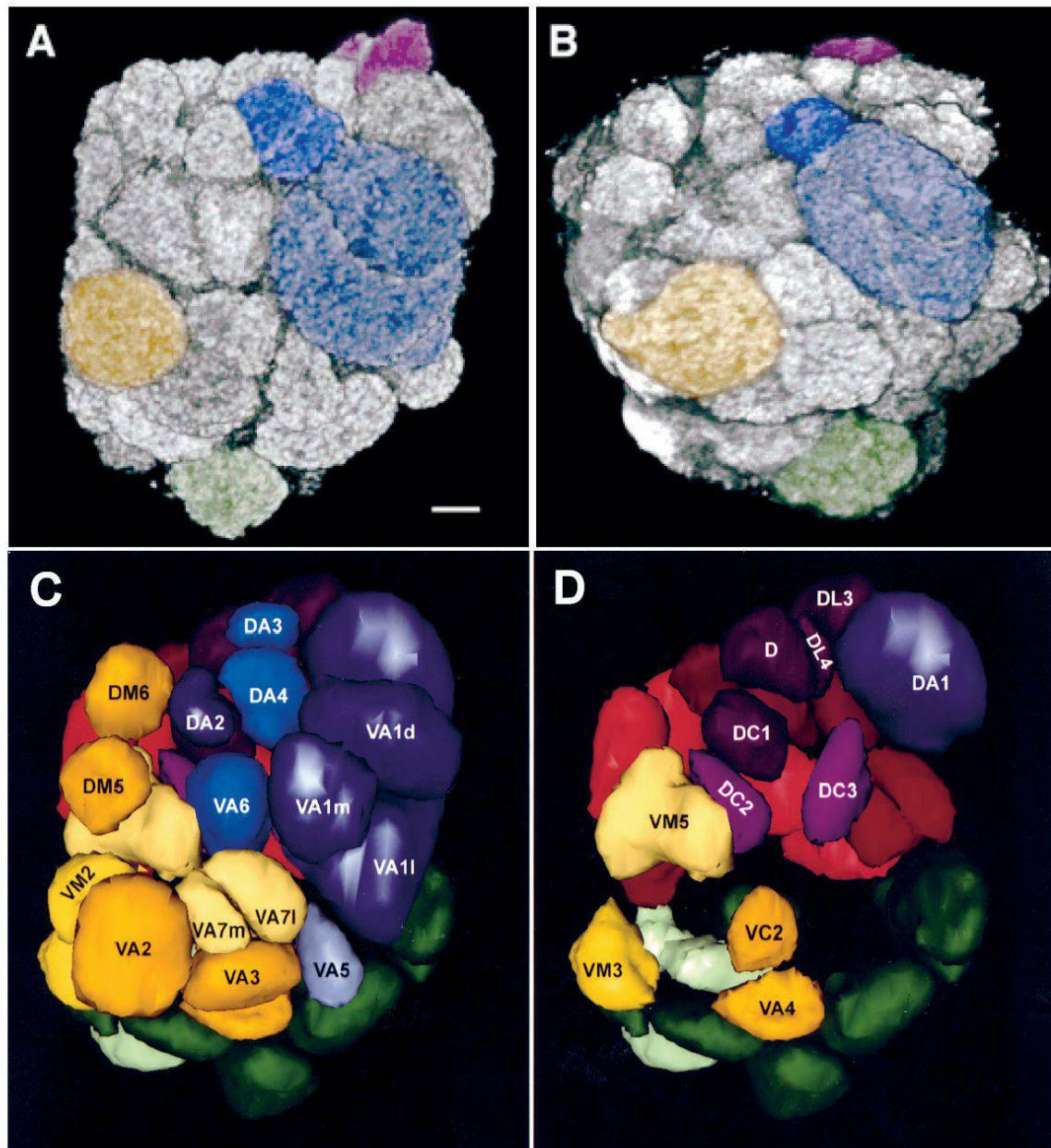
### **Summary**

*The key objective of my research presented below was to adapt the classical genetic model system *Drosophila* with its immense experimental potential for elucidating the sense of smell. Initially the focus was on setting up a sound neuroanatomical basis for the adult olfactory network. The molecular genetic achievements of the 80ies and 90ies were an invaluable help toward that goal. Moreover they permitted for the first time to manipulate the olfactory sense and to analyze the functional role of its cellular elements. Another field of interest were the developmental processes leading to the adult olfactory network. About 20 years ago we decided to focus onto an even simpler olfactory system, the one displayed by the *Drosophila* larva. The genetic tools available allowed us to dissect comprehensively the structural and functional organization of a simple olfactory system for the first time at the level of identified cells, from the periphery up to higher brain centers. Finally, the past 10 years were characterized by extremely fruitful interactions between chemosensory und memory research in the larval model system.*



**Fig. 1:** Das olfaktorische Netzwerk der Säuger und Insekten ist sehr ähnlich organisiert: (1) olfaktorische Sinnesneurone exprimieren nur einen Typ Duftrezeptor (symbolisiert durch unterschiedliche Farben, (2) die primären Duftzentren im Gehirn sind aus Glomeruli zusammengesetzt und (3) Sinnesneurone die denselben Rezeptor exprimieren projizieren in den gleichen Zielglomerulus (aus TANAKA et al., 2004, verändert; © Elsevier Ltd.).





**Fig. 2:** Glomerulikarte des Antennenlobus von *Drosophila melanogaster*. A,B: Glomeruli dargestellt durch Applikation eines monoklonalen Antikörpers (Konfokalbilder). Lage, Grösse und Form der einzelnen Glomeruli sind bei verschiedenen Individuen relativ konstant (z.T. durch Einfärbung sichtbar gemacht). C,D: 3-dimensionales Glomerulimodell des Antennenlobus in Oberflächenansicht (C) und nach Entfernung der äussersten Glomeruli (D) (aus LAISSUE et al., 1999; © John Wiley & Sons, Inc.).

## Einleitung

Einfache Tiere werden immer häufiger als Modelle für die Untersuchung grundlegender biologischer Prozesse verwendet. Besonders wichtig geworden ist dieser Ansatz für das Verständnis des kompliziertesten aller Organe, des Gehirns. Das menschliche Gehirn enthält etwa 100 Milliarden Nervenzellen. Jede davon bildet Kontakte mit vielen anderen Nervenzellen aus, nicht nach dem Zufallsprinzip, sondern nur mit ganz bestimmten Zielzellen. Diese sog. neuronale Spezifität ist eine fundamentale Eigenschaft von Nervensystemen. Wie ist es bei dieser unvorstellbaren Komplexität überhaupt möglich zu verstehen wie das Gehirn funktioniert? Glücklicherweise sind aber die Aufgaben eines einfachen Gehirns, z.B. eines Insektenhirns, und eines Säugerhirns im wesentlichen dieselben: beide setzen spezifische Sinnesreize in adäquate Verhaltensreaktionen um, unter Berücksichtigung früherer Erfahrungen. Ein Insektenhirn benötigt dafür aber nur etwa  $10^5$ - $10^6$  Nervenzellen, also einen Bruchteil der Zellzahl des menschlichen Gehirns.

Geruchsforschung möchte im wesentlichen verstehen wie Tiere oder Menschen zwischen Tausenden von Düften oder Duftkombinationen unterscheiden und wie sie diese Wahrnehmung in ihr Verhalten einfließen lassen. Diese Wissenschaft wird schon seit vielen Jahrzehnten betrieben, doch erst etwa seit 30 Jahren an der Taufliege *Drosophila melanogaster*, dem klassischen genetischen Modellorganismus. Mein Exposé wird auf die Ursprünge der Geruchsforschung bei Insekten eingehen, es soll zeigen warum *Drosophila* ein weitverbreitetes olfaktorisches Modellsystem wurde und es wird die Beiträge meiner eigenen Gruppe in diesem Feld zusammenfassen.

Das Geruchssystem der Säuger und Insekten ist bezüglich dreier wichtiger Eigenschaften erstaunlich ähnlich organisiert (**Fig. 1**):

- (1) olfaktorische Sinnesneurone exprimieren jeweils nur einen Typ von Duftrezeptor-Protein,
- (2) die primären Duftzentren im Gehirn bestehen aus Untereinheiten, den Glomeruli, und
- (3) Sinnesneurone die denselben Rezeptor exprimieren projizieren in denselben Zielglomerulus.



Erwartungsgemäss sind aber die Zahlenverhältnisse bei den beiden Stämmen sehr verschieden: Eine Maus besitzt beispielsweise etwa 1 Million olfaktorischer Sinnesneurone, 1'000 verschiedene Rezeptoren und 2'000 Glomeruli. Eine *Drosophila*-Fliege nimmt die gleichen Aufgaben mit nur 1'300 Sinneszellen, 42 Rezeptoren und 50 Glomeruli wahr, eine *Drosophila*-Larve sogar nur mit 21 Sinneszellen, 25 Rezeptoren und 21 Glomeruli. Es stellt sich aber natürlich die Frage ob ein derart einfaches olfaktorisches Netzwerk überhaupt noch Rückschlüsse auf die Funktion eines komplexeren Systems erlaubt.

### **Die Anfänge der olfaktorischen Forschung bei Insekten, insbesondere bei *Drosophila***

Der Insektenphysiologe Dietrich Schneider (1919-2008) der am Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie in Seewiesen tätig war hat unstreitig als Erster Insekten als Modelle in der Geruchsforschung eingesetzt, vor allem Seidenspinner. Ihm verdanken wir nicht nur die erstmalige molekulare Identifikation eines Sexuallockstoffs (KARLSON & SCHNEIDER, 1973), er war auch ein Pionier für einen ganzheitlichen biochemischen, neuroanatomischen, elektrophysiologischen und verhaltensbiologischen Ansatz in der olfaktorischen Forschung. Aus seiner Schule sind viele Tochtergruppen hervorgegangen, vor allem in Deutschland und den USA.

Etwa ab 1975 benutzten Obaid Siddiqi und seine Doktorandin Veronica Rodrigues am Tata-Institute of Fundamental Research in Mumbai (Indien) zum ersten Mal *Drosophila* als olfaktorischen Modellorganismus. Sie entwickelten olfaktorische Präferenztests für Adulte und Larven der Taufliege, sie analysierten die Eigenschaften duftkontrollierten Verhaltens und machten vom genetischen Potential dieses Insektenmodells durch die Isolation von Geruchsmutanten Gebrauch (RODRIGUES, 1980; SIDDIQI & RODRIGUES, 1980; AYYUB et al., 1990). Etwa zur gleichen Zeit begannen Jean-Marc Jallon und seine Schüler Jean-François Ferveur und Matthew Cobb (am CNRS in Gif-sur-Yvette) am Modell *Drosophila* die Genetik, Evolution und biologische Rolle von Sexuallockstoffen zu untersuchen (Reviews: JALLON, 1984; FERVEUR & JALLON, 1996).

Mein eigener Einstieg in die Geruchsforschung erfolgte über einen Umweg. 1974-75 war ich Postdoktorand am Department of Zoology der University of

Washington in Seattle. Mit John Edwards, John Palka, Lynn Riddiford, Gerold Schubiger und Jim Truman war diese Institution damals eine der wichtigsten Forschungsstätten weltweit im Bereich der Insektenphysiologie. Hier begann ich zunächst das oben erwähnte Phänomen der neuronalen Spezifität am Modell *Drosophila* zu untersuchen. Besonders geeignet dafür erwiesen sich homöotische Mutanten, bei welchen bestimmte Extremitäten durch fremde Extremitäten ersetzt sind. Geschmacks-Sinneszellen die bei wildtypischen Fliegen auf den Beinen sitzen haben ihre Zielregionen im thorakalen Nervensystem, während die Geruchs-Sinneszellen auf den Antennen in den sog. Antennenlobus im Gehirn projizieren. Eine durch eine homöotische Mutation in ein Bein transformierte Antenne - eine Art genetischer Transplantation - erlaubte es zu untersuchen ob die Geschmacks-Sinneszellen dieser Extremität in den Antennenlobus oder in ihre normalen Zielregionen im thorakalen Nervensystem projizieren. Mit anderen Worten, ist die Position dieser Sinneszellen im Körperganzen oder ihre Identität für ihre zentrale Projektion massgebend? Wir fanden zwar dass der Antennenlobus die wichtigste Zielregion des Antennenbeins ist (STOCKER et al., 1976; STOCKER & LAWRENCE, 1981; STOCKER, 1982), konnten durch Stimulation mit einer Zuckerlösung aber nachweisen, dass Fliegen mit diesen beinartigen Antennen tatsächlich schmecken, ganz im Gegensatz zu normalen Antennen (STOCKER, 1977). Ähnliche Ergebnisse wurden später in Freiburg in spektakulären chirurgischen Experimenten meines Mitarbeiters Hans Schmid erzielt. Wir konnten nämlich einen geschmacksbedingten Verhaltensreflex sogar bei Zucker-Stimulation eines ans Abdomen transplantierten überzähligen Beins demonstrieren (SCHMID ET AL., 1986). Offensichtlich wurden sowohl bei genetisch als auch chirurgisch transplantierten Beinen spezifische Reflexwege im Zentralnervensystem ausgebildet.





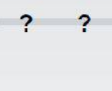
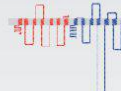

### **Wie ist der Geruchssinn bei Adulten von *Drosophila* organisiert?**

Von den Experimenten mit homöotisch transformierten Antennen war es nur ein kleiner Schritt hin zur Neuausrichtung meines Forschungsgebiets auf den Geruchssinn bei *Drosophila*. Zu diesem Wechsel entschloss ich mich nach meiner Rückkehr von Seattle, zunächst in Basel und ab 1978 in Freiburg. Mich interessierte anfangs vor allem die Frage wie die Geruchs-Sinnesneurone bei *Drosophila* im Antennenlobus, dem primären Duftzentrum im Gehirn repräsentiert werden. Bei Insekten sind üblicherweise

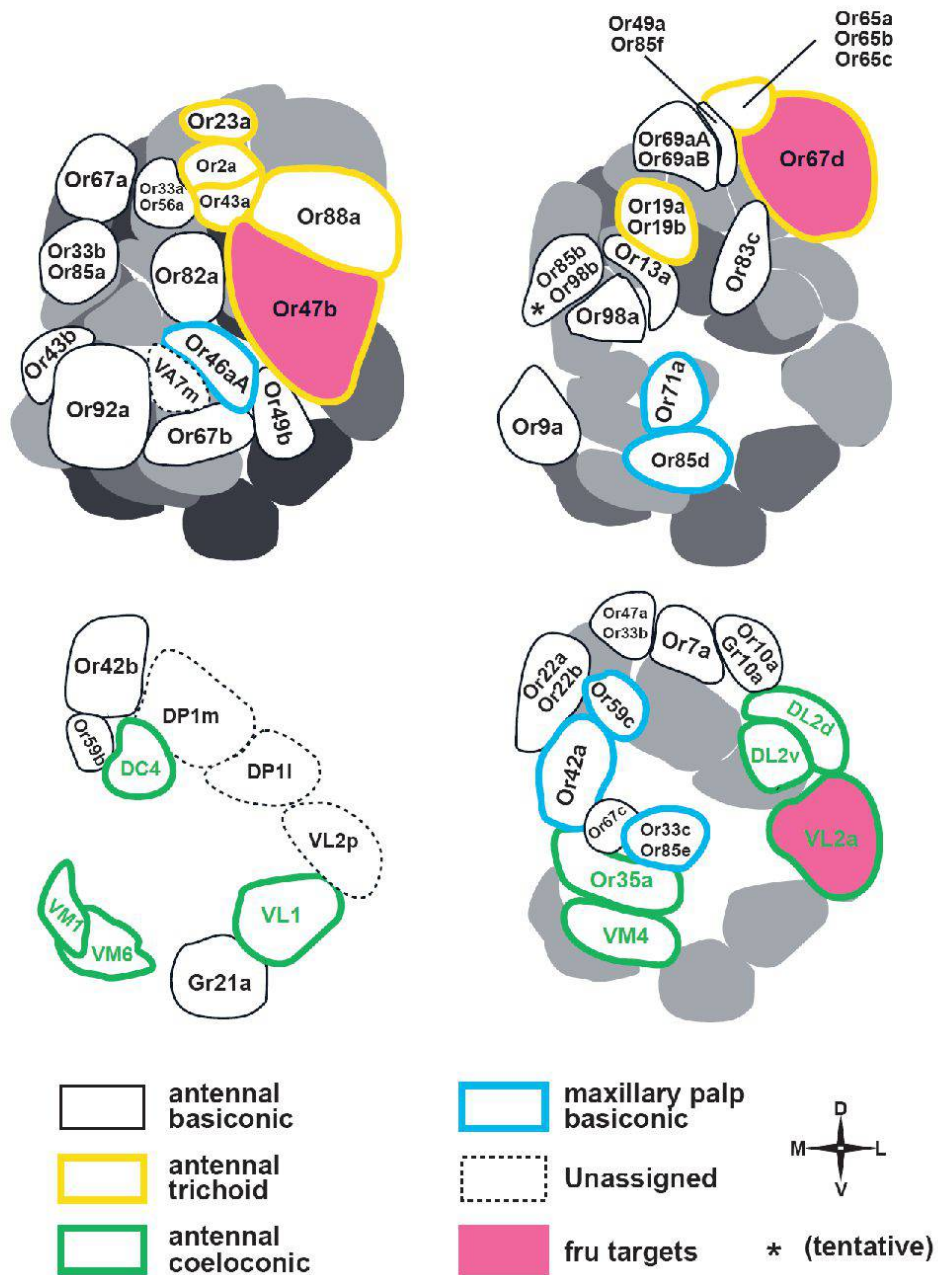


1-4 dieser Sinnesneurone in kleinen haarartigen Strukturen, den Sensillen lokalisiert. Die drei Haupttypen von Geruchssensillen zeigen bei der Taufleie ein spezifisches Muster auf der Antennoberfläche. Die etwa 150 trichoiden Sensillen besetzen mehrheitlich das distale Ende der Antenne, die 250 basiconischen Sensillen die mediale Antennenregion, während die ca. 80 coeloconischen Sensillen relativ unspezifisch angeordnet sind (STOCKER et al., 1983). Ein bäumchenartiger Anhang der Antenne, die Arista, enthält ein weiteres, ganz anders konstruiertes Sensillum. Die feinstrukturelle Analyse seiner sechs Neurone liess vermuten, dass es sich dabei um ein Temperaturorgan handeln könnte (FOELIX et al., 1989). Diese Interpretation wurde kürzlich, nach mehr als 20 Jahren bestätigt (GALLIO et al., 2011).

Wie sind diese verschiedenen Sensillentypen im Antennenlobus repräsentiert? Zur Beantwortung dieser Frage erstellten wir zunächst eine Karte der Glomeruli des Antennenlobus. Wir konnten zeigen, dass jeder der etwa 40-50 Glomeruli durch seine Lage, Grösse und Form identifizierbar ist (STOCKER et al., 1983, 1990). Eine damals neu etablierte Färbetechnik mit Tracersubstanzen erlaubte zum ersten Mal neurale Verbindungen im Insektengehirn in hoher Auflösung darzustellen. In Zusammenarbeit mit Obaid Siddiqi und seiner Gruppe konnten wir nachweisen, dass die vier oben genannten Sensillentypen in unterschiedliche Glomeruli projizieren (STOCKER et al., 1983; LIENHARD & STOCKER, 1987; PINTO ET AL., 1988). Dies liess vermuten, dass die verschiedenen Glomeruli spezifische Funktionen übernehmen (Reviews: STOCKER, 1994, 2001; STOCKER & RODRIGUES, 1999). Dank einem weiteren neuen Werkzeug, den sog. monoklonalen Antikörpern, konnten wir in der Folge die verschiedenen Sensillentypen und ihre Zielglomeruli noch detaillierter beschreiben und klassifizieren (STÖRTKUHL et al., 1994). Ein synapsenspezifischer monoklonaler Antikörper erlaubte uns auch eine 3-dimensionale Rekonstruktion aller Glomeruli des Antennenlobus zu erstellen (LAISSUE et al., 1999)(Fig. 2). Diese Arbeit dient auch heute noch als Grundlage für die Identifikation der Glomeruli von *Drosophila*, wie sie für funktionelle, genetische oder entwicklungsbiologische Studien benötigt wird.

Antenna					Maxillary Palp	Larva
Basiconic sensilla		Trichoid sensilla	Coeloconic sensilla		Basiconic sensilla	Dorsal organ dome
Food odors	CO <sub>2</sub>	Pheromones	Food odors	Water vapor ammonia putrescine	Food odors	Food odors
OrX/Or83b	Gr21a/Gr63a	OrX/Or83b	Or35a/Or83b	IR genes	OrX/Or83b	OrX/Or83b
						
Or83b	Gr21a	Or83b	Or83b	Ir8a	Or83b	Or83b
Or7a	Gr63a	Or2a	Or35a	Ir25a	Or33c	Or1a
Or9a		Or19a		Ir21a	Or42a	Or2a
Or10a		Or19b		Ir31a	Or46aA	Or7a
Gr10a		Or23a		Ir40a	Or59c	Or13a
Or13a		Or43a		Ir64a	Or71a	Or22c
Or22a		Or47b		Ir75a	Or85d	Or24a
Or22b		Or65a		Ir75b	Or85e	Or30a
Or33a		Or65b		Ir75c		Or33a
Or33b		Or65c		Ir75d		Or33b
Or42b		Or67d	cis-vaccenyl acetate	Ir76a		Or35a
Or43b		Or88a		Ir76b		Or42a
Or47a				Ir84a		Or85c
Or49a				Ir92a		Or94a
Or49b				Ir93a		Or94b
Or98b						

**Fig. 3:** Identifikation der Duftrezeptoren von *D. melanogaster*, klassifiziert nach ihrer Expression in verschiedenen Sensillentypen bei Adulten und Larven. Neben der früher identifizierten Familie von Or-Rezeptoren wurde kürzlich eine zweite, unabhängige Familie von Ir-Duftrezeptoren entdeckt (BENTON et al., 2009). Der Rezeptor Or83b fungiert als Korezeptor für andere Or-Rezeptoren. CO<sub>2</sub> bindet an ein Heterodimer zweier Geschmacksrezeptoren (aus VOSSHALL & STOCKER, 2007, verändert; © Annual Reviews, Inc.).



**Fig. 4:** Eine molekulare neuroanatomische Karte des Antennenlobus illustriert die Beziehungen zwischen Duftrezeptoren, Sensillentypen und Glomeruli. Die als "fru targets" markierten Glomeruli dürften bei der Wahrnehmung von Sexuallockstoffen eine Rolle spielen (aus VOSSHALL & STOCKER, 2007; © Annual Reviews, Inc.).



Von 1990 an etablierten sich neue Forschungsgruppen auf dem Feld der Fliegen-Olfaktorik. Das Team von John Carlson an der Yale University begann sich intensiv mit der Genetik und Funktion des Geruchssinns bei *Drosophila* zu befassen. Eine der frühen wissenschaftlichen Errungenschaften dieser Gruppe war die funktionelle Charakterisierung und Kartierung fast aller 500 Antennensensillen, gleichsam als Weiterführung unserer morphologischen Sensillenkarte. Mit aufwendigen elektrophysiologischen Ableitungen von Einzelsensillen gelang es ihnen beispielsweise zu zeigen, dass die 600-700 Sinnesneurone der basiconischen Antennensensillen aus nur 16 funktionellen Typen bestehen. Jeder davon spricht auf eine unterschiedliche Zusammensetzung von Geruchsmolekülen an (DE BRUYNE et al., 2001). Mit diesen neuen Erkenntnissen wurde ein entscheidender Vorteil von *Drosophila* als olfaktorischem Modellsystem offensichtlich, nämlich zum ersten Mal über ein System zu verfügen das die Analyse neurobiologischer Prozesse umfassend im gesamten beteiligten Netzwerk, aber auf dem Niveau identifizierter Zellen ermöglicht.

Das Jahr 1991 brachte einen epochalen Durchbruch in der olfaktorischen Forschung. Den beiden US-Amerikanern Linda Buck und Richard Axel gelang bei Mäusen die seit langem erwartete Entdeckung einer Familie von etwa 1'000 Genen, von denen jedes für ein spezifisches, in die Zellmembran der Sinnesneurone integriertes Duftrezeptor-Protein kodiert (BUCK & AXEL, 1991). Die Wissenschaftler konnten zeigen, dass jeder dieser Rezeptoren für die Bindung und Identifikation eines spezifischen Spektrums von Duftmolekülen verantwortlich ist. Diese bahnbrechenden Erkenntnisse wurden 2004 durch die Verleihung des Medizin-Nobelpreises an die beiden Persönlichkeiten gebührend gewürdigt. War die Aufklärung der primären Dufterkennung an sich schon revolutionär, so ermöglichten diese Entdeckungen nun auch zum ersten Mal olfaktorische Netzwerke auf dem zellulären Niveau zu studieren und ihre Rolle bei der Geruchsidentifikation zu untersuchen.

Ende der 90er Jahre gelang dann auch bei *Drosophila* die Entdeckung einer Familie von Duftrezeptoren, die allerdings nur etwa 60 Mitglieder umfasste (CLYNE et al., 1999; VOSSHALL et al., 1999; Review: VOSSHALL & STOCKER, 2007)(**Fig. 3**). Neue molekulargenetische Techniken ermöglichten darüberhinaus festzustellen welche Rezeptoren in welchen Sinnesneuronen und in welchen Sensillentypen exprimiert werden (HALLEM & CARLSON, 2004), ein



Modellsystem also in welchem die Zusammenhänge zwischen Duft, Rezeptor und Neurontyp in ihrer Gesamtheit kartiert werden können.

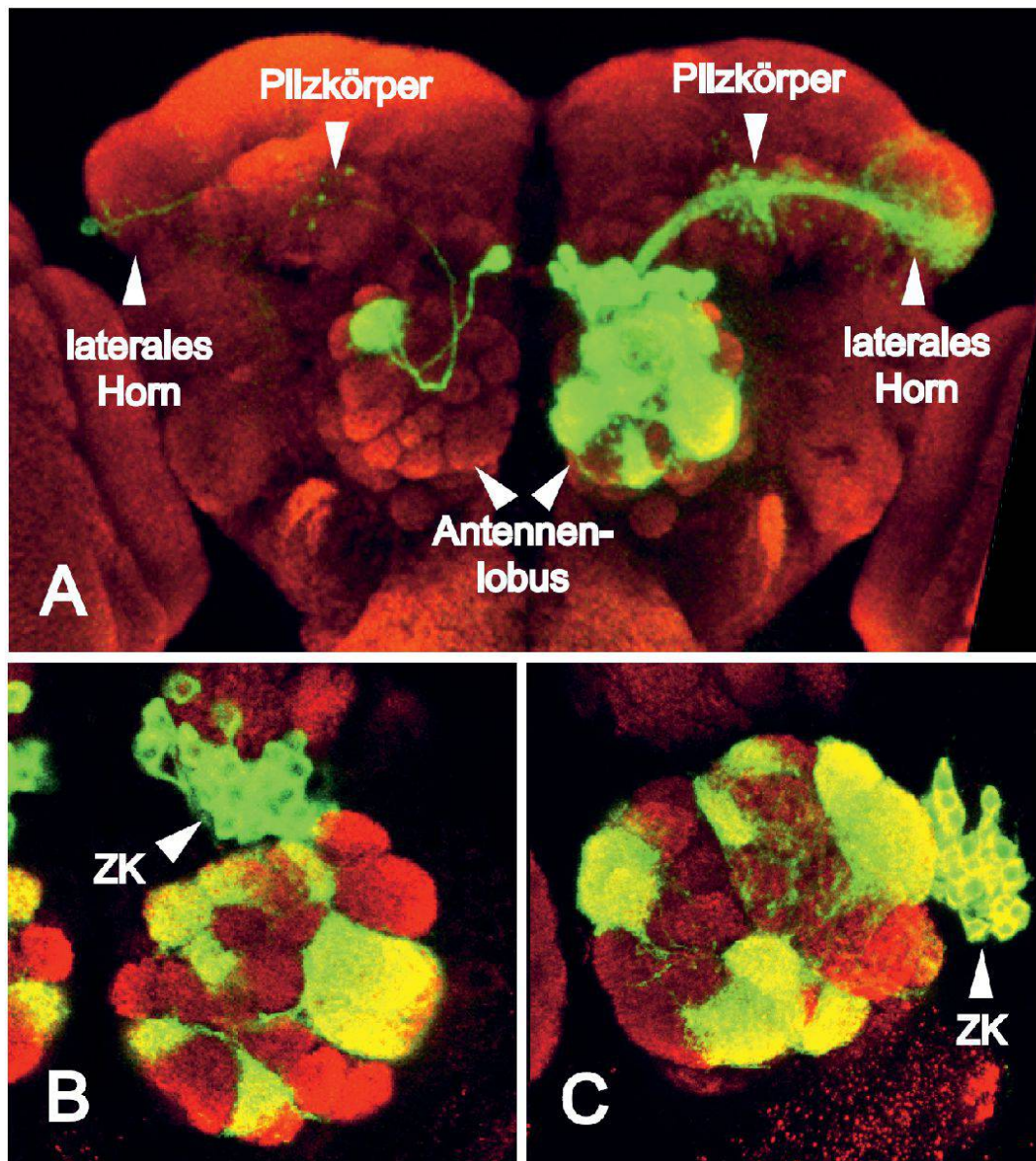
Wie oben schon erwähnt erlaubte die Entdeckung der Rezeptorproteine nun auch die Regeln der Verschaltung olfaktorischer Netzwerke anzugehen. Zur grossen Überraschung zeigte sich eine deutliche Parallele zwischen Säugern und Insekten. In beiden Fällen projizieren nämlich Sinnesneurone die denselben Rezeptor exprimieren in einen gemeinsamen Glomerulus im primären Duftzentrum, und dies obwohl sie in der Nase oder auf der Antenne weit verstreut sind (MOMBAERTS et al., 1998; CLYNE et al., 1999; VOSSHALL et al., 2000; BHALERAO et al., 2003)(Fig. 1). Das Prinzip der glomerulären Konvergenz gilt also für beide Stämme, ungeachtet der Tatsache dass diese schon seit mehr als 600 Millionen Jahren getrennte Wege gegangen sind. Dank der Möglichkeit bei *Drosophila* das gesamte olfaktorische Netzwerk auf dem Einzelzell-Niveau darzustellen lässt sich hier nun die Kartierung des Systems bis auf die Ebene der Glomeruli weiterführen (COUTO et al., 2005; FISHLEVICH & VOSSHALL, 2005). Wir kennen also nicht nur die Rezeptoren bzw. Sinnesneurontypen die einem Duft zugeordnet sind, sondern auch ihre Zielglomeruli im Antennenlobus. Der Antennenlobus transformiert sozusagen die olfaktorische Umwelt in ein räumliches Muster aktivierter Glomeruli. Dass dies tatsächlich so ist, konnte auch unabhängig von der Kenntnis des olfaktorischen Netzwerks, nämlich durch bildgebende Verfahren nachgewiesen werden (WANG et al., 2003). So ist z.B. der sog. Glomerulus V auf die Wahrnehmung von CO<sub>2</sub> spezialisiert (SUH et al., 2004), während zwei andere Glomeruli - wie wir schon früher vermutet hatten - Zielgebiete von Thermorezeptoren der Arista sind (LIENHARD & STOCKER, 1987; FOELIX et al., 1989; GALLIO et al., 2011). Nachdem kürzlich noch eine weitere, unabhängige Familie von Duftrezeptoren entdeckt wurde (BENTON et al., 2009), kann die *Drosophila*-Forschung heute auf eine praktisch vollständige funktionelle Glomeruluskarte des Antennenlobus zurückgreifen (Review: VOSSHALL & STOCKER, 2007)(Fig. 4). Damit wird das grosse Potential einfacher Hirnmodelle deutlich. Nur diese erlauben eine strukturelle und funktionelle Analyse neuraler Netzwerke in ihrer Gesamtheit, aber auf der Ebene identifizierter Zellen.

## Genetische Ansätze für die Analyse des Geruchssinnes bei *Drosophila*

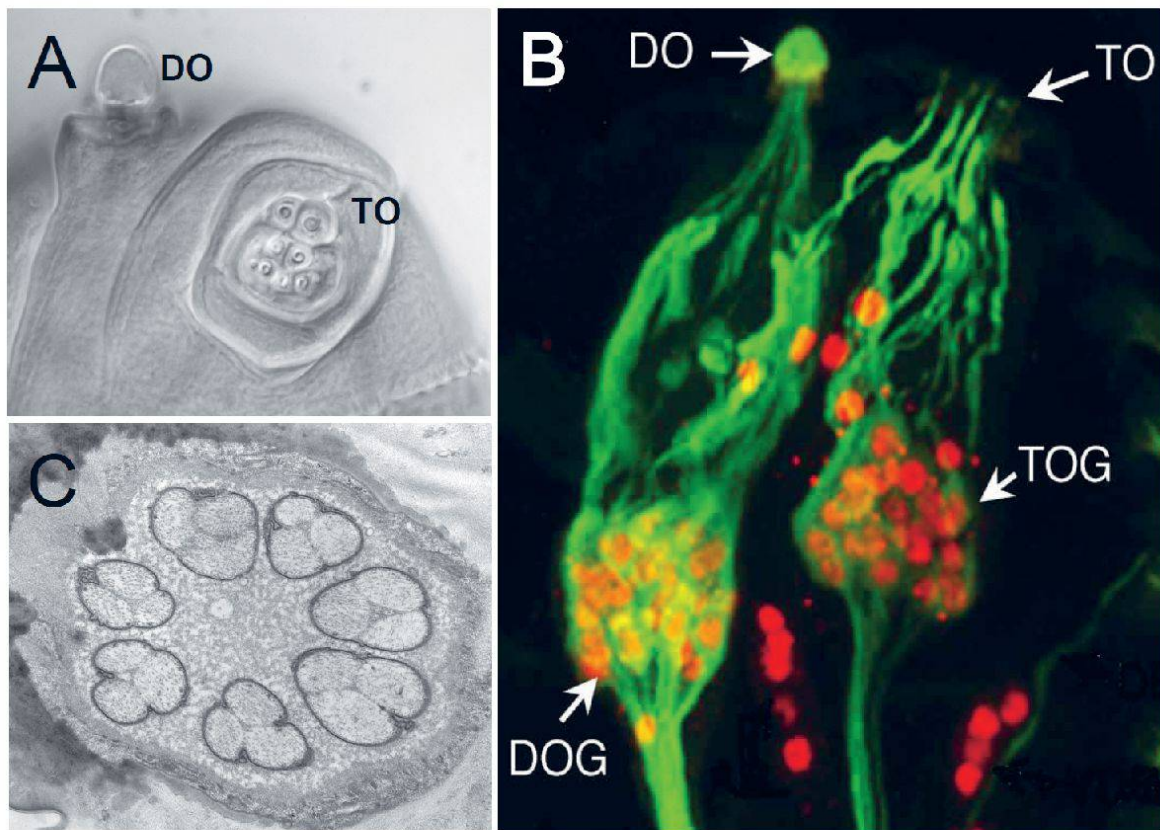
Neben der Untersuchung des olfaktorischen Netzwerks von *Drosophila* setzten wir auch eine Reihe von genetischen Werkzeugen für die Analyse des Geruchssinns ein. Die Mutante *lozenge*, bei welcher basiconische Antennensensillen fehlen (VENARD & STOCKER, 1991; STOCKER et al., 1993), erlaubte uns die Bedeutung dieser Sensillen für die Anatomie des Antennenlobus zu studieren. Bei genetischen Mosaikfliegen deren eine Antenne *lozenge* Genotyp hatte, die aber sonst wildtypisch waren, fehlte der oben erwähnte Glomerulus V im Ziel-Antennenlobus der mutanten Antenne (STOCKER & GENDRE, 1988). Diese Erkenntnisse nahmen den 16 Jahre später ermittelten Befund voraus, dass Sinnesneurone die CO<sub>2</sub>-Rezeptoren exprimieren in basiconischen Sensillen lokalisiert sind und in den Glomerulus V projizieren (SUH et al., 2004). Dank der *lozenge* Mutante konnten wir auch zeigen, dass basiconische Sensillen bei der Wahrnehmung von Sexuallockstoffen keine Rolle spielen: bei *lozenge* Fliegen war nämlich keine veränderte Intensität oder Qualität des Balzverhaltens feststellbar (STOCKER & GENDRE, 1989).

Ganz neue Möglichkeiten einer genetischer Manipulation bei *Drosophila* wurden ab 1990 durch die bahnbrechende GAL4/UAS-Technik eröffnet. Diese Methode erlaubt es stabile genetische Linien zu isolieren, deren Individuen eine Expression eines Transgens in spezifischen Geweben oder Zellen zeigen (BRAND & PERRIMON, 1993). Damit wurde es nicht nur möglich die Anatomie einzelner Neurone im Detail zu beschreiben sondern diese in vielfältiger Weise zu manipulieren, sie z.B. zu aktivieren, funktionell stillzulegen oder zu eliminieren. In Zusammenarbeit mit Jean-François Ferveur in Gif-suf-Yvette gelang es mit dieser Methode in männlichen Fliegen bestimmte Hirnregionen selektiv zu feminisieren. Während normale Männchen Balzverhalten nur gegenüber Weibchen zeigen, taten dies gewisse Mosaikfliegen auch gegenüber anderen Männchen (FERVEUR et al., 1995). Diese Individuen bestanden im wesentlichen aus männlichem Gewebe, aber ihre Gehirne und Antennenloben waren teilweise feminisiert. Diese Hirnbereiche dürften somit bei der Wahrnehmung oder Interpretation von Sexuallockstoffen eine Rolle spielen.





**Fig. 5:** Projektionsneurone, dargestellt durch die GAL4-Linie GH146. A: Diese Zellen verbinden den Antennenlobus mit den beiden höheren Hirnzentren Pilzkörper und laterales Horn. Die rechte Hirnseite zeigt eine Subpopulation von Projektionsneuronen, die linke einen Einzelzellklon. B,C: Die beiden Subpopulationen von Projektionsneuronen in B und C, deren Zellkörper (ZK) unterschiedliche Lage haben, innervieren komplementäre Glomeruli des Antennenlobus (aus JEFFERIS et al., 2001, verändert; © Nature, Macmillan Magazines Ltd.).



**Fig. 6:** Die Larve von *Drosophila* verfügt nur über 21 Geruchs-Sinnesneurone, die im Kopfbereich im sog. Domsensillum (A,B: DO) lokalisiert sind. Ihre terminalen Fortsätze sind in 7 Triplets zusammengefasst (C), die 7 Einzelsensillen entsprechen. Das benachbarte Terminalorgan (A,B: TO) ist das wichtigste Geschmacksorgan der Larve. Die Zellkörper der Sinnesneurone liegen in Ganglien versenkt unterhalb der Sensillen (B: DOG, TOG) (aus GRILLENZONI et al., 2007; © Springer-Verlag; PYTHON et al., 2002a; © John Wiley & Sons, Inc.).



Die GAL4/UAS-Methode war Anlass in meinem Labor intensiv nach GAL4 Linien mit spezifischer Expression im olfaktorischen System zu suchen. Ziel dieser Bestrebungen, die meine Postdoktorandin Gertrud Heimbeck leitete, war es die Rolle der einzelnen zellulären Elemente des olfaktorischen Netzwerks bei der Duftwahrnehmung aufzuklären. Viele der damals identifizierten GAL4-Linien werden auch heute noch als Werkzeuge für funktionelle, entwicklungsbiologische und verhaltensbiologische Fragestellungen verwendet. Die wohl bekannteste Linie, GH146, dient gegenwärtig als wichtigstes genetisches Instrument bei der Analyse der sog. Projektionsneurone, d.h. der Zellen die den Antennenlobus mit den höheren Hirnzentren Pilzkörper und laterales Horn verbinden (STOCKER et al., 1997)(**Fig. 5A**). So konnten wir beispielsweise dank GH146 eine funktionelle Dualität dieser beiden Zentren nachweisen: während das laterale Horn für die Geruchsidentifikation zuständig ist, sind dies die Pilzkörper für das Geruchslernen (HEIMBECK et al., 2001). Als ein Glücksfall erwies sich auch eine weitere in unserem Labor isolierte GAL4-Linie, die interessante Zusammenhänge zwischen dem Geschmackssinn, der Entwicklung und dem Balzverhalten aufdeckte (BALAKIREVA et al., 1998, 2000).

### **Entwicklung des olfaktorischen Systems bei *Drosophila***

Ein anderer Fokus unserer Forschung in den 90er Jahren war die Entwicklung des olfaktorischen Netzwerks der adulten Fliegen, ein Gebiet auf welchem vor allem die Gruppe von Veronica Rodrigues wertvolle Beiträge geleistet hat (Review: RODRIGUES & HUMMEL, 2008). Als wichtigste Werkzeuge dienten uns GAL4 Linien die selektiv in verschiedenen Sensillentypen exprimiert sind. So konnten wir beispielsweise zeigen, dass (1) das Arista-Sensillum, das im Zentrum der Antennenanlage sitzt, als erste sensorische Struktur der Antenne entsteht (LIENHARD & STOCKER, 1991), dass (2) die Anordnung der Neurone des Antennenlobus nicht mit ihrer Entstehungszeit korreliert (STOCKER et al., 1995), dass (3) die Axone der adulten Duft-Sinnesneurone auf ihrem Weg ins Gehirn den larvalen Antennennerv als Leitstruktur benützen und dass (4) die ersten dieser Axone den Antennenlobus 24 Stunden nach der Verpuppung erreichen (TISSOT et al., 1997; Review: TISSOT & STOCKER, 2000). Dank der GAL4 Technik waren wir auch in der Lage die Entwicklung des Antennenlobus auf dem zellulären Niveau zu studieren. Das Expressionsmuster der GH146-Linie zeigte z.B., dass ein grosser Teil der adulten Projektionsneurone von der Larve

übernommen werden, dass aber ihre dendritischen Arborisationen im Antennenlobus während der Metamorphose vollständig reorganisiert werden (STOCKER et al., 1997). In Zusammenarbeit mit Liquun Luo und seinen Mitarbeitern an der Stanford University konnten wir mit genetisch erzeugten Einzelzellklonen (**Fig. 5A**) nachweisen, dass die Projektionsneurone von drei Neuroblasten erzeugt werden und dass zwei der drei Populationen von Projektionsneuronen komplementäre Glomeruli innervieren (**Fig. 5B,C**). Vor allem aber zeigten die Einzelzellklone dass Projektionsneurone autonom spezifiziert werden, ohne Beeinflussung durch Axone der Duft-Sinnesneurone oder andere Neurone im Gehirn (JEFFERIS et al., 2001, 2004). Der Antennenlobus von *Drosophila* ist inzwischen zu einem weit verbreiteten Modellsystem für das Studium der neuronalen Spezifität geworden. Welche genetischen und molekularen Faktoren kontrollieren beispielsweise wie die Duft-Sinnesneurone ihren korrekten Zielglomerulus finden? Die bei *Drosophila* so leicht identifizierbaren Glomeruli (LAISSUE et al., 1999) sowie eine Vielzahl von Mutanten und anderen genetischen Werkzeugen machen es sehr einfach abnorme Innervationsmuster festzustellen und dadurch Rückschlüsse auf die involvierten Faktoren zu ziehen (ANG et al., 2003; HUMMEL et al., 2003; KOMIYAMA et al., 2004; ENDO et al., 2007; LATTEMANN et al., 2007; YAO et al., 2007).

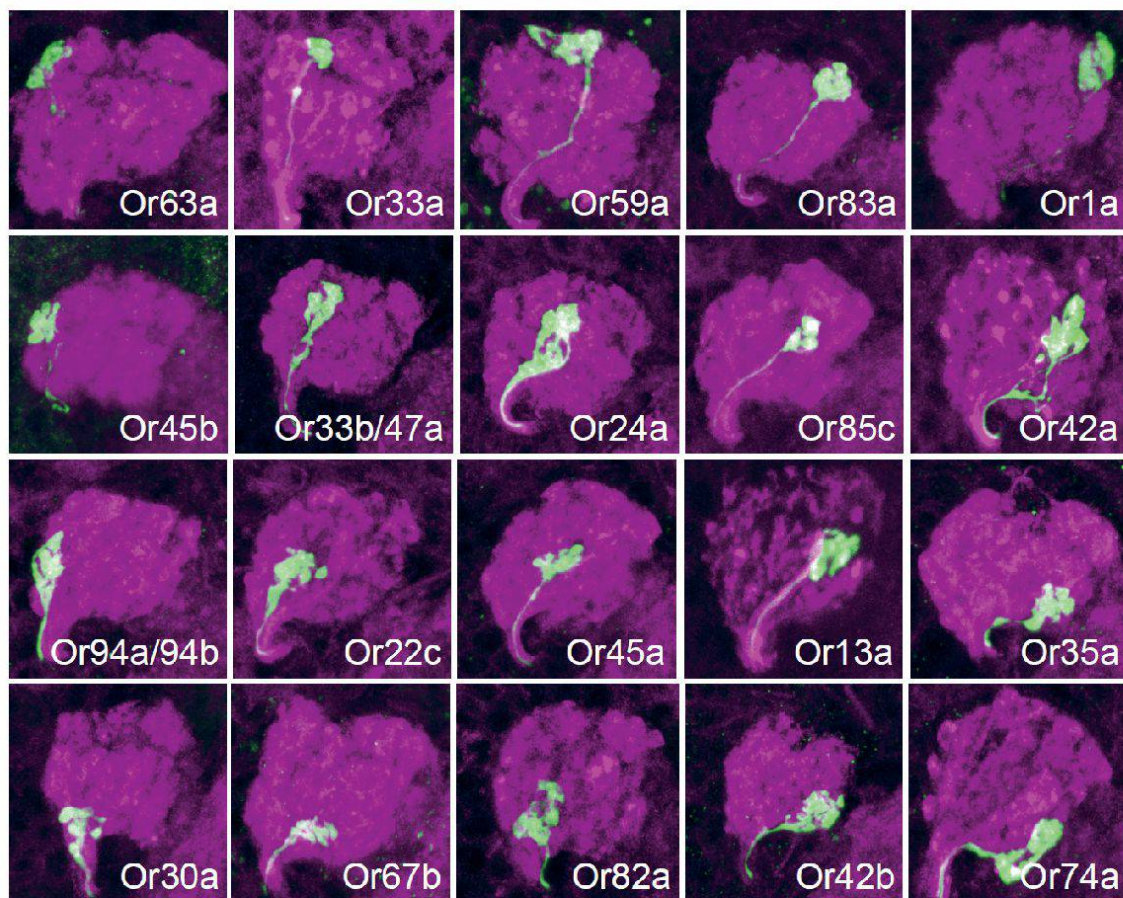
### **Das larvale olfaktorische System: ein noch einfacheres Modellsystem?**

Die Wahl von Insekten als olfaktorischem Modellsystem ist ein typisch reduktionistischer Ansatz. Bei Insekten die eine vollständige Metamorphose durchlaufen, wie z.B. den Fliegen, kann man aber sogar noch einen Schritt weiter gehen. Solche „holometabole“ Insekten bieten neben dem adulten Nervensystem ein noch viel einfacheres larvales Nervensystem als Studienobjekt an, ein System das nur etwa 10% der adulten Neurone umfasst. Mit dieser Überlegung haben wir in den 90er Jahren die Larve von *Drosophila* als ein zweites olfaktorisches (und gleichzeitig auch gustatorisches) Modellsystem gewählt. Erste Befunde über die Organisation und Funktion der larvalen chemosensorischen Netzwerke erhielten wir durch Verhaltenstests nach der Blockierung spezifischer Duft- und Geschmacks-Sinnesneurone mit neu isolierten GAL4 Linien (HEIMBECK et al., 1999). Im Gegensatz zur adulten Antenne mit ihren 1'200 Duft-Sinnesneuronen besitzt die Larve nur 21 dieser Zellen, die im sog. Domsensillum am Vorderende des Tiers lokalisiert sind (**Fig. 6**). Wir konnten zeigen, dass der Dom aus der



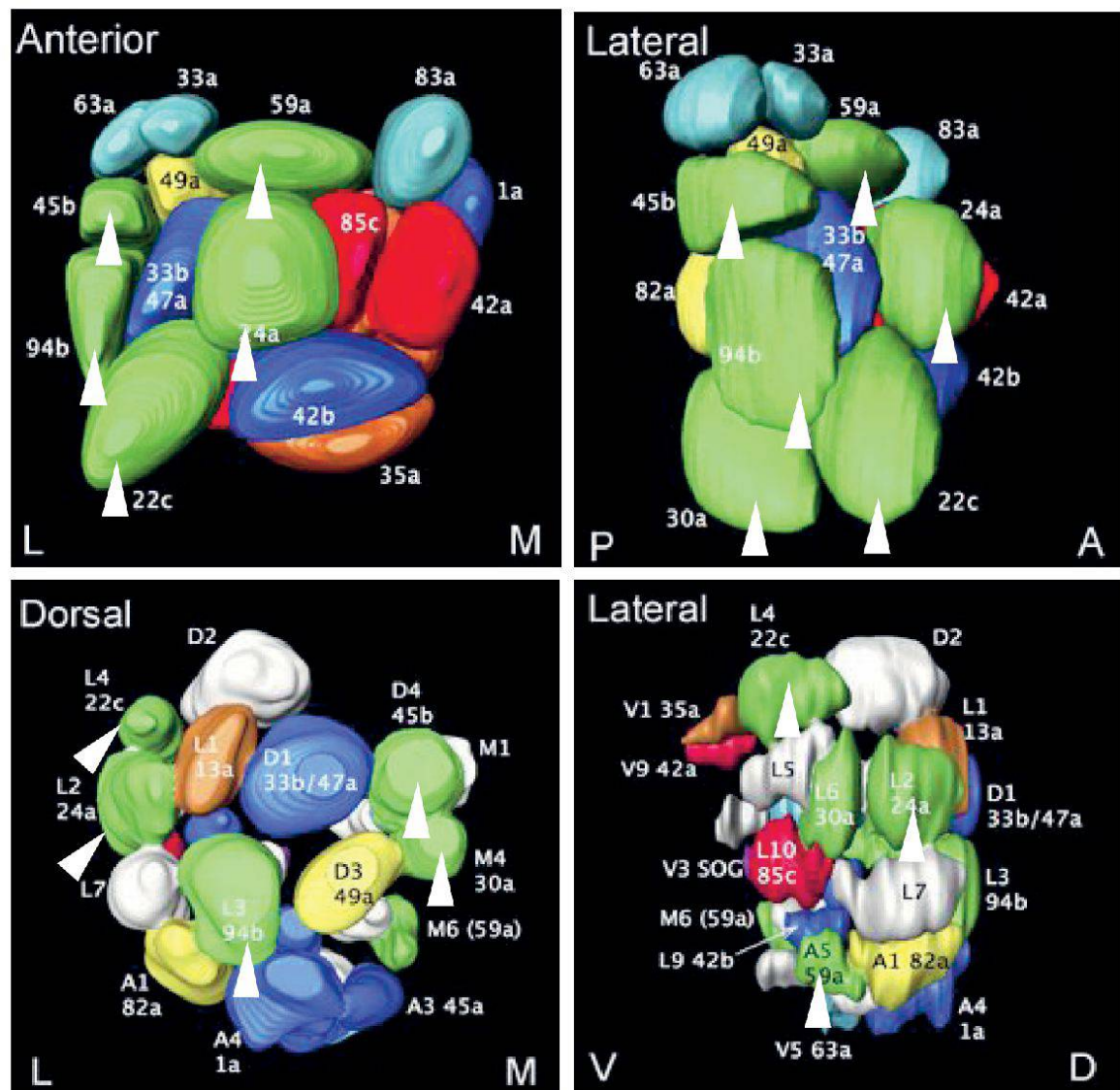
Fusion von 7 Einzelsensillen entsteht und dass, wie bei anderen Sensillen, sog. proneurale Gene an ihrer Entstehung beteiligt sind (GRILLENZONI et al., 2007).

Erlaubt nun aber ein zahlenmässig derart reduziertes olfaktorisches Netzwerk überhaupt noch Rückschlüsse auf die Funktion eines komplexeren Systems? Für die Beantwortung dieser Frage war es wichtig zu wissen ob das larvale olfaktorische System quasi ein miniaturisiertes adultes System darstellt oder ob es ganz anderen, larvenspezifischen Kriterien gehorcht. Eine detaillierte Untersuchung seiner Organisation (PYTHON et al., 2002a) und der in den verschiedenen Zelltypen exprimierten Neurotransmitter (PYTHON et al., 2002b) zeigte, dass alle wichtigen anatomischen und neurochemischen Eigenschaften, wie sie vom adulten System bekannt sind, auch für die Larve gelten. Ein Geruchswahrnehmungssystem mit nur 21 Sinnesneuronen, zusammen mit den vielfältigen Möglichkeiten der genetischen Manipulation bei *Drosophila*, bot sich förmlich an für eine Netzwerkanalyse auf dem Niveau einzelner, identifizierter Zellen. Einzelzellklone zeigten uns, dass jede der 21 Sinneszellen ihren eigenen Zielglomerulus im Antennenlobus besitzt, dass folglich jeder Glomerulus im Gegensatz zum Adultstadium nur durch ein einziges Sinnesneuron innerviert ist (RAMAEKERS et al., 2005). Andere Studien demonstrierten, dass mit wenigen Ausnahmen jede der 21 Zellen nur einen einzigen Typ Duftrezeptor exprimiert (FISHILEVICH et al., 2005; KREHER et al., 2005). Das larvale olfaktorische Netzwerk ist also grundsätzlich ähnlich organisiert wie sein adultes Gegenstück, aber im Unterschied zu letzterem ist hier jede Sinneszelle ein Unikat. 21 verschiedene Rezeptor-GAL4 Linien (**Fig. 7**) erlaubten uns dann eine 3-dimensionale glomeruläre Karte des larvalen Antennenlobus zu erstellen (MASUDANAKAGAWA et al., 2009)(**Fig. 8**), analog zu unserer früheren Rekonstruktion des adulten Antennenlobus (LAISSUE et al., 1999)(**Fig. 2**). Da die wichtigsten Duftliganden der larvalen Rezeptoren bekannt sind (KREHER et al., 2008; ASAHINA et al., 2009), ist unsere Rekonstruktion nicht nur ein topographischer sondern auch ein funktioneller Atlas, welcher die Zuordnung spezifischer Düfte zu jedem Glomerulus erlaubt.



**Fig. 7:** Jedes der 21 Geruchs-Sinnesneurone der Larve projiziert stereotyp in einen eigenen Glomerulus im larvalen Antennenlobus (illustriert in 20 Fällen). Die Terminologie macht deutlich, dass mit wenigen Ausnahmen jedes Neuron nur einen Typ Duftrezeptor exprimiert (aus MASUDA-NAKAGAWA et al., 2009, verändert; © National Academy of Sciences).





**Fig. 8:** *Glomerulikarte des larvalen Antennenlobus (obere Reihe) und des larvalen Calyx, des Eingangsbereichs der Pilzkörper (untere Reihe). Jedes der beiden Duftzentren bildet das olfaktorische Umfeld als ein räumliches Muster ab. Die beiden Muster sind allerdings qualitativ verschieden, was ein Vergleich der Glomeruli die auf aromatische Moleküle ansprechen (weisse Pfeile) demonstriert: diese liegen im Antennenlobus dicht beieinander (in der lateralen Region), im Calyx hingegen nicht (aus MASUDA-NAKAGAWA et al., 2009, verändert; © National Academy of Sciences).*

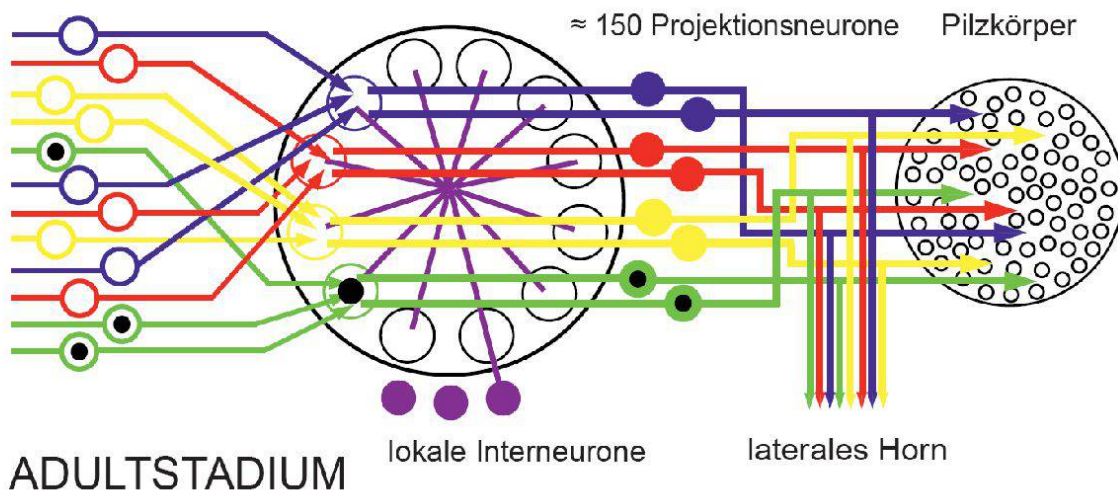
Die GH146 Linie machte es uns auch möglich die anatomisch-funktionelle Karte des Antennenlobus weiter bis in höhere Hirnzentren zu verfolgen. Einzelzellklone von larvalen Projektionsneuronen zeigten, dass im allgemeinen jeder Glomerulus des Antennenlobus stereotyp mit einem spezifischen Glomerulus in der sog. Calyxregion der larvalen Pilzkörper verknüpft ist (RAMAEKERS et al., 2005; MASUDA-NAKAGAWA et al., 2009)(**Fig. 8**). Damit wird offensichtlich, dass sowohl im primären als auch im höheren Duftzentrum die olfaktorische Umwelt in räumlichen - wenn auch qualitativ unterschiedlichen - Mustern repräsentiert wird. Ähnliches ist auch vom adulten olfaktorischen Netzwerk bekannt (MARIN ET AL., 2002; WONG et al., 2002).

In den letzten beiden Jahren haben wir uns einem bisher wenig untersuchten Zelltyp des larvalen olfaktorischen Systems gewidmet, den sog. lokalen Interneuronen. Ihre Aufgabe ist es die einzelnen Glomeruli des Antennenlobus untereinander zu verbinden. Im Gegensatz zum oben beschriebenen Netzwerk der Sinnes- und Projektionsneurone zeigte sich hier ein erstaunlicher Unterschied zum adulten Gehirn, indem bei der Larve die meisten der lokalen Interneurone Kollateralen in die primären Geschmackszentren ausbilden (THUM et al., 2011). Dies ist im Adulttier nicht der Fall.

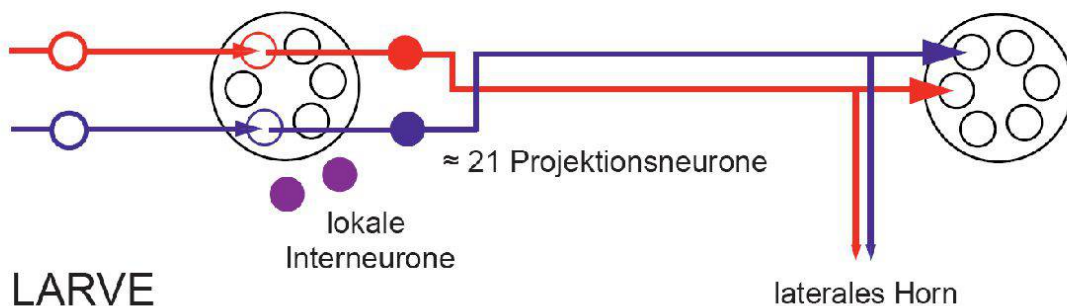
Zusammengefasst ist also das larvale olfaktorische Netzwerk in seiner Organisation - mit Ausnahme der lokalen Interneurone - dem adulten Netzwerk (und damit auch demjenigen der Säuger) sehr ähnlich (Review: STOCKER, 2008)(**Fig. 9**). Im Gegensatz zu den letzteren beiden ist aber bei der Larve jede Zelle ein Unikat. Glomeruli sind hier somit keine Orte der Konvergenz sensorischer Eingänge. Die Sensitivität des larvalen Duftsinns dürfte folglich relativ bescheiden sein, was aber für eine Larve die direkt auf dem Futter lebt nicht nachteilig sein muss (RAMAEKERS et al., 2005). Adulte Fliegen sind hingegen für das Auffinden neuer Futterquellen oder Geschlechtspartner auf einen wirkungsvollen olfaktorischen "Fernsinn" angewiesen. Die auffälligen Verbindungen zwischen olfaktorischen und gustatorischen Zentren bei Larven sprechen für besonders enge Beziehungen zwischen den beiden chemischen Sinnen, was möglicherweise ebenfalls mit der substratgebundenen Lebensweise des Larvenstadiums zusammenhängt (THUM et al., 2011).



1'300 Sinnesneurone : 50 Glomeruli (26 : 1 Konvergenz !)

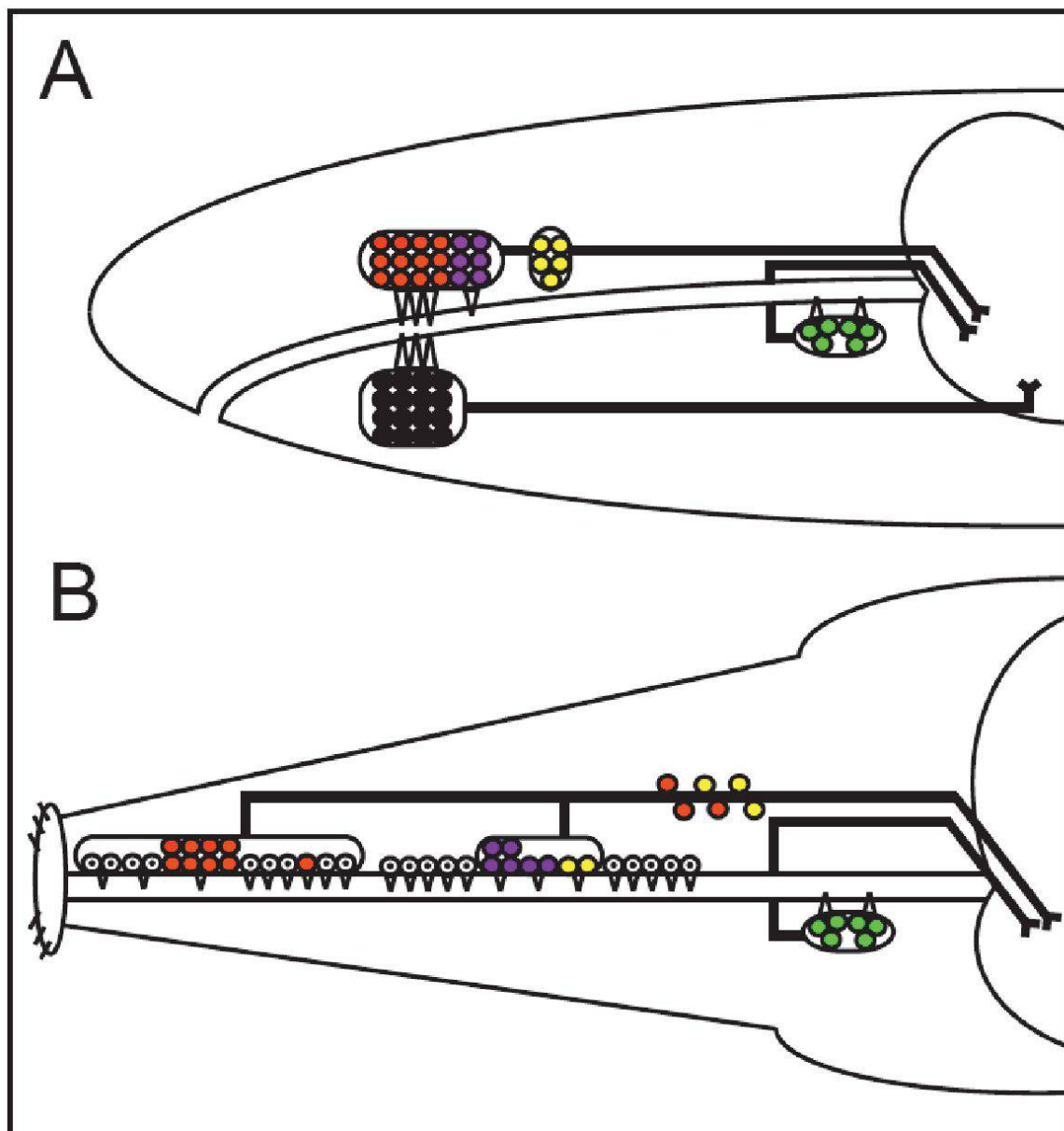


21 Sinnesneurone : 21 Glomeruli (keine Konvergenz !)



**Fig. 9:** Das olfaktorische Netzwerk der Larve ist grundsätzlich ähnlich organisiert wie sein Gegenstück in der adulten Fliege (und damit auch wie dasjenige der Säuger). Im Unterschied zu den letzteren beiden ist aber bei der Larve jede Zelle ein Unikat. Glomeruli sind hier also keine Orte der Konvergenz sensorischer Eingänge. Damit dürfte die Sensitivität des larvalen Duftsinns relativ bescheiden sein. Das für die Wahrnehmung von Sexuallockstoffen zuständige Netzwerk im Adultstadium (mit dunklen Punkten markiert) fehlt bei der Larve (aus RAMAEKERS et al., 2005, verändert; © Elsevier Ltd.).





*Fig. 10: Metamorphose der Geschmacks-Sensillen des Pharynx, analysiert auf dem Niveau identifizierter Zellen. Entgegen der klassischen Auffassung degeneriert nur ein Teil der larvalen Sinnesneurone (A: schwarz markiert). Die meisten Neurone werden in das adulte System (B) übernommen (markiert durch verschiedene Farben) und viele zusätzliche entstehen während der Metamorphose neu (punktiert) (aus GENDRE et al., 2004, verändert; © The Company of Biologists).*

## **Der larvale Geschmackssinn**

Die Existenz von vielen zellspezifisch exprimierten GAL4 Linien gab uns die Gelegenheit auch das larvale gustatorische Netzwerk im Detail auf der zellulären Ebene zu beschreiben (COLOMB et al., 2007). Diese Erkenntnisse wurden besonders durch die Nachbarschaft des primären Geschmackszentrums mit den sog. hugin Neuronen interessant. Diese spielen nachweislich eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Nahrungsaufnahme (MELCHER & PANKRATZ, 2005; BADER et al., 2007).

Schliesslich haben wir auch die Metamorphose eines einfachen, nur etwa 30 Neurone umfassenden gustatorischen Teilsystems im Detail verfolgt, nämlich der Sensillen des Pharynx. Ihre Aufgabe ist es die Zusammensetzung der aufgenommenen Nahrung zu prüfen. Entgegen der klassischen Auffassung, dass die larvale Sensorik während der Metamorphose vollständig degeneriert, beobachteten wir eine hochkomplexe Transformation dieses Systems, welche Zelltod, neuronale Reorganisation und die Entstehung neuer Sinnesneurone umfasst (GENDRE et al., 2004)(Fig. 10).

## **Die Larve als ein elementares Modell für chemosensorisches Lernen**

Vor etwa 10 Jahren hatte ich das Glück einen exzellenten Forscher, Bertram Gerber, für eine Zusammenarbeit auf dem Gebiet der Larvenbiologie gewinnen zu können. Sein wissenschaftliches Interesse galt seit jeher dem Lernen und Gedächtnis, vitalen Errungenschaften aller tierischen Organismen. Wiederum basierend auf dem Argument der geringen Zellzahl und der einfachen Organisation des larvalen Nervensystems begann er, als einer der Ersten weltweit, die Larve von *Drosophila* als ein elementares Modell für assoziatives Lernen zu studieren. Er entwickelte eine Reihe von appetitiven und aversiven Lerntests, mit dem Ziel die Rolle von Duft- oder Licht-Stimuli beim assoziativen Lernen aufzuklären (SCHERER et al., 2003; GERBER et al., 2004). Als Belohnungsreiz diente Zucker, als Strafreiz z.B. Salz in hoher Konzentration. Aus der Komplementarität seiner Experimente mit unseren olfaktorischen und gustatorischen Studien ergaben sich äusserst fruchtbare Wechselwirkungen (Reviews: GERBER & STOCKER, 2007; GERBER et al., 2009). Von seinen neu etablierten Verhaltenstests profitierte meine Gruppe auch ganz direkt (COLOMB et al., 2007).

Seit 2006 wurde durch die Ankunft eines weiteren hervorragenden Mitarbeiters, Andreas Thum, larvales Lernen in meinem Labor als ein zweites Forschungsthema immer wichtiger. Ziel war es das neurale Substrat der verschiedenen Formen des Duftlernens vollständig und auf der Ebene identifizierter Zellen zu charakterisieren. Dazu diente ein auf der GAL4 Technik beruhender verhaltensbiologisch-neuroanatomischer Ansatz. Larven deren potentiell am Lernprozess beteiligte Neurone stillgelegt worden waren, wurden Lerntests unterworfen; parallel dazu wurden diese Neurone anatomisch beschrieben und kartiert. So konnte z.B. für das larvale Lernen die Rolle von Netzwerken aufgeklärt werden welche Dopamin, Oktopamin oder Serotonin als Neuromodulatoren exprimieren (SELCHO et al., 2010; SELCHO et al., IN PREP.; HUSER et al., in prep.). Diese biogenen Amine sind auch für Lernprozesse der Säuger essentiell. Andere Schwerpunkte waren der Vergleich von gustatorisch und Elektroschock-induziertem aversivem Lernen (PAULS et al., 2010a) und der Nachweis, dass die während der Embryonalphase entstandenen Neurone der Pilzkörper für larvales Lernen genügen (PAULS et al., 2010b).

## **Ausblick und Dank**

Ziel unserer Forschung war es den klassischen genetischen Modellorganismus *Drosophila* mit seinen unzähligen experimentellen Möglichkeiten auch für das Studium des Geruchssinns und des Geruchslernens einzusetzen. Besonders hilfreich dafür erwies sich das einfache olfaktorische Netzwerk der Larve, das uns erlaubte die anatomische und funktionelle Organisation eines Dufterkennungssystems weltweit zum ersten Mal vollständig und auf dem Niveau identifizierter Zellen analysieren, und zwar von der Peripherie bis in höhere Hirnzentren. Die letzten Jahre unserer Arbeiten waren ausserdem von fruchtbaren Interaktionen zwischen olfaktorischer Forschung und Lernforschung geprägt.

Ich möchte diesen Artikel nicht abschliessen ohne meinen wissenschaftlichen Mitarbeiter(inne)n, Doktorand(inn)en und Studierenden für ihren konstruktiven Einsatz während der 30 Jahre meines Forscherlebens an der Universität Freiburg herzlich zu danken. Besonders gilt dies für meine Mitarbeiterin Nanaë Gendre, die während mehr als 25 Jahren meine Projekte koordiniert, durchgeführt und oft auch ausgewertet hat. Mein Dank geht ebenso an die auswärtigen Gruppen mit denen wir zusammengearbeitet



hatten, an meine Kolleginnen und Kollegen im Departement Biologie und in der Naturwissenschaftlichen Fakultät sowie an die Universität Freiburg für die Bereitstellung der notwendigen personellen und materiellen Infrastruktur.

Meine Forschung wäre nicht möglich gewesen ohne die Unterstützung einer Vielzahl von Geldgebern, ganz besonders dem Schweizerischen Nationalfonds, aber auch dem Human Frontier Science Project, der Roche Research Foundation, der Sandoz-Stiftung, der Fondation Aetas, der Janggen-Pöhn Stiftung und der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften. Ihnen allen sei herzlich gedankt.

U. Jenni und A. Ramaekers danke ich für eine kritische Durchsicht des Manuskripts.

### **Literatur**

- ANG, L.H., KIM, J., STEPENSKY, V. & HING, H.: Dock and Pak regulate olfactory axon pathfinding in *Drosophila*. *Development* 130, 1307-1316 (2003).
- ASAHINA, K., LOUIS, M., PICCINOTTI, S. & VOSSHALL, L.B.: A circuit supporting concentration-invariant odor perception in *Drosophila*. *J. Biol.* 8(1):9. Epub 2009 Jan 26 (2009).
- AYYUB, C., PARANJAPPE, J., RODRIGUES, V. & SIDDIQI, O.: Genetics of olfactory behavior in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurogenet.* 6, 243-262 (1990).
- BADER, R., COLOMB, J., PANKRATZ, B., SCHRÖCK, A., STOCKER, R.F. & PANKRATZ, M.J.: Genetic dissection of neural circuit anatomy underlying feeding behavior in *Drosophila*: distinct classes of *hugin* expressing neurons. *J. Comp. Neurol.* 502, 848-856 (2007).
- BALAKIREVA, M., GENDRE, N., STOCKER, R.F. & FERVEUR, J.F.: The genetic variant *Voila* causes gustatory defects during *Drosophila* development. *J. Neurosci.* 20, 3425-3433 (2000).
- BALAKIREVA, M., STOCKER, R.F., GENDRE, N. & FERVEUR, J.F.: *Voila*: A new *Drosophila* courtship variant that affects the nervous system: Behavioral, neural and genetic characterization. *J. Neurosci.* 18, 4335-4343 (1998).
- BENTON, R., VANNICE, K.S., GOMEZ-DIAZ, C. & VOSSHALL, L.B.: Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell* 136, 149-162 (2009).
- BHALERAO, S., SEN, A., STOCKER, R.F. & RODRIGUES, V.: Olfactory neurons expressing identified receptor genes project to subsets of glomeruli within

- the antennal lobe of *Drosophila melanogaster*. J. Neurobiol. 54, 577-592 (2003).
- BRAND, A.H. & PERRIMON, N.: Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. Development 118, 401-415 (1993).
- BUCK, L. & AXEL, R.: A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. Cell 65, 175-187 (1991).
- CLYNE, P.J., WARR, C.G., FREEMAN, M.R., LESSING, D., KIM, J. & CARLSON, J.R.: A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: candidate odorant receptors in *Drosophila*. Neuron 22, 327-338 (1999).
- COLOMB, J., GRILLENZONI, N., RAMAEKERS, A. & STOCKER, R.F.: Architecture of the primary taste center of *Drosophila melanogaster* larvae. J. Comp. Neurol. 502, 834-847 (2007).
- COLOMB, J., GRILLENZONI, N., STOCKER, R.F. & RAMAEKERS A.: Complex behavioural changes after odour exposure in *Drosophila* larvae. Anim. Behav. 73, 587-594 (2007).
- COUTO, A., ALENUS, M. & DICKSON, B.J.: Molecular, anatomical, and functional organization of the *Drosophila* olfactory system. Curr. Biol. 15, 1535-1547 (2005).
- DE BRUYNE, M., FOSTER, K. & CARLSON, J.R.: Odor coding in the *Drosophila* antenna. Neuron 30, 537-552 (2001).
- ENDO, K., AOKI, T., YODA, Y., KIMURA, K.I. & HAMA, C.: Notch signal organizes the *Drosophila* olfactory circuitry by diversifying the sensory neuronal lineages. Nat. Neurosci. 10, 153-160 (2007).
- FERVEUR, J.F. & JALLON, J.M.: Genetic control of male cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. Genet. Res. 67, 211-218 (1996).
- FERVEUR, J.F., STÖRTKUHL, K.F., STOCKER, R.F. & GREENSPAN, R.J.: Genetic feminization of brain structures and changed sexual orientation in male *Drosophila melanogaster*. Science 267, 902-905 (1995).
- FISHILEVICH, E., DOMINGOS, A.I., ASAHINA, K., NAEF, F., VOSSHALL, L.B. & LOUIS, M.: Chemotaxis behavior mediated by single larval olfactory neurons in *Drosophila*. Curr. Biol. 15, 2086-2096 (2005).
- FISHILEVICH, E. & VOSSHALL, L.B.: Genetic and functional subdivision of the *Drosophila* antennal lobe. Curr. Biol. 15, 1548-1553 (2005).
- FOELIX, R.F., STOCKER, R.F. & STEINBRECHT, R.A.: Fine structure of a sensory organ in the arista of *Drosophila melanogaster* and some other dipterans. Cell Tiss. Res. 258, 277-287 (1989).



- GENDRE, N., LÜER, K., FRICHE, S., GRILLENZONI, N., RAMAEKERS, A., TECHNAU, G.M. & STOCKER, R.F.: Integration of complex larval chemosensory organs into the adult nervous system of *Drosophila*. *Development* 131, 83-92 (2004).
- GERBER, B., SCHERER, S., NEUSER, K., MICHELS, B., HENDEL, T., STOCKER, R.F. & HEISENBERG, M.: Visual learning in individually assayed *Drosophila* larvae. *J. Exp. Biol.* 207, 179-188 (2004).
- GERBER, B. & STOCKER, R.F.: The *Drosophila* larva as a model for studying chemosensation and chemosensory learning: a review. *Chem. Senses* 32, 65-89 (2007).
- GERBER, B., STOCKER, R.F., TANIMURA, T. & THUM, A.S.: Smelling, tasting, learning: *Drosophila* as a study case. In: "Chemosensory Systems in Mammals, Fishes, and Insects" (ed. S. Korsching & W. Meyerhof), pp. 139-185, Springer Review Series "Results and Problems in Cell Differentiation" (2009).
- GRILLENZONI, N., DE VAUX, V., MEUWLY, J., VUICHARD, S., GENDRE, N. & STOCKER, R.F.: Role of proneural genes in the formation of the larval olfactory organ of *Drosophila*. *Devel. Genes Evol.* 217, 209-219 (2007).
- HALLEM, E.A. & CARLSON, J.R.: Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell* 125, 143-160 (2006).
- HEIMBECK, G., BUGNON, V., GENDRE, N., HÄBERLIN, C. & STOCKER, R.F.: Smell and taste perception in *Drosophila melanogaster* larva: toxin expression studies in chemosensory neurons. *J. Neurosci.* 19, 6599-6609 (1999).
- HEIMBECK, G., BUGNON, V., GENDRE, N., KELLER, A. & STOCKER, R.F.: A central neural circuit for experience-independent olfactory and courtship behavior in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 15336-15341 (2001).
- HUMMEL, T., VASCONCELOS, M.L., CLEMENS, J.C., FISHLEVICH, Y., VOSSHALL, L.B. & ZIPURSKY, S.L.: Axonal targeting of olfactory receptor neurons in *Drosophila* is controlled by Dscam. *Neuron* 37, 221-231 (2003).
- HUSER, A., ROHWEDDER, A., MAIOLO, E., SELCHO, M., PAULS, D., VON ESSEN, A., GUPTA, T., SPRECHER, S.G., BIRMAN, S., RIEMENSPERGER, T., STOCKER, R.F. & THUM, A.S.: The serotonergic system of the *Drosophila* larva: Anatomy and behavioral function (in preparation).
- KARLSON, P. & SCHNEIDER, D.: Sexualpheromone der Schmetterlinge als Modelle chemischer Kommunikation. *Naturwiss.* 60, 113-121 (1973).

- KOMIYAMA, T., CARLSON, J.R. & LUO, L.: Olfactory receptor neuron axon targeting: intrinsic transcriptional control and hierarchical interactions. *Nat. Neurosci.* 7, 819–825 (2004).
- KREHER, S.A., KWON, J.Y. & CARLSON, J.R.: The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* larva. *Neuron* 46, 445–456 (2005).
- KREHER, S.A., MATHEW, D., KIM, J. & CARLSON, J.R.: Translation of sensory input into behavioral output via an olfactory system. *Neuron* 59, 110–124 (2008).
- JALLON, J.M.: A few chemical words exchanged by *Drosophila* during courtship and mating. *Behav. Genet.* 14, 441–478 (1984).
- JEFFERIS, G.S.X.E., MARIN, E.C., STOCKER, R.F. & LUO, L.L.: Target neuron prespecification in the olfactory map of *Drosophila*. *Nature* 414, 204–208 (2001).
- JEFFERIS, G.S.X.E., VYAS, R.M., BERDNIK, D., RAMAEKERS, A., STOCKER, R.F., TANAKA, N.K., ITO, K. & LUO, L.: Developmental origin of wiring specificity in the olfactory system of *Drosophila*. *Development* 131, 117–130 (2004).
- LAISSUE, P.P., REITER, C., HIESINGER, P.R., HALTER, S., FISCHBACH, K.F. & STOCKER, R.F.: Three-dimensional reconstruction of the antennal lobe in *Drosophila melanogaster*. *J. Comp. Neurol.* 405, 543–552 (1999).
- LATTEMANN, M., ZIERAU, A., SCHULTE, C., SEIDL, S., KUHLMANN, B. & HUMMEL, T.: Semaphorin-1a controls receptor neuron-specific axonal convergence in the primary olfactory center of *Drosophila*. *Neuron* 53, 169–184 (2007).
- LIENHARD, M.C. & STOCKER, R.F.: Sensory projection patterns of supernumerary legs and aristae in *D. melanogaster*. *J. Exp. Zool.* 244, 187–201 (1987).
- LIENHARD, M.C. & STOCKER, R.F.: The development of the sensory neuron pattern in the antennal disc of wild-type and mutant ( $lz^3$ ,  $ss^a$ ) *Drosophila melanogaster*. *Development* 112, 1063–1075 (1991).
- MARIN, E.C., JEFFERIS, G.S.X.E., KOMIYAMA, T., ZHU, H. & LUO, L.: Representation of the glomerular olfactory map in the *Drosophila* brain. *Cell* 109, 243–255 (2002).
- MASUDA-NAKAGAWA, L.M., GENDRE, N., O’KANE, C.J. & STOCKER, R.F.: Localized representation of olfactory input in the mushroom bodies of *Drosophila* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 10314–10319 (2009).
- MELCHER, C. & PANKRATZ, M.J.: Candidate gustatory interneurons modulating feeding behavior in the *Drosophila* brain. *PLoS Biol.* 3(9), e305 (2005).



- MOMBAERTS, P., WANG, F., DULAC, C., CHAO, S.K., NEMES, A., MENDELSON, M., EDMONDSON, J. & AXEL, R.: Visualizing an olfactory sensory map. *Cell* 87, 675-686 (1996).
- PAULS, D., PFITZENMAIER, J.E.R., KREBS-WHEATON, R., SELCHO, M., STOCKER, R.F. & THUM, A.S.: Electric shock-induced associative olfactory learning in *Drosophila* larvae. *Chem. Senses* 35, 335-346 (2010a).
- PAULS, D., SELCHO, M., GENDRE, N., STOCKER, R.F. & THUM, A.S.: *Drosophila* larvae establish appetitive olfactory memories via mushroom body neurons of embryonic origin. *J. Neurosci.* 30, 10655-10666 (2010b).
- PINTO, L., STOCKER, R.F. & RODRIGUES, V.: Anatomical and neurochemical classification of the antennal glomeruli in *Drosophila melanogaster*. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 17, 335-344 (1988).
- PYTHON, F. & STOCKER, R.F.: Adult-like complexity of the larval antennal lobe of *D. melanogaster* despite markedly low numbers of odorant receptor neurons. *J. Comp. Neurol.* 445, 374-387 (2002a).
- PYTHON, F. & STOCKER, R.F.: Immunoreactivity against choline acetyltransferase, gamma-aminobutyric acid, histamine, octopamine, and serotonin in the larval chemosensory system of *Drosophila melanogaster*. *J. Comp. Neurol.* 453, 157-167 (2002b).
- RAMAEKERS, A., MAGNENAT, E., MARIN, E.C., GENDRE, N., JEFFERIS, G.S.X.E., LUO, L. & STOCKER, R.F.: Glomerular maps without cellular redundancy at successive levels of the *Drosophila* larval olfactory circuit. *Curr. Biol.* 15, 982-992 (2005).
- RODRIGUES, V.: Olfactory behavior of *Drosophila melanogaster*. In: "Development and Neurobiology of *Drosophila*" (ed. O. Siddiqi, P. Babu, L. Hall & J.C. Hall), pp. 361-371. New York/London: Plenum (1980).
- RODRIGUES, V. & HUMMEL, T.: Development of the *Drosophila* olfactory system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 628, 82-101 (2008).
- SCHERER, S., STOCKER, R.F. & GERBER, B.: Olfactory learning in individually assayed *Drosophila* larvae. *Learning & Memory* 10, 217-225 (2003).
- SCHMID, H., GENDRE, N. & STOCKER, R.F.: Surgical generation of supernumerary appendages for studying neuronal specificity in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 113, 160-173 (1986).
- SELCHO, M., PAULS, D., HAN, K.A., STOCKER, R.F. & THUM, A.S.: The role of dopamine in *Drosophila* larval classical olfactory conditioning. *PLoS ONE* 4(6): e5897. doi:10.1371/journal.pone.0005897 (2009).
- SELCHO, M., PAULS, D., STOCKER, R.F. & THUM, A.S.: The larval octopaminergic system of *D. melanogaster* (in preparation)

- SIDDIQI, O. & RODRIGUES, V.: Genetic analysis of a complex chemoreceptor. *Basic Life Sci.* 16, 347-359 (1980).
- STOCKER, R.F.: Gustatory stimulation of a homeotic mutant appendage, *Antennapedia*, in *Drosophila melanogaster*. *J. Comp. Physiol. A* 115, 351-361 (1977).
- STOCKER, R.F.: Genetically displaced sensory neurons in the head of *Drosophila* project via different pathways into the same specific brain regions. *Dev. Biol.* 94: 31-40 (1982).
- STOCKER, R.F.: The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell Tiss. Res.* 275, 3-26 (1994).
- STOCKER, R.F.: *Drosophila* as a focus in olfactory research: mapping of olfactory sensilla by fine structure, odor specificity, odorant receptor expression and central connectivity. *Microsc. Res. Techn.* 55, 284-296 (2001).
- STOCKER, R.F.: Design of the larval chemosensory system. In: "Brain Development in *Drosophila melanogaster*" (ed. G.M. Technau), *Adv. Exp. Med. Biol.*, Vol 628. pp. 69-81. Landes Bioscience, ISBN: 978-0-387-78260-7 (2008).
- STOCKER, R.F., EDWARDS, J.S., PALKA, J. & SCHUBIGER, G.: Projection of sensory neurons from a homeotic mutant appendage, *Antennapedia*, in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 52, 210-220 (1976).
- STOCKER, R.F. & GENDRE, N.: Peripheral and central nervous effects of *lozenge*<sup>3</sup>, a *Drosophila* mutant lacking basiconic antennal sensilla. *Dev. Biol.* 127, 12-27 (1988).
- STOCKER, R.F. & GENDRE, N.: Courtship behavior of *Drosophila*, genetically and surgically deprived of basiconic sensilla. *Behav. Genet.* 19, 371-385 (1989).
- STOCKER, R.F., GENDRE, N. & BATTERHAM, P.: Analysis of the antennal phenotype in the *Drosophila* mutant *lozenge*. *J. Neurogenet.* 9, 29-53 (1993).
- STOCKER, R.F., HEIMBECK, G., GENDRE, N. & DE BELLE, J.S.: Neuroblast ablation in *Drosophila* P[GAL4] lines reveals origins of olfactory interneurons. *J. Neurobiol.* 32, 443-456 (1997).
- STOCKER, R.F. & LAWRENCE, P.A.: Sensory projections from normal and homoeotically transformed antennae in *Drosophila*. *Dev. Biol.* 82, 224-237 (1981).
- STOCKER, R.F., LIENHARD, M.C., BORST, A. & FISCHBACH, K.F.: Neuronal architecture of the antennal lobe in *Drosophila melanogaster*. *Cell Tiss. Res.* 262, 9-34 (1990).



- STOCKER, R.F. & RODRIGUES, V.: Olfactory Neurogenetics. In: "Insect Olfaction" (ed. B.S. Hansson), Springer, Heidelberg-Berlin-New York, pp. 283-314 (1999).
- STOCKER, R.F., SINGH, R.N., SCHORDERET, M. & SIDDIQI, O.: Projection patterns of different types of antennal sensilla in the antennal glomeruli of *Drosophila melanogaster*. Cell Tiss. Res. 232, 237-248 (1983).
- STOCKER, R.F., TISSOT, M. & GENDRE, N.: Morphogenesis and cellular proliferation pattern in the developing antennal lobe of *Drosophila melanogaster*. Roux's Arch. Dev. Biol. 205, 62-75 (1995).
- STÖRTKUHL, K.F., HOFBAUER, A., KELLER, V., GENDRE, N. & STOCKER, R.F.: Analysis of immunocytochemical staining patterns in the antennal system of *Drosophila melanogaster*. Cell Tiss. Res. 275, 27-38 (1994).
- SUH, G.S., WONG, A.M., HERGARDEN, A.C., WANG, J.W., SIMON, A.F., BENZER, S., AXEL, R. & ANDERSON, D.J.: A single population of olfactory sensory neurons mediates an innate avoidance behavior in *Drosophila*. Nature 431, 854-859 (2004).
- TANAKA, N.K., AWASAKI, T., SHIMADA, T. & ITO, K.: Integration of chemosensory pathways in the *Drosophila* second-order olfactory centers. Curr. Biol. 14, 449-457 (2004).
- THUM, A.S., LEISIBACH, B., GENDRE, N., SELCHO, M. & STOCKER, R.F.: Diversity, variability and suboesophageal connectivity of antennal lobe neurons in *D. melanogaster* larvae. J. Comp. Neurol. (2011). in press
- TISSOT, M., GENDRE, N., HAWKEN, A., STÖRTKUHL, K.F. & STOCKER, R.F.: Larval chemosensory projections and invasion of adult afferents in the antennal lobe of *Drosophila melanogaster*. J. Neurobiol. 32, 281-297 (1997).
- TISSOT, M. & STOCKER, R.F.: Metamorphosis in *Drosophila* and other insects: the fate of neurons throughout the stages. Progr. Neurobiol. 62, 89-111 (2000).
- VENARD, R. & STOCKER, R.F.: Behavioral and electroantennogram analysis of olfactory stimulation in *lozenge*: a *Drosophila* mutant lacking antennal basiconic sensilla. J. Insect Behav. 4, 683-705 (1991).
- VOSSHALL, L.B., AMREIN, H., MOROZOV, P.S., RZHETSKY, A. & AXEL, R.: A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. Cell 96, 725-736 (1999).
- VOSSHALL, L.B. & STOCKER, R.F.: Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. Annu. Rev. Neurosci. 30, 505-533 (2007).
- VOSSHALL, L.B., WONG, A.M. & AXEL, R.: An olfactory sensory map in the fly brain. Cell 102, 147-159 (2000).

- WANG, J.W., WONG, A.M., FLORES, J., VOSSHALL, L.B. & AXEL, R.: Two-photon calcium imaging reveals an odor-evoked map of activity in the fly brain. *Cell* 112, 271-282 (2003).
- WONG, A.M., WANG, J.W. & AXEL, R.: Spatial representation of the glomerular map in the *Drosophila* protocerebrum. *Cell* 109, 229-241 (2002).
- YAO, Y., WU, Y., YIN, C., OZAWA, R., AIGAKI, T., WOUDE, R.R., NOOR-DEMEER, J.N., FRADKIN, L.G. & HING, H.: Antagonistic roles of Wnt5 and the Drl receptor in patterning the *Drosophila* antennal lobe. *Nat. Neurosci.* 10, 1423-1432 (2007).