

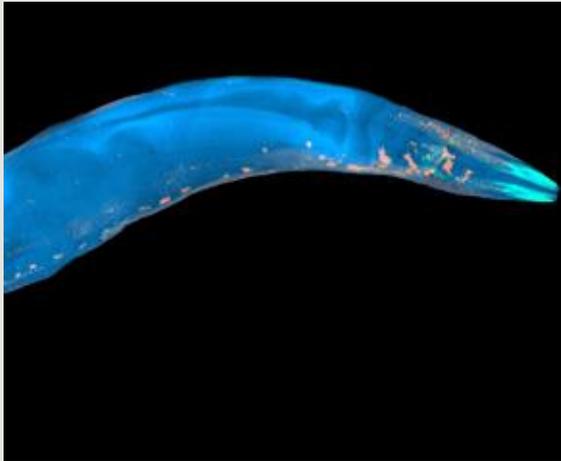


Unterrichtsmodul: „Bewegungssteuerung“

Name: _____

Datum: _____

Forschungsauftrag



Mit der Anwendung **BrainControl** kannst du **videobasierte Verhaltensbeobachtungen** durchführen. Dazu wurden in unterschiedlichen Versuchssettings Verhaltensaufzeichnungen angefertigt. Außerdem steht dir zusätzliches Bildmaterial zur Verfügung.

In diesem Modul erarbeitest du schrittweise die **Bewegungssteuerung am Modellorganismus *C. elegans*** (Fadenwurm) und welche Rolle das **dopaminerge System dabei einnimmt**. Dazu wertest du Verhaltensvideos von unterschiedlichen Modelltiertypen aus: einem Wildtyp, einer Mutante und einem optogenetisch veränderten Fadenwurm.

Verhaltensbiologie und Verhaltensstudien

Die **Verhaltensbiologie** ist eine Disziplin der Biologie, die mit **wissenschaftlichen Methoden** das Verhalten von Tieren und Menschen untersucht. Dieses kann sowohl von genetischen als auch von Umwelt-Faktoren beeinflusst und kann angeboren oder erlernt sein. Als Verhalten ist all das definiert, das der intern koordinierten Kontrolle von Bewegungen oder Signalen dient, mit denen ein Organismus mit Komponenten seiner **belebten & unbelebten Umwelt interagiert**. Dabei zählen auch scheinbar unauffällige Aktionen wie Ruhen, Schlafen oder „nichts tun“ zu definierten Verhaltensweisen (Definition von Kappeler 2012). Das bedeutet: Als Verhalten bezeichnet man **beobachtbare und erfassbare aktive Veränderungen**, Bewegungen, Körperhaltungen, Lautäußerungen und anderes. Dabei geht es darum was das Tier macht und wie es dies macht.

Verhaltensstudien untersuchen die Relation zwischen Verhalten und Umweltereignissen mit der Zielsetzung, das beobachtete **Verhalten zu quantifizieren, zu beschreiben, zu erklären und vorauszusagen**. Die Neurobiologie interessiert sich zusätzlich dafür, **wie das Verhalten neuronal gesteuert wird**. Um eine Vergleichbarkeit zwischen Verhaltensstudien derselben Tierart zu erlangen, empfiehlt es sich ein sogenanntes **Ethogramm** (Verhaltenskatalog) anzulegen und zu verwenden. Dieser Katalog listet alle **potenziell auftretenden Verhaltensweisen** einer Tierart auf. Für die Verhaltensstudien dieses Moduls kannst du auf folgendes Ethogramm von *C. elegans* zurückgreifen, um das beobachtete Verhalten zu beschreiben.

Kriechbewegungen: Geschwindigkeit, Richtung (Richtungswechsel), Größe des Bewegungsareals bzw. Länge des zurückgelegten Wegs, ortsansässig, Dispersionsverhalten (Ausbreitungsverhalten).

Körperbewegungen: (Anzahl der) Wellenbewegungen, Biegungswinkel (Größe der Wellenbewegung), Kopfbewegungen, Kontraktionen, weitere Bewegungen.



Experiment 1: *C. elegans* – Wildtyp

1. Der Fadenwurm *C. elegans* gehört zu den klassischen und häufig eingesetzten Modellorganismen der naturwissenschaftlichen Forschung und steht in diesem Modul im Fokus. Beschrifte das Foto des Fadenwurms mit folgenden Begriffen: Pharynx (Schlund), Eianlagen, Verdauungstrakt, Körperwandmuskulatur, Schwanzregion, Kopfregion.



Versuchsprotokoll

- I. Starte die Anwendung **BrainControl**, sofern du sie noch nicht geöffnet hast. Du öffnest die Anwendung über den Button „Experiment starten“ auf der Modulseite.
- II. Wähle Experiment 1 aus und beginne mit dem Tab „Videos“. Dort kannst du die jeweils in der Aufgabe genannten Videos auswählen, abspielen und ggf. im Splitscreen-Modus vergleichen.
- III. Lies die Versuchsbeschreibung und bearbeite die darauffolgenden Aufgaben.

Versuchsbeschreibung

Das **Versuchssetting** in diesem Modul untersucht den **Einfluss des Stimulus „Futter“** auf das Verhalten von *C. elegans*. Im Labor werden die Tiere auf sogenannten *Agarplatten* gehalten. Das sind in der Mikrobiologie häufig eingesetzte Nährböden, die den Tieren alles bieten was sie benötigen (u. a. Mineralien, Ionen, etwas Flüssigkeit). Für die beiden Versuchssettings gibt es einen Nährboden ohne und einen mit einem sogenannten *Bakterienrasen*, der den Tieren als Futterquelle dient. Du erkennst den *Bakterienrasen* daran, dass die Tiere darin eine **sichtbare Spur** hinterlassen. Der Fokus der Studien liegt auf der Betrachtung der **Bewegungssteuerung** von *C. elegans*, die mit oder ohne den Stimulus „Futter“ ausgelöst wird.

Als **Wildtyp** wird in der Verhaltensforschung ein Organismus bezeichnet, der dem **natürlichen Organismus entspricht** und nicht genetisch oder molekularbiologisch verändert wurde. Bei Wildtyp-Organismen kann man demnach das Verhalten beschreiben, welches natürlicherweise bei *C. elegans* auftritt.



2. Betrachte das Video „*Wildtyp_Futter*“, welches dir aufeinanderfolgend zwei Fadenwürmer vom Wildtyp auf einer Agarplatte mit Futterquelle (*Bakterienrasen*) zeigt. Beschreibe möglichst präzise das beobachtbare Verhalten.

Nimm dir  „*Verhaltensbiologie und Verhaltensstudien*“ auf S. 1 zur Hilfe.

3. Die Verhaltensweisen, die du im Video gesehen hast, zeigen das natürliche Verhalten von *C. elegans* auf einer Agarplatte mit Futterquelle. Deute das beschriebene Verhalten.

4. Wird die Futterquelle entfernt und *C. elegans* auf eine Agarplatte ohne Bakterienrasen gesetzt, zeigen sich zwei zeitlich aufeinanderfolgende Verhaltensweisen. Betrachte zuerst das Video „*Wildtyp_X1*“ und beschreibe das beobachtbare, anfänglich auftretende Verhalten.

5. Deute das beschriebene Verhalten, welches *C. elegans* in den ersten Minuten nach Entzug der Futterquelle zeigt. Du kannst dich dazu auch auf das Verhalten mit Futter (*Wildtyp_Futter*) und die Veränderungen beziehen. *Tipp: Betrachte die beiden Videos im Splitscreen-Modus* .

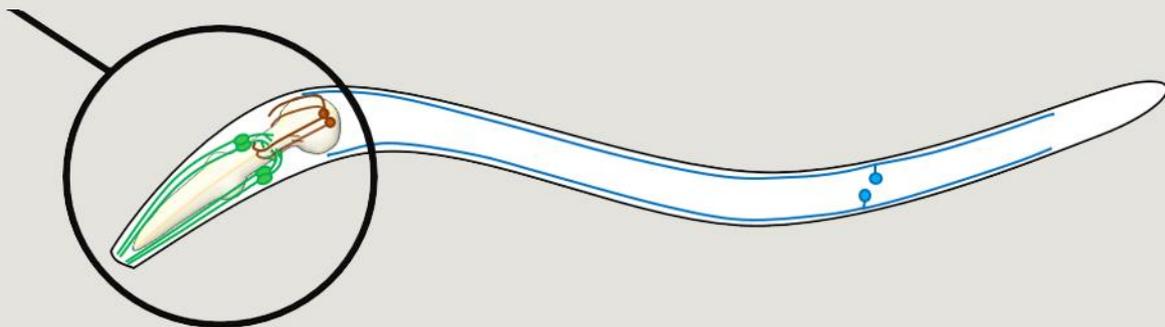
6. Das Video „*Wildtyp_X2*“ zeigt aufeinanderfolgend zwei Fadenwürmer, die das Verhalten von *C. elegans* nach ca. 10 Minuten ohne Futterquelle zeigen. Betrachte das Video und beschreibe das beobachtbare Verhalten.



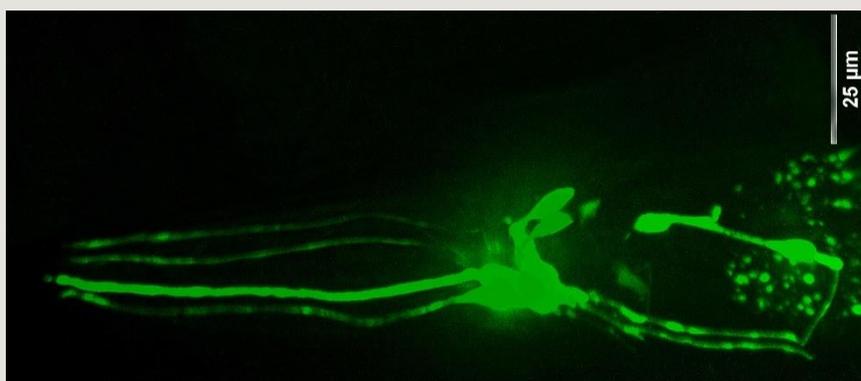
7. Deute das beschriebene Verhalten, zu dem *C. elegans* nach ca. 10 Minuten ohne Futterquelle wechselt. Gehe dabei auch auf die Veränderung im Vergleich zu „Wildtyp_X1“ ein.

💡 Dopaminerges System (DA-System)

Du hast im SchülerWissen bereits gelernt, dass das **DA-System** (Dopamin-ausschüttende Nervenzellen) eine wichtige Rolle bei der **Bewegungssteuerung** vom Menschen einnimmt. Es wird vermutet, dass die dopaminergen Nervenzellen von *C. elegans* ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Bewegungssteuerung einnehmen. *C. elegans* hat **acht DA Nervenzellen**, von denen sich sechs im Kopfbereich befinden.



Um die Zellen unterm Mikroskop sichtbar zu machen, kann man diese selektiv mit einem **fluoreszierenden Farbstoff** anfärben. Dazu wird das Gen, welches das fluoreszierende Protein exprimiert in die Nervenzellen eingebaut. Die Selektivität wird durch regulatorische Sequenzen (Promotoren) gewährleistet. Fluoreszierende Proteine sind durch Licht erregbar und emittieren (abstrahlen) daraufhin Licht in einer bestimmten Wellenlänge, sodass die **Zellen leuchten**. Die fluoreszierenden DA-Nervenzellen im Kopfbereich von *C. elegans* kannst du in folgender Aufnahme sehen. Im **Tab „Visualisierungen“** liegen noch mehr Ansichten vor und auch eine Detailaufnahme von den Dendriten, die Richtung Schlund-Öffnung ziehen.





Experiment 2: C. elegans – Mutante (DA-System degeneriert)

Versuchsprotokoll

- I. Wähle Experiment 2 aus.
- II. Öffne den Tab „Visualisierungen“.
- III. Lies die Versuchsbeschreibung und bearbeite anschließend die Aufgaben.

Versuchsbeschreibung

Eine **Mutante** ist ein Organismus, der sich durch **mindestens eine Abweichung** vom Wildtyp unterscheidet und zur Untersuchung des Einflusses der veränderten Komponente dient. Der im Modul verwendeten Mutante von *C. elegans* wurde **6-OHDA** (6-Hydroxydopamine) zum Nährboden dazugegeben. Dabei handelt es sich um ein Neurotoxin (Nervengift), mit dem **selektiv dopaminerge Nervenzellen zerstört** werden, indem das Toxin zur schrittweisen Degeneration (Rückbildung) der Nervenzellen führt. Durch diese Methode kann man einen vereinfachten **Modellorganismus** erzeugen, der eine ähnliche neuronale Pathologie wie die **Parkinsonerkrankung** aufweist. Allerdings muss beachtet werden, dass die neuronale Bewegungssteuerung nicht 1:1 auf den Menschen übertragbar ist.

8. Die Degeneration der Nervenzellen durch 6-OHDA kann man durch eine Färbung mit fluoreszierendem Farbstoff sichtbar machen. Betrachte vergleichend die entsprechenden Aufnahmen des Wildtyps und der Mutante im Tab „Visualisierung“ und beschreibe die Unterschiede. Welche Merkmale der Degeneration sind erkennbar?

Nimm dir 💡 „Dopaminerges System (DA-System)“ auf S. 4 zur Hilfe.

9. Wechsel zum Tab „Videos“, um die Auswirkungen der Degeneration der DA-Nervenzellen auf das Verhalten zu untersuchen. Das Video „Mutante_Futter“ zeigt dir dazu aufeinanderfolgend zwei Fadenwürmer mit degenerierten DA-Nervenzellen auf einer Agarplatte mit Futterquelle. Betrachte das Video und beschreibe das beobachtbare Verhalten möglichst genau.



10. Deute das beschriebene Verhalten der Mutante. Gehe dabei vor allem darauf ein, ob sich das Verhalten von dem des Wildtyps unterscheidet. Dazu kannst du das Video „Wildtyp_Futter“ auch nochmal vergleichend im Splitscreen-Modus betrachten. Gehe auch darauf ein, welches Verhalten zu erwarten gewesen wäre.

11. Betrachte nun das Video „Mutante_X“ direkt vergleichend mit dem Video „Wildtyp_X3“ im Splitscreen-Modus und beschreibe das Verhalten der beiden Fadenwürmer ohne Futterquelle. Kannst du Unterschiede feststellen?

12. Deute das beschriebene Verhalten. Gehe dabei vor allem darauf ein, ob sich das Verhalten von Mutante und Wildtyp ohne Futterquelle unterscheidet.

13. Welche Schlussfolgerung über die Bewegungssteuerung durch das dopaminerge System von *C. elegans* kannst du anhand deiner Ergebnisse zum Versuchssetting von Experiment 2 ziehen? Notiere deine Überlegungen.



Experiment 3: C. elegans – Optogenetisch verändert

Versuchsprotokoll

- I. Wähle Experiment 3 aus.
- II. Lies die Versuchsbeschreibung und bearbeite anschließend die Aufgaben.

Versuchsbeschreibung

Für das 3. Versuchssetting, wurde *C. elegans* mit **optogenetischen Methoden** verändert, sodass die dopaminergen Nervenzellen spezifisch **lichtsensitive Natriumkanäle** (Channelrhodopsin 2) in ihrer Membran eingebaut haben. Diese Kanalproteine können mit **blauem Licht aktiviert** bzw. geöffnet werden, sodass anschließend Natrium in die **dopaminergen Nervenzellen** diffundiert und diese **erregt**.

14. Um zu zeigen, dass die optogenetische Veränderung keinen Einfluss auf das natürliche Verhalten hat, werden auch Versuchssettings ohne Lichtstimulus durchgeführt. Die beiden Videos „*Opto_Futter_X*“ und „*Opto_X_X*“ zeigen demnach Fadenwürmer auf einer Agarplatte mit und ohne Futterquelle unter Ausgangsbedingungen (kein Lichtimpuls). Betrachte die beiden Videos und beantworte folgende Frage:

Hat die optogenetische Veränderung ohne Lichtimpuls einen Einfluss auf das Verhalten des Fadenwurms? Ist das Verhalten im Vergleich zum Wildtyp verändert und war es zu erwarten?

Tipp: Nutze deine Beschreibungen von Experiment 1.

15. Stelle eine Hypothese auf, welche Verhaltensweise durch einen Lichtimpuls und damit durch eine Erregung der dopaminergen Zellen ausgelöst wird. Ziehe dazu auch deine Überlegungen aus Aufgabe 13 hinzu.



16. Das Video „*Opto_Futter_Licht*“ zeigt dir aufeinanderfolgend drei Fadenwürmer auf einer Agarplatte mit Futterquelle, die mit blauem Licht stimuliert werden. Betrachte das Video und beschreibe das beobachtbare Verhalten.

17. Deute das beschriebene Verhalten der Fadenwürmer mit Futterquelle und Lichtimpuls. Gehe dabei vor allem darauf ein, ob sich das Verhalten von dem des Wildtyps unterscheidet. Dazu kannst du das Video „*Wildtyp_Futter*“ auch nochmal vergleichend im Splitscreen-Modus betrachten. Achte hier besonders auf Details.

18. Das Video „*Opto_X_Licht*“ zeigt dir aufeinanderfolgend drei Fadenwürmer, die mit blauem Licht stimuliert werden, aber ohne Futterquelle sind. Beschreibe das beobachtbare Verhalten.

19. Deute das beschriebene Verhalten. Gehe dabei vor allem darauf ein, ob sich das Verhalten von dem des Wildtyps unterscheidet. Dazu kannst du das Video „*Wildtyp_X3*“ auch nochmal vergleichend im Splitscreen-Modus betrachten.

20. Beschreibe diesmal zusätzlich, ob es Verhaltensunterschiede zwischen dem lichtstimulierten „*Opto-Fadenwurm*“ ohne Futterquelle und dem Wildtyp mit Futterquelle gibt.



21. Welche Schlussfolgerung über die Bewegungssteuerung von *C. elegans* durch das dopaminerge System kannst du anhand des Versuchssetting von Experiment 3 ziehen? Notiere deine Überlegungen und reflektiere auch deine Schlussfolgerung von Aufgabe 13 und deine Hypothese von Aufgabe 15.

Zusammenfassung

22. Fasse deine Ergebnisse aus allen drei Experimenten in nachstehender Tabelle zusammen. Beschränke dich auf das charakteristische wesentliche Verhalten. Du kannst z. B. Begriffe benutzen wie: schnell, langsam, ortsansässig, Dispersion.

	Wildtyp	Mutante	Opto ohne Licht	Opto mit Licht
Futter				
Kein Futter				

23. Kreuze anhand deiner Ergebnisse aus den Experimenten an, welche der folgenden Aussagen zutreffend sind.

Die dopaminergen Nervenzellen von *C. elegans* ...

- ... steuern die Futteraufnahme von Bakterien.
- ... lösen verlangsamte Bewegungen aus, sodass *C. elegans* in einem kleinen Areal bleibt.

Degenerierte dopaminerge Nervenzellen führen dazu, dass ...

- ... das *C. elegans* trotz Futterquelle keine Verlangsamungsreaktion mehr aufweist, sondern Dispersionsverhalten zeigt.
- ... *C. elegans* trotz Futterquelle kein Futter mehr aufnimmt.

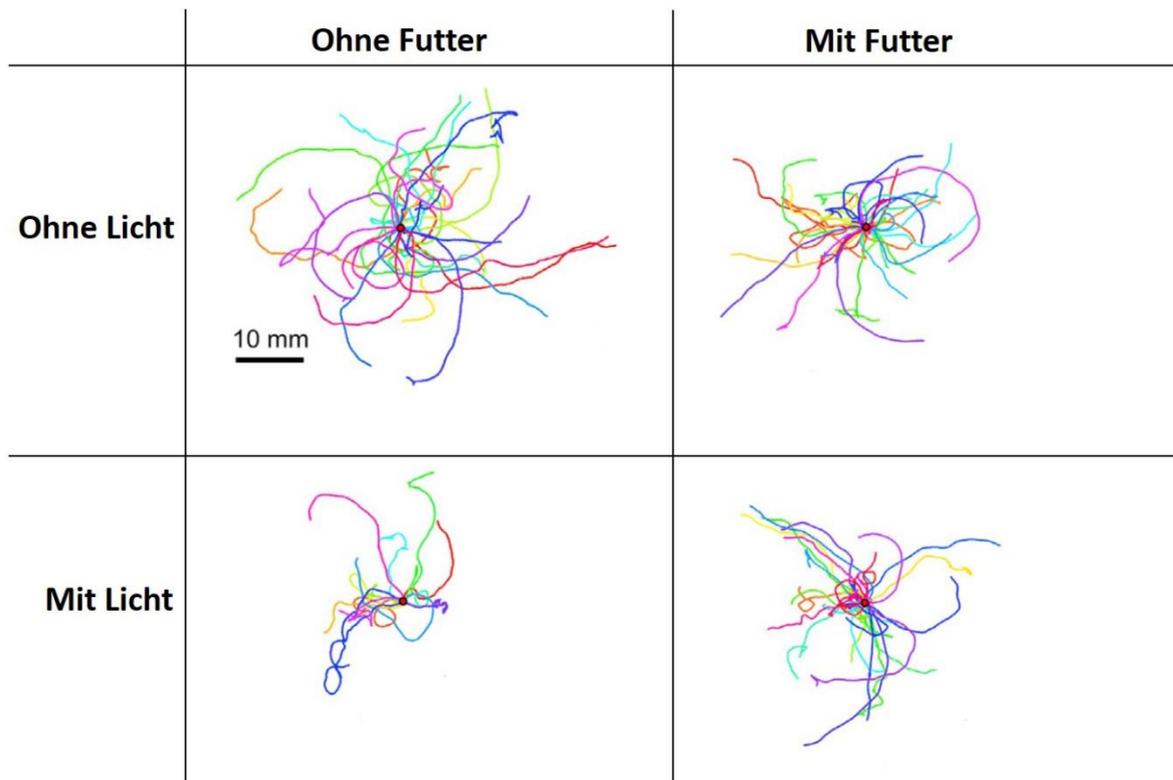
Bei einem optogenetisch veränderten Fadenwurm kann man mit einem Lichtimpuls ...

- ... das Verhalten auslösen, das von spezifischen Nervenzellen gesteuert wird.
- ... degenerierte Nervenzellen regenerieren.



Expertenaufgabe

Die folgende Abbildung zeigt dir die Ergebnisse einer Studie von A. Oranth & C. Schultheis aus dem Arbeitskreis von A. Gottschalk (Goethe-Universität Frankfurt) aus dem Jahr 2018. Dort wurden optogenetisch veränderte Fadenwürmer wie in den Experimenten dieses Moduls mit und ohne Futterquelle sowie mit und ohne Lichtimpuls aufgezeichnet. Die Bewegungsbahnen der einzelnen Fadenwürmer wurden für 120 Sekunden aufgezeichnet und sind in der Abbildung ausgehend vom Startpunkt in unterschiedlichen Farben für die jeweiligen Individuen dargestellt.



Verändert nach: Oranth, A., Schultheis, C., Tolstenkov, O., Erbguth, K., Nagpal, J., Hain, D., ... & Gottschalk, A. (2018). Food sensation modulates locomotion by dopamine and neuropeptide signaling in a distributed neuronal network. *Neuron*, 100(6), 1414-1428.

24. Werte die in der Abbildung gezeigten Ergebnisse der Studie aus. Wende dabei deine Erkenntnisse aus den Experimenten an und erläutere die Unterschiede der vier Versuchssettings.
