

**Molekulare und ultrastrukturelle Charakterisierung
von Photorezeptorzellen und Augen
bei Annelida**

Dissertation
zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
im Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Tobias Kaller
aus Bautzen

Oktober 2011

Gutachter

Erster Gutachter:

Prof. Dr. Klaus Hausmann

Institut für Biologie

Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie

Freie Universität Berlin

Zweiter Gutachter:

Prof. Dr. Thomas Bartolomaeus

Institut für Evolutionsbiologie und Ökologie

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

Rheinische-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Datum der Disputation:

28.11.2011

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Klaus Hausmann für die abschließende Betreuung dieser Dissertation und die Übernahme der Kommissionsleitung des Promotionsverfahrens. Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thomas Bartolomaeus für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die Betreuung dieser Dissertation. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Harald Hausen für seine fortwährende Unterstützung und für inhaltliche Diskussionen.

Herrn Dr. Thomas Stach danke ich für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und für die Möglichkeit, ihre Infrastruktur zu nutzen.

Ich danke den Mitgliedern der Labore und Arbeitsgruppen in Heidelberg und Wien für eine stets angenehme Arbeitsatmosphäre und meine freundliche Aufnahme dort als Gast. Besonders danken möchte ich Dr. Kristin Tessmar-Raible und Dr. Florian Raible, Dr. Raju Tomer und Heidi Snyman.

Ein großer Dank gilt meinen Kollegen der ehemaligen AG 15, insbesondere Dr. Björn Quast, Dr. Esther Ullrich-Lüter, Dipl.-Biol. Anne Zakrzewski und Dipl.-Biol. Sabrina Kaul-Strehlow für fortwährenden Gedankenaustausch und inhaltliche Diskussionen, vor allem in der finalen Phase dieser Arbeit, aber auch für Gespräche abseits der Wissenschaft.

Waltraud Brackwehr danke ich für ihre andauernde Unterstützung auf den verschlungenen Pfaden des Universitätsalltages.

Mein innigster Dank gilt meiner Familie. Ohne ihre vorbehaltlose Unterstützung wäre diese Arbeit so nicht zustande gekommen.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne die zulässige Hilfe Dritter und ohne die Verwendung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Berlin, den 19.10.2011

Tobias Kaller

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Evolution von Photorezeptorzellen.....	1
1.2	Evolutive Herkunft von Larval- und Adultaugen bei Anneliden.....	3
1.3	Ciliäre Photorezeptorzellen bei Anneliden.....	4
1.4	Phylogenie der Annelida.....	5
1.5	Molekulare Marker von Photorezeptorzellen und assoziierten Zellen.....	6
1.6	Ziel der Untersuchungen.....	7
2	Material und Methoden	8
2.1	Tiermaterial.....	8
2.2	Kits.....	9
2.3	Antikörper.....	9
2.4	Vektoren und Bakterienstämme.....	10
2.5	Chemikalien und Lösungen.....	10
2.6	Whole mount <i>in situ</i> -Hybridisierung.....	12
2.6.1	Whole mount <i>in situ</i> -Hybridisierung – einfarbiger Nachweis.....	12
2.6.1.1	Fixierung.....	12
2.6.1.2	Sondengenerierung.....	12
2.6.1.3	Rehydrierung und Verdau.....	13
2.6.1.4	Prähybridisierung.....	14
2.6.1.5	Hybridisierung.....	14
2.6.1.6	Visualisierung.....	15
2.6.2	Whole mount <i>in situ</i> -Hybridisierung – zweifarbiger Nachweis.....	16
2.6.3	Whole mount <i>in situ</i> -Hybridisierung – mit Antikörperfärbung.....	16
2.7	Immunohistochemie.....	17
2.7.1	Immunmarkierungen gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin.....	17
2.7.2	Phalloidin färbung.....	18
2.8	Mikroskopie.....	18

2.9	RNA-Extraktion.....	18
2.10	cDNA-Synthese	19
2.11	Klonierung	19
2.11.1	Klonierung neuer Fragmente durch PCR mit degenerierten Primern.....	19
2.11.2	Klonierung neuer Fragmente durch PCR mit spezifischen Primern	20
2.11.3	RACE-PCR	21
2.11.4	Radioaktive Hybridisierung	22
2.11.4.1	Sondenerstellung.....	22
2.11.4.2	Hochstringente Hybridisierung	22
2.11.4.3	Niederstringente Hybridisierung.....	22
2.11.5	PCR-Ansätze	22
2.11.5.1	PCR mit degenerierten Primern	22
2.11.5.2	PCR mit spezifischen Primern	23
2.11.5.3	RACE-PCR.....	24
2.11.5.4	Colony-PCR.....	24
2.11.5.5	Primer.....	25
2.12	Sequenzierung.....	26
2.13	Sequenzanalyse.....	26
2.14	Transmissionselektronenmikroskopie.....	26
2.15	Einfluss von Acetylcholin-Antagonisten auf die Phototaxis von <i>C. teleta</i>	27
3	Ergebnisse	28
3.1	Opsine.....	28
3.2	Ontogenese von <i>C. teleta</i>	33
3.2.1	Lichtmikroskopische Aufnahmen	33
3.2.2	Antikörperfärbungen gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin	36
3.2.3	Expression des r-Opsins <i>Cte-r-ops</i> bei <i>C. teleta</i>	39
3.3	Larval- und Adulstage	41
3.3.1	Ultrastruktur des Larvalauges im Stadium 9	41

3.3.2	Ultrastruktur der medialen <i>Cte-r-ops</i> -positiven Zellen im Stadium 9	43
3.3.3	Larval- und Adultaugen während der Metamorphose	45
3.4	Expression einzelner Effektorgene in <i>C. teleta</i>	48
3.4.1	Tryptophan 2,3-dioxygenase.....	48
3.4.2	Sepiapterinreduktase	50
3.4.3	Gq-alpha.....	52
3.4.4	Vesikulärer Acetylcholin-Transporter	55
3.4.4.1	Acetylcholin-Antagonisten und die Phototaxis von <i>C. teleta</i>	58
3.4.5	FVRIamid	58
3.5	Expression kanonischer Augengene	60
3.5.1	Pax6.....	60
3.5.2	Six	64
3.5.3	Eyes absent.....	66
3.5.4	Dachshund.....	69
3.6	Expression weiterer Kandidatengene.....	72
3.6.1	Chx10.....	72
3.6.2	Single-minded	75
3.6.3	Lhx2/9	78
3.7	Strukturelle Charakterisierung <i>Cte-ops2</i> -positiver Zellen bei <i>C. teleta</i>	80
3.7.1	Expression von <i>Cte-ops2</i>	80
3.7.2	Ultrastrukturelle Untersuchungen.....	81
3.7.3	Expression von <i>Cte-ops2</i> und Antikörperfärbung.....	82
3.8	Ciliäre Photorezeptoren bei <i>M. vesiculosum</i>	83
4	Diskussion	85
4.1	Opsine	85
4.1.1	Evolution von Opsinen	86
4.2	Larval- und Adultaugen von <i>C. teleta</i> und <i>P. dumerilii</i> im Vergleich.....	89
4.2.1	Transmitter und Neuropeptide	91

4.2.2	Das RDGN-Netzwerk in der Augenentwicklung bei Annelida	92
4.2.2.1	Pax6.....	93
4.2.3	Phototransduktion rhabdomerischer Photorezeptorzellen	94
4.2.4	Pigmentzellen.....	95
4.3	Evolution der Larval- und Adultaugen der Annelida.....	96
4.4	Ciliäre Photorezeptorzellen der Annelida	99
4.4.1	Ciliäre Phaosomen bei <i>C. teleta</i>	99
4.4.2	Ciliäre Photorezeptorzellen bei <i>M. vesiculosum</i>	100
5	Zusammenfassung	102
6	Summary	105
7	Literatur	107
8	Appendix	120
8.1	Opsine	120
8.2	Tryptophan 2,3-dioxygenase (<i>Cte-tdo2</i>).....	126
8.3	Sepiapterinreduktase (<i>Cte-spr</i>)	127
8.4	Gq-alpha (<i>Cte-Gqa</i>)	128
8.5	Vesikulärer Acetylcholin-Transporter (<i>Cte-VACHT</i>).....	132
8.6	FVRIamid (<i>Cte-FVRI</i>)	134
8.7	Pax6 (<i>Cte-pax6</i>)	135
8.8	Six (<i>Cte-six1/2</i>).....	136
8.9	Eyes absent (<i>Cte-eya</i>)	138
8.10	Dachshund (<i>Cte-dac</i>)	140
8.11	Chx10 (<i>Cte-chx10</i>).....	142
8.12	Single-minded (<i>Cte-sim</i>).....	143
8.13	LIM-Homeobox (<i>Cte-lhx2/9</i>).....	145
8.14	Abkürzungsverzeichnis	147

1 Einleitung

1.1 Evolution von Photorezeptorzellen

Die Fähigkeit zur Wahrnehmung von Licht hat eine herausragende Bedeutung für Tiere (Fernald 2000). Etwa 95 % von ihnen besitzen Augen oder andere, z. T. nichtpigmentierte lichtsensitive Organe was vermuten lässt, dass dieser Sinn für sie in vielen Umgebungen von Vorteil ist und Einfluss auf ihr Verhalten und physiologische Prozesse hat (Lamb *et al.* 2009; Nilsson 2009). Die zugehörigen Strukturen sind dabei von unterschiedlicher Komplexität und ihr optisches Auflösungsvermögen variiert. Nilsson (2009) unterscheidet u. a. zwischen nicht-direktionaler Photorezeption und räumlichem Sehen mit hoher Auflösung und führt als entscheidende Neuerungen in der Evolution von Augen z. B. abschirmende Pigmente oder die Oberflächenvergrößerung der Photorezeptorzellen an. Grundsätzlich werden bei den Photorezeptorzellen der Metazoa in Abhängigkeit von ihrem Aufbau ein ciliärer und ein rhabdomerischer Typ unterschieden (Shubin *et al.* 2009; Diaz & Sprecher 2011). Deren Oberfläche wird vergrößert, um vermehrt Photopigmente, die Opsine, einlagern zu können. Bei den ciliären Photorezeptorzellen geschieht das durch die Ausbildung vieler Cilien, durch die Verzweigung von Cilien, durch Ausstülpung der Cilienmembran oder durch die Bildung von Membranvesikeln. Bei rhabdomerischen Photorezeptorzellen hingegen erfolgt die Membranvergrößerung durch die Ausbildung von Mikrovilli an der apikalen Zellmembran (Arendt & Wittbrodt 2001; Land 2005; Fain *et al.* 2010). Die Entstehung dieser morphologisch unterschiedlichen Rezeptortypen wurde in langjährigen Disputen verschieden gedeutet. So betont Eakin (1963, 1968, 1972, 1982) die unterschiedlichen Formen der Oberflächenvergrößerung der Photorezeptorzellen und schloss auf zwei divergierende Linien in ihrer Evolution. Danach herrschen die ciliären Photorezeptorzellen bei den Deuterostomia und die rhabdomerischen Photorezeptorzellen bei den Protostomia vor. Von Salvini-Plawen & Mayr (1977) und von Salvini-Plawen (1982) hingegen erklären die strukturellen Unterschiede durch über 40-fache unabhängige Entwicklung von Augen im Tierreich. Durch die Kombination vorhandener ultrastruktureller Daten mit molekularen Befunden kam erneut Bewegung in diese Diskussionen (Lacalli 2004). Zunächst insbesondere durch den Umstand, dass Gene wie *Pax6* sehr häufig eine wichtige und über Taxa hinweg konservierte Rolle bei der Entwicklung von Augen spielen und auf einen gemeinsamen evolutiven Ursprung der Organe hindeuten (Gehring & Ikeo 1999; Callaerts *et al.* 1999; Marquardt *et al.* 2001; Arendt *et al.* 2002). Es zeichneten sich allerdings

auch wichtige Unterschiede auf zellulärer Ebene ab. So lassen sich die zentralen Komponenten, die Photorezeptorzellen, nicht nur anhand ihrer Ultrastruktur charakterisieren, sondern auch durch einen molekularen Fingerabdruck, also anhand der Expression von Genen die zelltypspezifisch exprimiert werden. Darunter sind Transkriptionsfaktoren, die eine wichtige Rolle in der Entwicklung der Zellen spielen, aber auch Gene, deren Transkripte später von funktioneller Bedeutung sind (Arendt 2003; Plachetzki *et al.* 2005). So exprimieren z. B. ciliäre und rhabdomerische Photorezeptorzellen verschiedene Typen von Opsinen (c-Opsin bzw. r-Opsin), die schon sehr früh in der Evolution der Metazoa, spätestens in der Stammlinie der Bilateria divergierten (Arendt *et al.* 2004; Nilsson 2004). Es hat sich gezeigt, dass im Gegensatz zu den langjährigen Annahmen ciliäre und rhabdomerische Photorezeptorzellen nicht auf eine bestimmte Gruppe von Tieren beschränkt sind, sondern fast in jeder Tiergruppe vertreten sind und häufig auch nebeneinander in einer Art vorkommen können (Arendt *et al.* 2004). Dabei ermöglichen molekulare Daten den Vergleich von Photorezeptorzellen aus sehr entfernt stehenden Organismen. So gibt es molekulare Evidenzen die dafür sprechen, dass es sich bei den ciliären Photorezeptorzellen median im Gehirn des Polychaeten *Platynereis dumerilii* und den ebenfalls ciliären Stäbchen und Zapfen der Vertebratenretina um homologe Zelltypen handelt (Arendt *et al.* 2004). Ebenso sprechen molekulare Daten für eine Homologie der rhabdomerischen Photorezeptorzellen in den Augen von Protostomia mit lichtsensitiven Photorezeptorzellen in der Ganglienzellschicht der Vertebratenretina, die hier keine visuelle Funktion besitzen, sondern der Regulation der circadianen Rhythmik dienen (Arendt *et al.* 2002; Fain *et al.* 2010; Passamanek *et al.* 2011). Zusätzlich ermöglichen es molekulare Methoden, sehr effizient bisher unbekannte, morphologisch unauffällige Photorezeptorzellen überhaupt aufzuspüren und als solche zu charakterisieren, wie am Beispiel des Seeigels *Strongylocentrotus purpuratus* gezeigt wurde (Ullrich-Lüter *et al.* 2011).

In der vorliegenden Arbeit werden molekulare und strukturelle Verfahren zur Analyse der Evolution von Photorezeptorzellen und Augen innerhalb der Annelida, einer Teilgruppe des großen Invertebratentaxons Lophotrochozoa genutzt. Bei Anneliden sind viele verschiedene Typen von Photorezeptorzellen und Augen beschrieben und es liegen umfangreiche molekulare Daten bei einem Vertreter vor, *P. dumerilii*.

1.2 Evolutive Herkunft von Larval- und Adultraugen bei Anneliden

Anneliden besitzen eine Vielzahl von sensorischen Strukturen wie z. B. Antennen, Palpen, Cirri, Nuchalorgane oder Augen und reagieren auf verschiedenste taktile, chemische oder optische Stimuli. Die Funktion vieler bei den Anneliden vorhandener sensorischer Strukturen ist allerdings bis zum heutigen Tage unsicher oder völlig unbekannt (Purschke 2005). Besser untersucht hingegen sind die vielfältigen Photorezeptorzellen, vor allem auf ultrastrukturellem Niveau. Eakin & Hermans (1988) und Purschke *et al.* (2006) führen zahlreiche Beispiele für rhabdomerische, ciliäre und die selteneren, durch Einstülpung der apikalen Zellmembran entstehenden phasomalen Photorezeptorzellen an. Unter den lichtsensitiven Organen sind die in der Nähe eines Gehirns lokalisierten (Richter *et al.* 2010) und bei den Lophotrochozoen überwiegend rhabdomerische Photorezeptorzellen aufweisenden cerebralen Augen weit verbreitet (Arendt & Wittbrodt 2001), was sie zu geeigneten Kandidaten für einen Vergleich mit denen anderer Organismen macht.

Da viele Anneliden im Unterschied zu anderen Vertretern der Lophotrochozoa distinkte Larval- und Adultraugen besitzen, ergibt sich eine besondere Relevanz für evolutive Fragestellungen. Bei den Mollusken z. B. ähneln die früh in der Entwicklung angelegten und zu den Adultraugen werdenden cerebralen Augen bedingt durch ihren eversen Aufbau häufig den Adultraugen erranter Anneliden (Bartolomaeus 1992; Messenger 1981; Land 1984; Rosen *et al.* 1978; Rosen *et al.* 1979). Die Augen vieler Plathelminthen hingegen zeigen durch ihren einfachen inversen Aufbau (Sopott-Ehlers 1991; Sopott-Ehlers *et al.* 2001) morphologische Ähnlichkeiten zu den Larvalaugen der Anneliden, obwohl sich die meisten Plathelminthen, mit Ausnahme z. B. der Polycladen direkt entwickeln und keine unabhängigen Larvalaugen angelegt werden. Es ist also unklar, ob es innerhalb der Lophotrochozoa evolutiv unabhängige Formen der Adultraugen gibt, wann die bei den Annelida vorliegende Dichotomie von Larval- und Adultraugen entstanden sein könnte und in welchem evolutionären Kontext die verschiedenen Augentypen der Annelida zu den Augen anderer Lophotrochozoa stehen.

Bei dem erranten Polychaeten *P. dumerilii* lassen sich Larval- und Adultraugen auf mehreren Ebenen unterscheiden. Larval- und Adultraugen entstehen unabhängig voneinander und zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Entwicklung. Die Larvalaugen sind sehr einfach aufgebaut, bestehen aus nur einer inversen, also dem Licht abgewandten Photorezeptorzelle und einer becherförmigen Pigmentzelle (Rhode 1992). Diese Augen sind direkt an der Phototaxis der

Larven beteiligt (Jékely *et al.* 2008). Die Adultauken sind dagegen multizellulär organisiert und besitzen sogar Linsen (Rhode 1992). Sie dienen aller Wahrscheinlichkeit nach dem Sehen. Die Photorezeptorzellen sind evers ausgerichtet und projizieren direkt in das Gehirn (Rhode 1992; Arendt *et al.* 2002). Larval- und Adultauken können anhand ihres jeweiligen molekularen Fingerabdrucks klar voneinander differenziert werden (Arendt *et al.* 2002; Arendt *et al.* 2004; Guy 2008). Ähnliche Larvalaugen wie bei *P. dumerilii* finden sich bei vielen anderen Polychaeten (Purschke *et al.* 2006). Die von *P. dumerilii* beschriebene Organisation des Adultauken ist aber auf errante Polychaeten, also die Taxa Phyllodocida, Eunicida und Amphinomida begrenzt, wobei hier auch einfachere Formen vorkommen (Purschke *et al.* 2006; Suschenko & Purschke 2009). Bei anderen Polychaeten können Larval- und Adultauken zwar ebenfalls aus verschiedenen Anlagen entstehen und eine unterschiedliche Morphologie besitzen, die Larvalaugen können aber auch persistieren und dann zu Adultauken werden wie im Falle mancher sedentärer Polychaeten (Brandenburger & Eakin 1981; Suschenko & Purschke 2009; Wilson 1932, 1936a, 1936b, 1948).

Um Aussagen über die Existenz von Larval- und Adultauken in der Stammlinie der Annelida treffen zu können, bietet sich ein direkter, molekularer und struktureller Vergleich der Augen eines sedentären Polychaeten mit denen des erranten Polychaeten *P. dumerilii* an. Dafür eignet sich aus mehreren Gründen besonders die Untersuchung von *Capitella teleta*. Bei dieser Art unterscheiden sich die Larval- und Adultauken ebenfalls deutlich in ihrer Struktur und die Adultauken weisen eine everse Orientierung wie die erranter Polychaeten auf (Rhode 1993). Zudem ist *C. teleta* zuverlässig im Labor kultivierbar und zu Beginn der Arbeit lief die vollständige Sequenzierung des Genoms an, wodurch ein Vergleich der Augen auch auf breiter molekularer Basis anhand ausgewählter Gene möglich ist.

1.3 Ciliäre Photorezeptorzellen bei Anneliden

Die von Arendt *et al.* (2004) vorgelegten Daten für *P. dumerilii* ergaben erstmals Hinweise darauf, dass die ciliären Photorezeptorzellen eines Anneliden homolog zu den ciliären Photorezeptorzellen der Vertebraten sind. Erstere bestehen jeweils aus zwei unpigmentierten Photorezeptorzellen, die ihre sich verzweigende Cilien in eine Stützzelle entsenden. Zusätzlich liegen sie in einer Region des Gehirns, in der auch an der circadianen Rhythmik beteiligte Gene exprimiert werden, was eine Rolle in der Photoperiodizität nahelegt (Arendt *et al.* 2004).

Aber auch bei anderen Anneliden kommen ciliäre Photorezeptorzellen vor, die sich z. B. im Verzweigungsmuster der Cilien oder der Anzahl der Zellen z. T. deutlich von denen bei *P. dumerilii* unterscheiden und deren Homologie unklar ist (Purschke & Müller 1996; Purschke & Hessling 2002; Purschke *et al.* 2006; Hausen 2007). Zusätzlich gibt es sowohl für einen Vertreter der Sedentaria, nämlich *C. teleta* durch Müller (1999), als auch für einen Vertreter der Errantia, nämlich *Scoloplos armiger* durch Wilkens & Purschke (2009) Hinweise auf potentiell photosensitive, ciliäre Strukturen im Prostomium. In beiden Fällen sind keine molekularen Daten vorhanden und nur für *S. armiger* ist die Ultrastruktur dieser Strukturen bekannt. Wie sieht die Ultrastruktur dieser potentiellen Photorezeptoren bei *C. teleta* aus, exprimieren sie ein Opsin, wenn ja welches und können Homologiehypothesen formuliert werden?

Ciliäre Photorezeptorzellen mit gänzlich anderer Ultrastruktur finden sich in den ektoptischen Augen entlang oder am distalen Ende der Radioli der Branchialkrone einiger Serpuliden und Sabelliden wie z. B. *Megalomma vesiculosum*. Hierbei handelt es sich um Komplexaugen bestehend aus zahlreichen Photorezeptorzellen, die ihrerseits Stapel paralleler und modifizierter Cilien besitzen, die voneinander durch Pigmentzellen getrennt sind, sogar Linsen aufweisen können und deren Stimulierung einen Rückzug des Tieres in die Röhre auslöst (Nicol 1950; Krasne & Lawrence 1966; Kerneis 1975; Smith 1984; Nilsson 1994). Sind alle diese Photorezeptorzellen also homolog zueinander, in welchem evolutiven Zusammenhang stehen die ciliären Photorezeptorzellen von *M. vesiculosum* mit denen von *P. dumerilii*?

1.4 Phylogenie der Annelida

Für die Beantwortung solcher Fragen und die gezielte Auswahl zu untersuchender Taxa ist eine gut unterstützte Phylogenie der Annelida von großer Bedeutung, die aber Gegenstand zahlreicher und oft kontroverser Diskussionen ist. Häufig wird dabei das von Rouse & Fauchald (1997) vorgeschlagene System herangezogen. Diese Sichtweise wird allerdings durch molekulare Daten nicht bestätigt (Bleidorn *et al.* 2006; Struck *et al.* 2007; Bleidorn *et al.* 2007; Zrzavý *et al.* 2009; Bleidorn *et al.* 2009). Der umfangreichste molekulare Datensatz der phylogenomischen Analyse von 34 Taxa durch Struck *et al.* (2011) unterstützt nun wieder die traditionellere Sichtweise, nach der die Polychaeten bedingt durch ihre Lebensweise und ihre Morphologie in Sedentaria und Errantia eingeteilt werden. Dieses ist insofern von besonderer Bedeutung, da durch die oben zitierten Arbeiten an *P. dumerilii* umfangreiche Daten für einen Vertreter der

Errantia vorliegen. Mit der vergleichenden Bearbeitung von *C. teleta*, einem Vertreter der Sedentaria, wären dementsprechend Rückschlüsse auf die Evolution von Photorezeptorzellen vor der basalen Aufspaltung in Errantia und Sedentaria möglich.

1.5 Molekulare Marker von Photorezeptorzellen und assoziierten Zellen

Bei der molekularen Charakterisierung von Photorezeptorzellen und assoziierten Zellen spielt die Auswahl der zum Einsatz kommenden Marker eine wichtige Rolle. Für die vorliegende Arbeit fiel die Wahl auf einen Satz von Genen für den Vergleichsdaten von *P. dumerilii* vorliegen, maßgeblich durch Guy (2008) und die in unterschiedlicher Form in Larval- und Adultauge exprimiert sind. Zu diesen Genen gehören u. a. die Mitglieder des RDGN-Netzwerkes (retinal determination genes network) *Pax6*, *Eyes absent*, *Six* und *Dachshund*, solche die bei der Spezifizierung von Neuronen eine Rolle spielen wie *Lhx* und *Single-minded*, an der Signaltransduktion in den Photorezeptoren beteiligte Gene wie *Gq- α* oder der vesikuläre Acetylcholin-Transporter und die Opsine. Die Interaktion der Mitglieder des konservierten RDGN-Netzwerkes z. B. spielt über Taxongrenzen hinweg und trotz morphologischer Unterschiede der Augen eine bedeutende Rolle bei der Einwicklung der Augen (Silver & Rebay 2005), was sie zu guten Kandidaten für Markergene macht. Die Mitglieder zeichnen sich nach Jemc & Rebay (2007) dadurch aus, dass ein Verlust der Genfunktion in defekten oder völlig fehlenden Augen resultiert und das eine Fehlexpression die Entwicklung ektopischer Augen induziert. *Lhx* und *Single-minded* gehören zu Genfamilien, deren Mitglieder u. a. an der Spezifizierung neuronalen Gewebes, an der Entwicklung von Augen oder an Prozessen der circadianen Rhythmik beteiligt sind und die in den Augen verschiedener Organismen exprimiert werden (Crews 1998; Wen *et al.* 2002; Farfán *et al.* 2009; Srivasta *et al.* 2010), weshalb sie ebenfalls von Interesse für diese Arbeit sind. Ein weiterer Kandidat ist der als spezifischer Marker für cholinerge Neuronen angesehene vesikuläre Acetylcholin-Transporter (Arvidsson *et al.* 1997), welcher z. B. bei *P. dumerilii* nur in den Larvalaugen, jedoch nicht in den Adultaugen exprimiert wird (Jékely *et al.* 2008). Die Gq-alpha-Untereinheiten sind von großer Bedeutung, stellen sie doch als Teil der Signaltransduktionskaskade konservative Marker für Photorezeptorzellen dar (Yau & Hardie 2009).

Die das Licht perzipierenden Bestandteile der Transduktionskaskade selbst, die Opsine, sind ein zentraler Marker zur Rekonstruktion der möglichen Evolution von Photorezeptorzellen (Arendt

2003). Opsine gehören zu der Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs), der größten Gruppe von Membranproteinen, die auf eine Vielzahl von Signalen reagieren (Choe *et al.* 2011). Die Opsine besitzen eine helikale Struktur mit sieben Transmembrandomänen, einem extrazellulären N-Terminus und einem intrazellulären C-Terminus und bestehen aus dem Apoprotein Opsin und der prosthetischen Gruppe Chromophor, meistens ein Vitamin A-Derivat, wobei das Opsin über eine Schiff-Base-Verbindung an einer Lysin-Position mit dem Chromophor verbunden ist. Das Chromophor ändert, durch ein Photon angeregt, seine Konformation von 11-cis zu all-trans und je nach Photorezeptor- und Opsintyp folgt eine intrazelluläre Signalkaskade, die unterschiedliche G-Proteine und second-messenger involviert (Arendt 2003; Terakita 2005; Shichida & Matsuyama 2009; Tsukamoto & Terakita 2010). Bis zum heutigen Tage wurden über 1000 Opsine sequenziert, die in sieben Gruppen eingeteilt werden können, u. a. hochkonservierte, als Interaktionsstellen für unterschiedliche G-Proteine dienende Tripeptide aufweisen, und sich in verschiedenen Taxa als spezifische Marker für Photorezeptorzellen erwiesen haben (Arendt *et al.* 2004; Terakita 2005; Ullrich-Lüter *et al.* 2011). Hinsichtlich ihrer Evolution wird derzeit ein Ur-Opsin hypothetisiert, welches noch in der gemeinsamen Stammlinie von Cnidaria und Bilateria dupliziert wurde, was die Bildung der Gruppen der c-Opsine und aller anderen Opsine zur Folge hatte (Suga *et al.* 2008; Nilsson 2009; Vopalensky & Kozmik 2009).

1.6 Ziel der Untersuchungen

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die integrative Charakterisierung von Zelltypen verschiedener lichtsensitiver Organe bei *C. teleta* und *M. vesiculosum*, um Aussagen über deren Homologie und Evolution formulieren zu können. Dafür werden vergleichende Daten zur Expression ausgewählter Gene erhoben, welche für die Funktionalität von Photorezeptorzellen und Augen von Bedeutung sind, aber auch ultrastrukturelle Daten. Der daraus resultierende Datensatz soll auf mehreren Organisationsebenen detaillierte Vergleiche der Zelltypen von Lichtsinnesorganen innerhalb der Annelida erlauben.

2 Material und Methoden

2.1 Tiermaterial

Capitella teleta

Ausgehend von Gründungsindividuen aus einer intakten Kultur im Labor von Judith P. Grassle (Rutgers University, New Jersey/USA) wurde im Institut für Biologie/Zoologie der Freien Universität Berlin und im Institut für Evolutionsbiologie und Ökologie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn eine *Capitella teleta*-Kultur etabliert. In Anlehnung an die von Grassle & Grassle (1976) entwickelten und von Seaver *et al.* (2005) beschriebenen Kulturbedingungen wurden die Tiere bei 18°C und einem, den natürlichen Mondphasen angepassten Lichtregime in Plastikboxen (10 cm x 10 cm x 6 cm, B x T x H) in natürlichem Seewasser (Biologische Anstalt Helgoland) mit künstlicher Belüftung gehalten. Als Substrat und zur Fütterung diente gesiebtes Sediment mit der Korngröße $\leq 500 \mu\text{m}$ aus dem Schlickwatt von List/Sylt, das bei -20°C gelagert wurde. Vor jedem Sedimentwechsel wurde eine adäquate Menge aufgetaut und zwei Tage in einem geschlossenen Gefäß stehen gelassen um Bakterien im Sediment anzureichern. Zusätzlich wurde eine Spatelspitze Fischfutter (Tetramin) zugegeben. Alle zwei Wochen wurde der Inhalt der Boxen mit Sieben der Maschenweiten 500 μm und 250 μm gesiebt (Nylon-Siebewebe NITEX, Gebr. Stallmann/Rellingen) und das alte Sediment entfernt. Auf diese Weise gewonnene Brutröhren wurden mit dem Binokular auf Larven hin untersucht und vorsichtig mit Federstahlpinzetten geöffnet. Die Larven wurden nach Seaver *et al.* (2005) verschiedenen Entwicklungsstadien zugeordnet, um sie im Anschluss entweder für weitere Untersuchungen zu fixieren oder bis zum gewünschten Stadium in Glasschälchen mit natürlichem Seewasser zu halten.

Megalomma vesiculosum

Adultmaterial von *Megalomma vesiculosum* wurde im Watt vor der Station Biologique in Roscoff/Frankreich gesammelt. Die Krone der Tiere wurde entweder direkt vor Ort für nachfolgende Untersuchungen entsprechend fixiert oder die Tiere wurden lebend nach Berlin verbracht und dort in einem Aquariensystem bei 12°C und einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 12 h gehältert.

2.2 Kits

- BD SMART™ RACE cDNA Amplification-Kit (Clontech #634914)
- GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare #28-9034-70)
- NucleoSpin® Extract II-Kit (Macherey-Nagel #740609.50)
- pGEM®-T Easy Vector System (Promega #A1360)
- Plasmid Miniprep DNA Purification-Kit (Roboklon #E3500-01)
- QIAfilter Plasmid Midi-Kit (Qiagen #12243)
- QIAquick PCR Purification-Kit (Qiagen #28104)
- RadPrime DNA Labeling System (Invitrogen #18428-011)
- RNeasy Mini-Kit (Qiagen #74104)
- TOPO® TA Cloning Dual Promoter-Kit (Invitrogen #K4600-01)
- TSA™ Plus Cyanine 3 & Cyanine 5 System (Perkin Elmer #NEL752001KT)

2.3 Antikörper

Primäre Antikörper

- Anti-acetyliertes α -Tubulin Antikörper (Sigma #T7451)
- Anti-Serotonin Antikörper (Sigma #S5545)
- Anti-Digoxigenin-AP-gekoppelter Antikörper (Roche #11093274910)
- Anti-Fluorescein-POD-gekoppelter Antikörper (Roche #11426346910)

Sekundäre Antikörper

- Alexa Fluor® 488 goat-anti-rabbit Antikörper (Invitrogen #A-11008)
- Alexa Fluor® 633 goat-anti-mouse Antikörper (Invitrogen #A-21050)

2.4 Vektoren und Bakterienstämme

Fragmente aus PCRs (Polymerase-Kettenreaktion) wurden entweder in den pCR[®]II-TOPO[®] Vektor mittels des TOPO[®] TA Cloning Dual Promoter-Kits oder in den pGEM[®]-T Easy Vektor mittels des pGEM[®]-T Easy Vector System kloniert. Für die Amplifikation der Plasmide wurden die Bakterienstämme *E. coli* TOP10 und *E. coli* JM109 sowie LB-Medium und LB-Agar genutzt. Eine finale Konzentration von 100 µg/ml Ampicillin diente dabei der Selektion von Ampicillin-resistenten Klonen.

2.5 Chemikalien und Lösungen

Flüssige Selektionsmedien und Agarplatten wurden entsprechend den Standardprotokollen von Sambrook *et al.* (1989) hergestellt.

Es folgt eine Übersicht über Standardlösungen. Sofern besondere Lösungen oder Chemikalien zum Einsatz kamen werden diese im Zusammenhang mit der entsprechenden Methode erwähnt.

AP-Färbelösung	AP-Puffer + 6,6 ml/ml NBT und 3,3 ml/ml BCIP
AP-Puffer	100 mM NaCl 50 mM MgCl ₂ 100 mM Tris (pH 9,5) 0,5 % Tween 20
Denhardt's (50 x konzentriert)	1 % BSA 1 % Ficoll 400 1 % Polyvinylpyrrolidon
Hybridisierungspuffer	50 % Formamid 5 x SSC (pH 4,5) 50 µg/ml Heparin 0,1 % Tween-20 1 % SDS 100 µg /ml SS DNA

Hybridisierungspuffer (Southern Blots)	35 % Formamid 5 x Denhardt's 100 µg/ml Kalbsthymus-DNA 50 mM Tris/HCl (pH 7,5) 1 % SDS 5 x SSC
Ladepuffer (10 x konzentriert)	50 % Glycerin 100 mM EDTA (pH 7,5) 1,5 mM Bromphenolblau 1,9 mM Xylencyanol
PBS (10 x konzentriert) pH 7,4	18.6 mM NaH ₂ PO ₄ 84.1 mM Na ₂ HPO ₄ 1,750 mM NaCl
PBT	PT + 0.1 % BSA
PT	1 x PBS + 0.2 % Triton
PTW	1 x PBS + 0.1% Tween-20
SSC (20 x konzentriert) pH 7	0.3 M Natriumcitrat 3 M NaCl
TAE (50 x konzentriert, 1l) pH 8,5	242 mg Tris-Base 57,1 ml Essigsäure 100 ml 0,5 M EDTA
TNT	0,1 M Tris-Cl, pH 7,5 0,15 M NaCl 0,1 % Tween 20

2.6 Whole mount *in situ*-Hybridisierung

Die Whole mount *in situ*-Hybridisierung (WMISH) wird hier genutzt, um die räumliche und zeitliche Expression verschiedener Gene bei *C. teleta* und *M. vesiculosum* zu untersuchen. Die dabei angewandten Protokolle sind Variationen der angegebenen Verfahren von Arendt *et al.* (2001), Tessmar-Raible *et al.* (2005) und Elaine C. Seaver (pers. Kommunikation).

2.6.1 Whole mount *in situ*-Hybridisierung – einfarbiger Nachweis

2.6.1.1 Fixierung

Nach vorangegangener Relaxierung für 3 min in 7 % MgCl₂/Seewasser wurde Tiermaterial von *C. teleta* bzw. von *M. vesiculosum* in 4 %-Paraformaldehyd/2 x PTW für 2 h bei Raumtemperatur (RT) auf einem Schüttler bei etwa 300 rpm in Zellkultur-Testplatten (Orange Scientific #5530500) fixiert. Im Anschluss folgten vier Waschschrte zu je 5 min, drei mit 2 x PTW und der Vierte mit 100 % Methanol. Bis zur weiteren Präparation wurde das Material in 100 % Methanol bei -20°C aufbewahrt.

2.6.1.2 Sondengenerierung

Für die WMISH wurden entweder mit Digoxigenin-Uridintriphosphat (Dig-UTP-Sonde) oder Fluorescein-Uridintriphosphat (Fluo-UTP-Sonde) markierte Sonden verwendet. Die Vorgehensweise bei der Generierung der jeweiligen Sonden war dabei identisch.

- Linearisierung von etwa 10 µg des jeweiligen Templates mit passendem Restriktionsenzym
- Aufreinigung des Templates von Restriktionsenzym und -puffer mit dem GFX PCR DNA and Gel Band Purification-Kit
- Überprüfung eines 2 µl Aliquots auf kompletten Verdau mittels Agarose-Gel (1,5 % TAE)
- Pipettierung der Transkriptionsreaktion bis zu einem Endvolumen von 20 µl pro Ansatz:

linearisiertes Template	10 µl
100 mM DTT	2 µl
NTP-Mix: ATP, CTP, GTP (je 15,4 mM), UTP (10 mM)	1,3 µl
Digoxigenin-UTP oder Fluorescein-UTP (10 mM)	0,7 µl
RNAse Inhibitor	0,5 µl
10 x Transkriptionspuffer	2 µl
H ₂ O	ad 19 µl
RNA-Polymerase (SP6 oder T7)	1 µl

- Inkubierung des Ansatzes für 4 h bei 37°C
- Zugabe von 1,5 µl DNaseI und Inkubierung für weitere 15 min bei 37°C
- Aufreinigung des Ansatzes mit dem RNeasy Mini-Kit und Eluierung in 50 µl H₂O
- Überprüfung eines 2 µl Aliquots in formamidhaltigem Ladepuffer im Agarose-Gel (1,5 % TAE)
- Verdünnung des restlichen Eluats mit 75 µl Hybridisierungspuffer und Lagerung als Sonde bei -20°C

2.6.1.3 Rehydrierung und Verdau

Sofern nicht anders angegeben, fanden die einzelnen Schritte bei RT, für 5 min, auf einem Schüttler bei 300 rpm und in 3 ml Lösung pro Reaktionsgefäß (Well) der Zellkultur-Testplatten statt.

- Transfer des fixierten Tiermaterials in Zellkultur-Testplatten
- Rehydrierung durch Waschen mit:
 - frischem 100 % Methanol
 - 60 % Methanol/40 % PTW
 - 30 % Methanol/70 % PTW
- 4 x Waschen in PTW
- Verdau mit 0.01 mg/ml Proteinase-K/PTW (Merck #1.24568.0100) für zwei bis fünf Minuten, abhängig vom Alter der Stadien ohne Schütteln

- 2 x Waschen mit frisch angesetztem Glycin/PTW (2 mg/ml) zum Stopp des Verdaus
- Waschen in 1 % Triethanolamin in PTW unter Zugabe von 1,5 µl Eisessig
- nach 5 min Zugabe von weiteren 1,5 µl Eisessig
- 2 x Waschen in PTW
- Nachfixieren in 4% Paraformaldehyd in PTW für 30 – 60 min
- 5 x Waschen in PTW
- Transfer des Tiermaterials in 2 ml-Eppendorf-Gefäße
- Erhitzen des Tiermaterials auf 80°C für 10 min im Heizblock ohne Schütteln

2.6.1.4 Prähybridisierung

- Entfernung der Flüssigkeit, Zugabe von 500 µl Hybridisierungspuffer und Inkubierung für 10 min bei RT
- Entfernung der Flüssigkeit, Zugabe von 500 µl – zuvor auf 65°C erwärmten – Hybridisierungspuffer
- Inkubierung für 4 h oder über Nacht bei 65°C

2.6.1.5 Hybridisierung

Sofern nicht anders angegeben, fanden die nun folgenden Schritte bei 65°C für 5 min im Wasserbad und in 1 ml Lösung pro Reaktionsgefäß (Eppendorfgefäß) statt. Das Wechseln der vorgewärmten Flüssigkeiten wurde dabei möglichst schnell durchgeführt, um ein Auskühlen sowohl des Tiermaterials als auch der Flüssigkeiten zu vermeiden.

- Verdünnung der Sonde in Hybridisierungspuffer (20 bis maximal 30 µl Digoxigenin-UTP markierte Sonde in 200 µl Gesamtvolumen)
- Denaturierung der Sonde bei 80 – 90°C für 10 min im Heizblock
- Entfernung der Prähybridisierungslösung und Zugabe der denaturierten Sonde
- Hybridisierung für 48 – 72 h bei 65°C im Wasserbad
- Entfernung der Sonde

- Waschen mit Hybridisierungspuffer
- Waschen mit Hybridisierungspuffer für 20 min
- Waschen in 75 % Hybridisierungspuffer/25 % 2 x SSC für 10 min
- Waschen in 50 % Hybridisierungspuffer/50 % 2 x SSC für 10 min
- Waschen in 25 % Hybridisierungspuffer/75 % 2 x SSC für 10 min
- Waschen in 100 % 2 x SSC für 10 min
- Waschen in 0,05 x SSC für 2 x 30 min
- Waschen in 75 % 0,05 x SSC/25 % PTW bei RT
- Waschen in 50 % 0,05 x SSC/50 % PTW bei RT
- Waschen in 25 % 0,05X SSC/75 % PTW bei RT
- Waschen in 100 % PTW bei RT

2.6.1.6 Visualisierung

- 5 x Waschen mit PBT für 5 min bei RT
- Blocken in Block-Puffer (Roche #11096176001) für 1 h bei RT
- Inkubierung in Anti-Digoxigenin-AP-gekoppeltem Antikörper/Block-Puffer 1 : 5000 bei 4°C über Nacht
- Transfer des Tiermaterials in Zellkultur-Testplatten

Sofern nicht anders angegeben, fanden die einzelnen Schritte bei RT, auf einem Schüttler bei 300 rpm und in 3 ml Lösung pro Reaktionsgefäß (Well) statt.

- 7 – 8 x Waschen für 10 min in PBT
- 3 x Waschen für 5 min in AP-Puffer
- Färbung in AP-Färbelösung mit 6,6 µl NBT/ml (Roche #11383213001) und 3,3 µl BCIP/ml (Roche #11383221001) in AP-Puffer bei RT im Dunklen ohne Bewegung bis zu vier Tagen
- Stoppen der Färbereaktion durch 5 x Waschen mit PTW und Überführung in 80% Glycerin/PTW

Die Präparate wurden bis zur mikroskopischen Untersuchung im Dunkeln bei +4°C gelagert.

2.6.2 Whole mount *in situ*-Hybridisierung – zweifarbiger Nachweis

Für die Kolokalisation von zwei Genen wurde jeweils die Sonde für ein Gen mit Fluorescein-UTP markiert, die Sonde für das zweite Gen mit Digoxigenin-UTP. Dabei fand eine – beginnend mit der Hybridisierung – abgewandelte Form des Protokolls von 2.6.1 und zusätzlich das TSA™ Plus Cyanine 3 & Cyanine 5 System Verwendung. Die Hybridisierung erfolgte mit beiden Sonden gleichzeitig, wobei 20 bis maximal 30 µl Digoxigenin-UTP markierte Sonde mit 10 µl Fluorescein-UTP markierter Sonde in 200 µl Gesamtvolumen Hybridisierungspuffer verwendet wurden. Hinsichtlich des zeitlichen Ablaufes wurde zuerst die Digoxigenin-UTP markierte Sonde nachgewiesen, danach die Fluorescein-UTP markierte Sonde. Nachdem das mit einer Digoxigenin-Sonde markierte Gen nachgewiesen wurde, fanden noch gemäß dem Protokoll 2.6.1.6 fünf Waschschrte mit PTW zu je fünf Minuten statt.

Direkt danach wurde einmalig für fünf Minuten mit TNT gewaschen. Die Larven wurden dann mindestens für 1 – 2 h bei RT auf einem Schüttler in TNB (1 % Perkin Elmer Blocking Reagent #FP1012/TNT) geblockt. Anschließend wurde das TNB gegen eine 1 : 200 Verdünnung des Anti-Fluorescein-POD-gekoppelten Antikörpers in 1 % TNB ausgetauscht und über Nacht bei 4°C inkubiert. Am nächsten Tag wurde 6 x 10 min mit TNT gewaschen und die Larven in 100 µl TSA Plus Amplification Diluent equilibriert. Die Färbereaktion fand dann in 25 µl einer 1 : 25 Verdünnung des Cyanin 3-Tyramides in TSA Plus Amplification Diluent statt. Die Reaktion selber erfolgte im Dunkeln bei RT und ohne Bewegung für maximal 4 h. Zum Stoppen der Reaktion wurde 3 x 10 min in TNT bei RT gewaschen und dann über Nacht bei 4°C in TNT. Für die Auswertung am konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop (cLSM) wurden die Larven in 80 % Glycerin/PTW mit 2,5 mg/ml DABCO (Roth #0718) überführt.

2.6.3 Whole mount *in situ*-Hybridisierung – mit Antikörperfärbung

Für die Kolokalisation eines Gens und eines Antikörpers fand nach der Hybridisierung mit der Digoxigenin-UTP markierten Sonde und dem Auswaschen derselben eine abgewandelte Form des Protokolls von 2.6.1 Verwendung.

Nach den Waschschrten (2.6.1.5) wurde für ein bis zwei Stunden in 5 % Schafserum/PTW bei RT geblockt und anschließend die Larven mit einer 1 : 5000 Verdünnung des Anti-

Digoxigenin-AP-gekoppelten Antikörpers und mit einer 1 : 100 Verdünnung des primären Antikörpers (Anti-acetyliertes α -Tubulin Antikörper) in PTW über Nacht bei 4°C inkubiert. Es folgten fünf bis sechs Waschschriffe zu je 10 min in PTW, drei Waschschriffe zu je 5 min in AP-Puffer und die Färbung in der AP-Färbelösung bei RT im Dunklen ohne Bewegung. Die Färbereaktion wurde durch fünfmaliges Waschen mit PTW gestoppt. Im Anschluss erfolgte ein erneutes Blocken der Ansätze für ein bis zwei Stunden in 5 % Schafserum/PTW. Danach wurde über Nacht bei 4°C mit dem sekundären Antikörper (Alexa Fluor® 633 goat-anti-mouse Antikörper) 1 : 400/PTW inkubiert. Der Antikörper wurde mit PTW 5 x für 20 min ausgewaschen und die Larven in 80 % Glycerin/PTW mit 2,5 mg/ml DABCO eingedeckelt.

2.7 Immunohistochemie

2.7.1 Immunmarkierungen gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin

Zunächst wurden die Larven von *C. teleta* für 3 min in 7 % MgCl₂/Seewasser relaxiert. Die Fixierung erfolgte für 1 h bei 4°C in 4 % PFA/PBS. Anschließend wurde mit drei direkt aufeinander folgenden Waschschriffen mit PBT und drei weiteren PBT-Waschschriffen im Abstand von je 5 min das Fixativ ausgewaschen. Zur Lagerung bei -20°C wurden die Larven in 100 % Methanol überführt. Die Rehydrierung geschah in Schritten von jeweils 5 min bei RT in 75 % Methanol/25 % PBT, 50 % Methanol/50 % PBT und 25 % Methanol/75 % PBT. Auf drei Waschschriffe zu je 5 min mit PBT folgte ein Blocken der Larven für 2 h in 0,25 % BSA/PBT + 0,01 % NaN₃ bei RT auf einem Schüttler. Die Inkubation mit den primären Antikörpern (Anti-acetyliertes α -Tubulin Antikörper 1 : 100/PBT und Anti-Serotonin Antikörper 1 : 500/PBT) fand über Nacht bei RT statt. Danach wurde dreimal direkt nacheinander und dann viermal im Abstand von je 60 min mit PBT gewaschen. Die Inkubation mit den sekundären Antikörpern (Alexa Fluor® 633 goat-anti-mouse Antikörper 1 : 500/PBT und Alexa Fluor® 488 goat-anti-rabbit Antikörper 1 : 500/PBT) erfolgte ebenfalls über Nacht bei RT. Analog fanden dann drei direkt aufeinander folgende Waschschriffe und vier weitere im 60 min Abstand mit PBT statt. Präparate, die nicht direkt untersucht wurden, wurden in PBT mit 0,01 % NaN₃ bei 4°C gelagert. Für die Untersuchung am cLSM wurden die Larven in 90 % Glycerin/10 % PBT + 0,01 % NaN₃/0,25 % DABCO überführt.

2.7.2 Phalloidinfärbung

Für die Färbungen mit Phalloidin (Alexa Fluor® 568 Phalloidin, Invitrogen #A12380) wurden die Larven zunächst für 3 min in 7 % MgCl₂/Seewasser relaxiert und dann für 30 min in 4 % PFA/PBS fixiert. Es folgten drei zügige Waschschrte mit gekühltem PBT und drei weitere Waschschrte mit gekühltem PBT zu je 10 min. Die Färbereaktion erfolgte bei 9°C für 2 h auf einem Schüttler in 5 µl Phalloidin/200 µl PBT. Hierauf folgten erneut drei zügige Waschschrte mit gekühltem PBT und drei weitere Waschschrte mit gekühltem PBT zu je 10 min. Zum Schluß wurden die Larven in 90 % Glycerin/10% PBT + 0,01 % NaN₃/0,25 % DABCO überführt und am cLSM untersucht.

2.8 Mikroskopie

Die Untersuchung von Präparaten mit einfarbigem Nachweis erfolgte an einem Zeiss Axiophot Mikroskop mit einer ProgResCF Kamera unter Nutzung der ProgrRes Capture Pro v2.7.7-Software und den Objektiven 10 x, 20 x, 40 x Plan Neofluar im Differentialinterferenzkontrast (DIK). Die Untersuchung ungefärbter Präparate fand ebenfalls mit diesem Mikroskop im Hellfeld statt.

Die Untersuchung von Präparaten mit zweifarbigem Nachweis erfolgte zusätzlich an einem Leica cLSM TCS SPE unter Nutzung der LAS AF 1.6.1-Software und den Objektiven 10 x HCX Fluotar, 20 x HC PL APO, 40 x HCX PL Fluotar, 63w x HCX PL APO und 63oil x HCX PL APO im Transmissions- und Fluoreszenzkanal. In einzelnen Fällen wurde zur Visualisierung zusätzlich mit dem von Jékely & Arendt (2007) beschriebenen Reflektionsmodus gearbeitet. Für die Kombination verschiedener Aufnahmekanäle und zur Erstellung von z-Maximalprojektionen wurde die Software ImageJ v1.44i genutzt. Kolokalisationsanalysen wurden jeweils über den gesamten Bilderstapel mit dem Colocalization Highlighter-Plugin von ImageJ generiert.

2.9 RNA-Extraktion

Für die Gewinnung von Total RNA wurde das RNeasy Mini-Kit verwendet. Im Fall von *C. teleta* wurden dafür zunächst einige Adulte und Larven der Kultur entnommen und separat in kleinen Glasschälchen für wenige Tage gehältert. Sobald ihr Darm sichtbar

entleert war und sich keine groben Schmutzpartikel oder Algen mehr an ihnen befanden, wurden die Tiere gemäß den Herstellerangaben des oben genannten Kits aufbereitet.

Im Fall von *M. vesiculosum* wurde den Tieren mit einem Skalpell die Krone bis kurz oberhalb ihrer Basis entfernt und diese entsprechend den Herstellerangaben des oben genannten Kits aufbereitet.

Die Qualität der gewonnenen Total RNA wurde jeweils unverzüglich mit der Gelelektrophorese eines 2 µl Aliquotes auf Ethidiumbromid-gefärbten 1,5 % Agarose/TAE-Gelen (1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gele) überprüft und die Quantität photometrisch mit einem mit einem NanoDrop (Peqlab) bestimmt.

2.10 cDNA-Synthese

Die cDNA Erststrang-Synthese wurde mit Hilfe des BD SMART™ RACE cDNA Amplification-Kits gemäß den Herstellerangaben vollzogen. So gewonnene cDNA wurde als Ausgangsmaterial für die Amplifikation verschiedener Gene genutzt.

2.11 Klonierung

Die in dieser Arbeit untersuchten Gene von *C. teleta* und *M. vesiculosum* wurden anhand der nachfolgend beschriebenen Prozeduren kloniert. Die Vorgehensweisen unterschieden sich dabei in Abhängigkeit von vorab verfügbaren Daten.

2.11.1 Klonierung neuer Fragmente durch PCR mit degenerierten Primern

Zu Beginn der Arbeit fand zunächst ein Satz degenerierter Primer aus dem Labor von Detlev Arendt (EMBL/Heidelberg) Verwendung, welcher erfolgreich zur Klonierung von Opsinen bei *P. dumerilii* eingesetzt worden war (Arendt *et al.* 2004). 8 µl entsprechender PCR-Ansätze (2.11.5.1) wurden auf 1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gelen überprüft. Sofern Banden der erwarteten Größenordnung sichtbar waren, wurden erneut Aliquots der korrespondierenden PCR-Ansätze auf ein 1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gel aufgetragen und ein Southern Blot durchgeführt. Die Nylonmembran (Amersham Hybond™-N+ Nylon, GE Healthcare) wurde im Anschluss unter niederstringenten Bedingungen mit einem ³²P-markierten Fragment des Kandidatengens von

P. dumerilii hybridisiert. Sofern nach der Exposition auf dem Röntgenfilm ein positives Signal für die betreffende Bande auftrat, wurde wiederum ein Aliquot des zugehörigen PCR-Ansatzes auf ein 1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gel aufgetragen. Unter UV-Licht ($\lambda = 366 \text{ nm}$) wurde dann die Bande mit einer Skalpellklinge ausgeschnitten, mit dem QIAquick PCR Purification-Kit oder dem NucleoSpin[®] Extract II-Kit aufgereinigt und in einen der Vektoren (2.4) nach Herstellerangaben kloniert und amplifiziert. Entstandene Kolonien wurden einem Colony lift unterzogen, welcher wiederum unter niederstringenten Bedingungen mit der 32^{P} -markierten Sonde von *P. dumerilii* hybridisiert wurde. Nach der Exposition konnten so positive Klone identifiziert werden. Die zugehörige Kolonie wurde gepickt und mit ihr eine 5 ml LB/Ampicillin-Flüssigkultur angeimpft. Es folgte eine Präparation mit dem Plasmid Miniprep DNA Purification-Kit und die Übergabe ausgewählter Plasmide an einen Sequenzierservice (2.12). In Zweifelsfällen wurden die Plasmide aus den Mini-Präparationen noch einem EcoRI- und einem HinfI-Restriktionsverdau unterzogen. Der EcoRI-Verdau diente dabei der Abschätzung der Insertgröße, der Verdau mit dem Polycutter HinfI gab Hinweise darauf, welche Klone wahrscheinlich identisch waren. Im Fall von positiven Sequenziererergebnissen erfolgte eine Maxipräparation des entsprechenden Ansatzes mit dem QIAfilter Plasmid Midi-Kit gemäß den Herstellerangaben.

2.11.2 Klonierung neuer Fragmente durch PCR mit spezifischen Primern

Als unassemblierte Rohdaten der fortschreitenden Genomsequenzierung von *C. teleta* verfügbar waren, wurden diese auf verschiedene Kandidatengene hin untersucht. Dafür wurden zunächst die Trace-Dateien im Verzeichnis des National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/trace.cgi?>) und zu einem späteren Zeitpunkt die Maske des DOE Joint Genome Institute (<http://genome.jgi-psf.org/Capca1/Capca1.home.html>) benutzt. Mit der bioinformatischen Unterstützung von Florian Raible (MFPL/Wien) wurde zusätzlich für Opsinkandidaten an den Rohdaten wiederholt genomic walking durchgeführt, wodurch Contigs generiert werden konnten. Aus diesen wurden dann mittels einer Analyse durch GenomeScan (<http://genes.mit.edu/genomescan.html>) Genmodelle erzeugt. Grundsätzlich wurden Genmodelle mit den Sequenzen der Kandidatengene anderer Taxa mit ClustalX v2.0.11 (Thompson *et al.* 1997; Larkin *et al.* 2007) und Serial Cloner v1.3 aligniert und verglichen und von Hand spezifische Primer für konservierte Regionen erstellt. Es folgten PCRs mit den unter 2.11.5.2 aufgeführten Programmen und Primern. Die auf die PCRs folgenden Schritte gleichen weitgehend denen bei einer PCR mit degenerierten Primern. Zunächst wurde von jedem PCR-

Ansatz ein 3 µl Aliquot auf einem 1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gel überprüft. Sofern eine Bande die erwartete Größe aufwies, wurden 20 µl des entsprechenden Ansatzes auf ein 1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gel aufgetragen und die betreffende Bande unter UV-Licht ausgeschnitten. Die Bande wurde entweder mit dem QIAquick PCR Purification-Kit oder dem NucleoSpin® Extract II-Kit aufgereinigt und in einen der Vektoren (2.4) nach Herstellerangaben kloniert und amplifiziert. Je nach Situation wurden bis über 100 Kolonien gepickt, einer Colony-PCR unterzogen und ausgewählte davon über Nacht in einer 5 ml LB/Ampicillin-Flüssigkultur amplifiziert. Es folgte ein Präparation mit dem Plasmid Miniprep DNA Purification-Kit und die Übergabe ausgewählter Klone an einen Sequenzierservice (2.12). In Zweifelsfällen wurden die DNA aus den Mini-Präparationen noch einem EcoRI- und einem HinfI-Verdau unterzogen. Sofern die Sequenzierergebnisse den Erwartungen entsprachen, erfolgte eine Maxipräparation des entsprechenden Ansatzes mit dem QIAfilter Plasmid Midi-Kit gemäß den Herstellerangaben. Die Herstellung der Primer erfolgte durch

- Eurofins MWG Synthesis GmbH (Ebersberg/Deutschland)
- Sigma-Aldrich Handels GmbH (Wien/Österreich)
- Invitrogen GmbH (Karlsruhe/Deutschland)

2.11.3 RACE-PCR

Für die Verlängerung von Fragmenten, die aus einer PCR mit degenerierten Primern stammten, wurden spezifische Primer innerhalb der bekannten Sequenz dieser Fragmente entworfen. Eine RACE-PCR (rapid amplification of cDNA-ends) wurde mit diesen Primern und dem UPM-Primer aus dem BD SMART™ RACE cDNA Amplification-Kit durchgeführt. 8 µl der Ansätze wurden auf einem 1,5 % Agarose/TAE-EtBr-Gel überprüft, durch einen Southern Blot auf eine Membran übertragen und mit einem ³²P-markierten Fragment des Gens hochstringent hybridisiert. Für den Fall positiver Signale auf dem Röntgenfilm wurde die entsprechende Bande aus einem präparativen Gel ausgeschnitten, mit Hilfe des QIAquick PCR Purification-Kits oder des NucleoSpin® Extract II-Kits eluiert und mittels eines der Klonierungskits kloniert. Es folgten analog zu 2.11.2 die Schritte der Amplifizierung, Präparation und Sequenzierung.

2.11.4 Radioaktive Hybridisierung

2.11.4.1 Sondenerstellung

Für die Erstellung radioaktiv markierter Sonden fanden Genfragmente von *P. dumerilii*, *C. teleta* und *M. vesiculosum* Verwendung. Die Fragmente wurden über einen Verdau des Plasmids mit Restriktionsenzymen erhalten und aus entsprechenden präparativen Gelen mit dem QIAquick PCR Purification-Kit eluiert. Für die radioaktive Markierung selbst kamen das RadPrime DNA Labeling System und das radioaktive Nukleotid P³²dCTP entsprechend den Herstellerangaben zum Einsatz.

2.11.4.2 Hochstringente Hybridisierung

Wie in Sambrook *et al.* (1989) beschrieben, wurde die DNA zunächst auf eine Nylonmembran transferiert. Letztere wurde dann einmal kurz mit 1 x SSC gewaschen und für 20 – 30 min bei 65°C in RapidHyb-Puffer (Amersham Bioscience #RPN1636) prähybridisiert. Nach 5 min Denaturierung von 20 µl der radioaktiven Probe bei 95°C wurde diese zu der Membran hinzugegeben und für 2 h bei 65°C hybridisiert. Es folgte unmittelbar ein Waschschrift und zwei weitere nach je 20 min mit 0,1 x SSC/0,1 % SDS bei 65°C. Im Anschluss wurde die Membran zusammen mit einer Verstärkerfolie bei -80°C exponiert.

2.11.4.3 Niederstringente Hybridisierung

Auch hier wurde die Nylonmembran zunächst einmal kurz mit 1 x SSC gewaschen, dann allerdings für 2 h bei 42°C in formamidhaltigem Hybridisierungspuffer prähybridisiert. Nach 5 min Denaturierung von 20 µl der radioaktiven Probe bei 95°C wurde diese zu der Membran hinzugegeben und über Nacht bei 42°C hybridisiert. Es folgten zwei zügige Waschschriffe und zwei weitere zu je 20 min mit 5 x SSC/0,1 % SDS bei 42°C. Im Anschluss wurde die Membran zusammen mit einer Verstärkerfolie bei -80°C exponiert.

2.11.5 PCR-Ansätze

2.11.5.1 PCR mit degenerierten Primern

Eine PCR mit degenerierten Primern wurde für *Cte-ops7* und *Mve-c-ops* anhand des aufgeführten Programms und Pipettierschemas durchgeführt.

01) 94°C	1 min	Primer P1 (5µM)	1,5 µl
02) 43°C	2 min	Primer P2 (5µM)	1,5 µl
03) 72°C	4 min	dNTPs (5 mM)	2 µl
04) Goto 01	5 x	10 x Puffer	5 µl
05) 94°C	1 min	Taq-Polymerase	0,2 µl
06) 48°C	2 min	cDNA	2 µl
07) 72°C	4 min	H ₂ O	37,8 µl
08) Goto 05	35 x		
09) 72°C	10 min		
10) 10°C	∞		

2.11.5.2 PCR mit spezifischen Primern

Eine PCR mit spezifischen Primern wurde für *Cte-chx10*, *Cte-dac*, *Cte-eya*, *Cte-FVRI*, *Cte-Gqα*, *Cte-lhx2/9*, *Cte-pax6*, *Cte-sim*, *Cte-six1/2*, *Cte-spr*, *Cte-tdo2* und *Cte-VACHT* anhand des aufgeführten Programms und Pipettierschemas durchgeführt. Im Fall der Fusions-PCR von *Cte-dac* wurde die Elongationszeit auf zwei Minuten verlängert. Für *Cte-ops7* wurde erst nach vorangegangenen PCRs mit degenerierten Primern (2.11.5.1) und einer RACE-PCR (2.11.5.3) eine PCR mit spezifischen Primern zur Reklonierung durchgeführt.

01) 95°C	15 min	Primer P1 (5µM)	5 µl
02) 95°C	30 sec	Primer P2 (5µM)	5 µl
03) 60°C	45 sec	dNTPs (5mM)	2,5 µl
04) 72°C	1,5 min	10 x Puffer	5 µl
05) Goto 02	34 x	Hotstar-Taq-Polymerase	0,2 µl
06) 72°C	10 min	cDNA	2 µl
07) 4°C	∞	H ₂ O	30,3 µl

Eine PCR mit spezifischen Primern und einem abgewandelten Programm wurde für *Cte-r-ops*, *Cte-ops2*, *Cte-ops3*, *Cte-ops5*, *Cte-ops6* und *Cte-ops8* anhand des aufgeführten Programms und Pipettierschemas durchgeführt.

01) 95°C	15 min	Primer P1 (5µM)	1,5 µl
02) 94°C	1 min	Primer P2 (5µM)	1,5 µl
03) 54-56°C	2 min	dNTPs (5 mM)	2 µl
04) 72°C	4 min	10 x Puffer	5 µl
05) Goto 02	5 x	Hotstar-Taq-Polymerase	0,25 µl
06) 94°C	1 min	cDNA	2 µl
07) 59-61°C	2 min	H ₂ O	37,75 µl
08) 72°C	4 min		
09) Goto 06	35 x		
10) 72°C	10 min		
11) 10°C	∞		

2.11.5.3 RACE-PCR

Eine RACE-PCR wurde für *Cte-ops7* und *Mve-c-ops* anhand des aufgeführten Programms und Pipettierschemas durchgeführt.

01) 94°C	1 min	Primer P1 (5µM)	2,5 µl
02) 52-56°C	2 min	UPM-Primer-Mix	5 µl
03) 72°C	4 min	dNTPs (5 mM)	2,5 µl
04) Goto 01	5 x	10 x Puffer	4 µl
05) 94°C	1 min	Taq-Polymerase	0,2 µl
06) 57-61 °C	2 min	cDNA	2 µl
07) 72°C	4 min	H ₂ O	23,8 µl
08) Goto 05	35 x		
09) 72°C	10 min		
10) 10°C	∞		

2.11.5.4 Colony-PCR

Als Ausgangsmaterial für die PCR-Reaktion dienten hier mit Zahnstochern oder Pipettenspitzen gepickte Kolonien. Mit diesen wurde zunächst jeweils ein PCR-Ansatz beimpft und direkt danach die korrespondierende Position einer Sicherungskopie in LB-Flüssigmedium.

Für den pGEM[®]-T Easy-Vektor wurden die Primer TGTAACACGACGGCCAGT (M13f) und CAGGAAACAGCTATGACC (M13r) und für den pCR[®]II-TOPO[®]-Vektor die Primer

TAACGGCCGCCAGTGTGCTG (PCRII_up) und GCCGCCAGTGTGATGGATATCTGCA (PCRII_lo) verwendet. Das benutzte Programm und Pipettierschema war dabei:

01) 94°C	2 min	Primer (5µM)	0,8 µl
02) 94°C	30 sec	Primer (5µM)	0,8 µl
03) 72°C	1,15 min	dNTPs (5 mM)	0,2 µl
04) Goto 02	34 x	10 x Puffer	1 µl
05) 72°C	10 min	Taq-Polymerase	0,1 µl
06) 10°C	∞	H ₂ O	7,1 µl

2.11.5.5 Primer

Nachstehende Tabelle 1 listet die Primer auf, die zur Klonierung verschiedener Gene verwendet wurden. Die Angabe der Nukleinsäuren erfolgt dabei gemäß der IUPAC-Nomenklatur.

Tabelle 1: Übersicht der verwendeten Primer zur Klonierung verschiedener Gene.

Gen	Primer P1	Primer P2
<i>Cte-chx10</i>	ATGAGTAAACGAAAGAAGAAGAAAAG	TCAGTTGGTTAGATCCAGTGATTCA
<i>Cte-dac</i>	CAGGACGTCCCCGAAGCGGAG ATGACCACTGTTTTGGAAGGATCTG ATGACCACTGTTTTGGAAGGATCTG	ACGCATGCGGTTTCAGTTTCGGAG TGTAATTTGGGAAATAACTAACGGTC ACGCATGCGGTTTCAGTTTCGGAG
<i>Cte-eya</i>	ATGGCGGGTACAGGGGCCGCTG	TTAGAGATACTCTTCGAGCAGCGC
<i>Cte-FVRI</i>	CGTGCACTTGCCCTTCTGCTGG	GCTACTTCTCTTCCAATGCGCAC
<i>Cte-Gqa</i>	ATGGCGTGCTGCCTGAGCGAGG	TATTCCTTCAGATTCAGCTGCAGG
<i>Cte-lhx2/9</i>	GCCATGATCCCTGAGCCCGGT	TCCGTCAGCGTCCTGTTTCAGTAG
<i>Cte-ops2</i>	CCAGCTCCGTCCAATGTCCTGG	TCCGCTGCGTATGGTAACCTGG
<i>Cte-ops3</i>	ATGTATGGATTCCTGGGGGGTTG	GATGAGTCTGTGTGCTTATCCTGG
<i>Cte-ops5</i>	AATCTCATGGTCATCACTGCGTTTC	CGCCAACAACTGCTGAGCCAGG
<i>Cte-ops6</i>	CATTTATCGATTCAGCTTGTTTCGT	TGAACACAAAAAGCGCATCTTCGC
<i>Cte-ops7</i>	TTYATGGTAGC5TGGA5CC5TAYGC TTTGCAGCCGTGGCTGCGGTGC	NGCNGC5CKRAAYTG5KTRITCAT GTAGATGCAAGGATTATAACAGG CCTGAACTCTTCTCAATCAGCTTG
<i>Cte-ops8</i>	GCTCCTCTGCTTGGATGGGGTGC	GGAAATTTTGATTTTCATACACGG
<i>Cte-pax6</i>	TCAGGGCACAGCGGAGTGAACCA	TTGAATCCTGGGCCAGTACTGTGA
<i>Cte-r-ops</i>	ATGGCGTCCTTTGAACTAGCGAT	TCGAGGGCAGCTCGGAACTTAGG
<i>Cte-spr</i>	ATGGCTGCCTCCGATGGACGTGA	GATGTCATAGTAATCAAGATGAGCAC
<i>Cte-sim</i>	ATGAAAGAAAAGTCGAAAATGCCG	GGGGTACGGAGATCGACGCTGC
<i>Cte-six1/2</i>	ATGCTGCACGAGCAGATGCCAC	GTAATCGGACAACAGACCATTTCATG
<i>Cte-tdo2</i>	GAGGCGCTGCATTTGTTGAGATGG	CTCTGTTTCATGTGCGGTGTCAGG
<i>Cte-VACHT</i>	ATGGGTTGGCTCATCCCGATCATC	TTATCGGAAGGACTGGAAGTCGGA
<i>Mve-c-ops</i>	TTYATGGTAGC5TGGA5CC5TAYGC	TTCATNMM5ACRTADATDAT5GGRTTRTA ACTGCTCTTGGCAAATAAAGCAGG

2.12 Sequenzierung

Die Sequenzierungen wurden von der EMBL Genomics Core Facility (Heidelberg/Deutschland) und der Agowa GmbH (Berlin/Deutschland) durchgeführt.

2.13 Sequenzanalyse

Um auszuschließen, dass neu klonierte Gene von anderen als den verwendeten Organismen stammten und um mögliche Orthologe zu finden, wurden die erhaltenen Sequenzen mit BLASTN und BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) überprüft und mit, aus der NCBI-Datenbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) oder auch aus der Uniprot-Datenbank (<http://www.uniprot.org>) bezogenen Sequenzen anderer Taxa mittels ClustalX aligniert. Entsprechende Alignments inklusive der Zugangsnummern für die Sequenzen anderer Taxa befinden sich im Appendix. Dort sind auch die jeweils zugehörigen Modelle des JGI aufgeführt. Für die Berechnung phylogenetischer Stammbäume und zugehöriger Alignments fanden RaxML 7.04, Phylobayes 3.3b und MAFFT Verwendung.

2.14 Transmissionselektronenmikroskopie

Die Fixierung der Larven erfolgte in 2,5 % Glutaraldehyd/0,05 M PB/0,3 M NaCl (pH 7,2) bei 4°C für 1 h. Anschließend wurde das Fixativ in mehreren Waschschritten mit kaltem Phosphatpuffer ausgewaschen und der Puffer erneut nach 10 min, 60 min, 4 h und 24 h ersetzt. Ebenfalls bei 4°C fand die Nachfixierung der Larven für 40 min in 1 % OsO₄/0,01 M PB statt. Mit einer aufsteigenden Acetonreihe (30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %) wurden die Proben in 100 % Aceton und anschließend 100 % Propylenoxid überführt. Die Einbettung der Präparate erfolgte in Araldit M (Fluka #10951), die Polymerisation dann bei 60°C für mindestens 48 h. Mit einem Reichert Ultracut S-Mikrotom wurden Ultradünnschnittserien (Schnittdicke ca. 60 – 70 nm) angefertigt. Diese wurden auf mit Formvar beschichteten Single Slot Grids aufgenommen und mit einem TEM-Stainer (Nanofilm) 30 min mit 2% Uranylacetat und 20 min mit Bleicitrat (nach Reynolds 1963) bei RT kontrastiert. Die Schnittserien wurden an einem Philips CM120 Biotwin Elektronenmikroskop untersucht, wobei fotografische Aufnahmen auf Ditabis Imaging Plates erfolgten, die mit einem Ditabis Micron IP Scanner ausgelesen wurden.

2.15 Einfluss von Acetylcholin-Antagonisten auf die Phototaxis von *C. teleta*

Mit einem einfachen Versuchsaufbau wurden die Reaktionen früher, gerade phototaktisch aktiver Larvenstadien auf eine einzelne Lichtquelle in Gegenwart und Abwesenheit eines Acetylcholin-Antagonisten untersucht. Dafür wurden jeweils etwa 100 Larven in einer Glasschale mit natürlichem Seewasser in einem ansonsten völlig dunklen Raum in der Waagerechten von einer Seite mit einer Kaltlichtlampe beleuchtet und ihr Schwimmverhalten wurde beobachtet und das Licht danach gelöscht. Etwa 20 min später wurde der Versuch unter der Zugabe des Acetylcholin-Antagonisten α -Bungarotoxin (Biozol #11032-79-4) zu dem natürlichen Seewasser bis zu einer maximalen Konzentration von 500 nM wiederholt und das Schwimmverhalten erneut beobachtet. Dabei wurde das Verhalten als positiv phototaktisch und normal bezeichnet, wenn die Larven direkt auf die Lichtquelle zu schwammen und dabei um die eigene Längsachse rotierten.

3 Ergebnisse

3.1 Opsine

Aufgrund ihrer universellen Rolle als Photorezeptormolekül der visuellen Systeme im Tierreich (Shichida & Matsuyama 2009) und ihrer fundamentalen Bedeutung im Prozess der Phototransduktion (Plachetzki *et al.* 2010) sind Opsine als molekulare Marker für die Identifizierung und Charakterisierung von Photorezeptorzellen prädestiniert.

Aus diesem Grunde stellte die Klonierung von Opsinen bei *Capitella teleta* und *Megalomma vesiculosum* die Basis für alle weiteren Untersuchungen dieser Arbeit dar. Überraschenderweise konnten bei dem im Sediment lebenden Polychaeten *C. teleta* Daten für acht verschiedene Opsine (*Cte-r-ops*, *Cte-ops2* – *Cte-ops8*) gewonnen werden. Davon konnten sieben Opsine erfolgreich aus cDNA von larvalen und adulten Stadien kloniert werden, wodurch nachgewiesen ist, dass alle diese sieben Opsine von den Organismen auch tatsächlich transkribiert werden. Das achte Opsin (*Cte-ops4*) existiert nur als auf genomischen Daten basierendes Vorhersagemodell in der Datenbank des DOE Joint Genome Institute (JGI) und wurde nicht kloniert. Für *M. vesiculosum*, bei dem keine genomischen Daten vorliegen, konnte ein Opsin (*Mve-c-ops*) aus cDNA kloniert werden, die ausschließlich aus Gewebe der, die ciliären Augen enthaltenden, Branchialkrone generiert wurde.

Zu Beginn der Arbeit standen noch keine genomischen Daten von *C. teleta* zur Verfügung und bei *M. vesiculosum* wurden solche Daten nicht erhoben. Deshalb erfolgte zuerst die Amplifizierung von Opsinen mit degenerierten Primern aus einem Satz, welcher erfolgreich zur Klonierung von Opsinen bei *Platynereis dumerilii* eingesetzt worden war (Arendt *et al.* 2004) und freundlicherweise von Detlev Arendt (EMBL/Heidelberg) zur Verfügung gestellt wurde. So konnten über PCRs mit degenerierten Primern, Southern Blots, radioaktive Hybridisierungen, RACE-PCRs und Reklonierungen jeweils ein Opsin von *C. teleta* (*Cte-ops7*) und *M. vesiculosum* (*Mve-c-ops*) kloniert werden.

Als unassemblierte Rohdaten der fortschreitenden Genomsequenzierung von *C. teleta* zur Verfügung standen wurde bei diesem Organismus die Strategie gewechselt. Die Trace-Dateien im Verzeichnis des National Center for Biotechnology (NCBI) wurden auf Kandidaten für Opsine hin untersucht und mit der bioinformatischen Unterstützung von Florian Raible

(MFPL/Wien) konnten Contigs generiert werden. Diese wiederum fanden Eingang in eine Analyse durch GenomeScan, deren Resultat Opsinmodelle waren, für die jeweils ein Satz an spezifischen Primern erstellt wurde. Ausgehend von zahlreichen PCRs konnten so die Opsine *Cte-r-ops*, *Cte-ops2*, *Cte-ops3*, *Cte-ops5*, *Cte-ops6* und *Cte-ops8* kloniert werden.

Nach der Veröffentlichung zumindest zum Teil assemblierter und annotierter genomischer Daten von *C. teleta* durch das JGI wurden die Sequenzen meiner Klone mit denen der vom JGI bioinformatisch generierten Genmodelle mit Hilfe der Software ClustalX und Serial Cloner verglichen. Durch den hohen Grad an Sequenzübereinstimmung zwischen den Sequenzen konnten sieben der acht existierenden Genmodelle des JGI validiert werden. Das bedeutet auch, dass die Annotierung nur den Hinweis auf ein einzelnes weiteres Opsin gibt, welches nicht kloniert wurde (*Cte-ops4*). Zusätzlich offenbarte der Abgleich der Klonsequenzen mit den genomischen Rohdaten bei einigen Genen einen geringfügigen Sequenzpolymorphismus. Hinweise auf die Existenz weiterer, grundsätzlich anderer Opsingene ergaben sich aber auch hier nicht. Bei *M. vesiculosum* ist hingegen zu erwarten, dass die Organismen noch andere als das eine klonierte Opsin besitzen.

Opsine sind früh in der Evolution der Metazoa als eine besondere Form G-Protein gekoppelter Rezeptoren entstanden und haben sich im Laufe der Evolution stark diversifiziert (Fain *et al.* 2010; Plachetzki *et al.* 2010; Suga *et al.* 2008). Zur Charakterisierung von Opsinen eignen sich daher typspezifische Sequenzabschnitte und die Position in molekularen Stammbäumen (Arendt *et al.* 2004; Terrakita 2005). Zu diesem Zweck wurde eine Bayes'sche Analyse zur Opsinevolution durchgeführt. Dafür wurden neben den eigenen Sequenzen ein breites Spektrum valider Opsinsequenzen verschiedener Metazoa verwendet. In die Berechnungen gingen 102 Opsinsequenzen von Deuterostomia, Protostomia und Cnidaria und 8 Sequenzen opsin-ähnlicher GPCRs von *Mus musculus* und *Drosophila melanogaster* als Aussengruppe ein. Die meisten Opsinsequenzen sind valide cDNA Sequenzen aus den Datenbanken von Uniprot (<http://www.uniprot.org>) und Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Die Sequenz von *Eurythoe complanata* entstammt einer eigenen cDNA-Bibliothek und eine Sequenz von *P. dumerilii* (*Pdu-r-ops3*) wurde freundlicherweise von Gáspár Jékely (MPI/Tübingen) zur Verfügung gestellt. Zur Erhöhung des Datensamplings wurden zusätzlich drei Genmodelle von *Nematostella vectensis* (<http://genome.jgi-psf.org/Nemve1/Nemve1.home.html>), von *Strongylocentrotus purpuratus* (7 Sequenzen) und innerhalb der Lophotrochozoa 14 JGI-Modelle von *Lottia gigantea* (<http://genome.jgi-psf.org/Lotgi1/Lotgi1.home.html>), vier JGI-Modelle

von *Hellobdella robusta* (<http://genome.jgi-psf.org/Helro1/Helro1.home.html>) und *Schmidtea mediterranea* (1 Sequenz, Augustus prediction basierend auf assemblierten Shotgun Sequenzen) verwendet. Die Sequenzen wurden mit MAFFT unter der E-INS-i Option aligniert. Positionen mit vielen Gaps wurden manuell aus dem Alignment entfernt. Die Wahl des besten Substitutionsmodells und die Maximum-Likelihood Analyse (CAT Modell für rapid bootstrapping, automatischer Abbruch nach 200 replicates, WAG Modell für ML Suche) erfolgte mit RaXML 7.04. und die Bayes'sche Analyse mit Phylobayes 3.3b (WAG als Modell, 4 Ketten mit Längen von 13320 bis 13450, burn-in 2000, 50% majority consensus tree basierend auf jedem 10. Baum). Alle Opsine von *C. teleta* und *M. vesiculosum* lassen sich durch diese Analyse gut gestützten Untergruppen der Opsine zuordnen. Das dem berechneten Baum (Abb. 1) zugrunde liegende Alignment und die Zugangsnummern der verwendeten Gene anderer Organismen in entsprechenden Datenbanken befinden sich im Appendix (8.1).

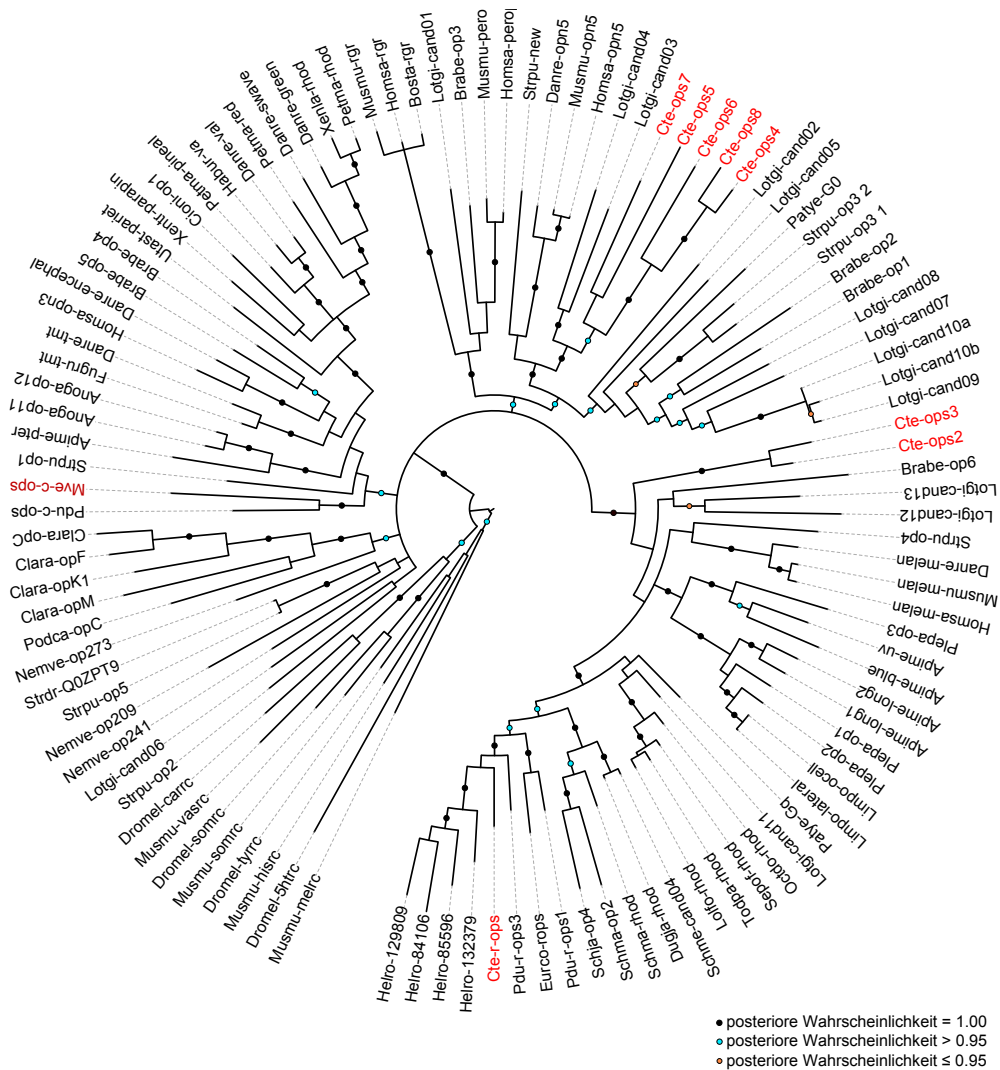


Abbildung 1: Bayes'sche Analyse zur Opsinevolution, basierend auf eigenen Sequenzen, öffentlich zugänglichen Sequenzen und Genmodellen.

Bei dem Opsin *Cte-r-ops* von *C. teleta* handelt es sich eindeutig um ein r-Opisin, welches mit einem Unterstützungswert von 1 mit den Genmodellen von *H. robusta* clustert und der Topologie entsprechend nah verwandt mit dem r-Opisin von *P. dumerilii* (*Pdu-r-ops3*) ist. In seiner 354 Aminosäuren (AS) langen Sequenz findet sich die für die Funktion des Opsins kritische AS Lysin ebenso wie das hoch konservierte, nach Arendt *et al.* (2004) für r-Opisine typische Motiv „HPK“ nahe des C-Terminus (Abb. 2). Für die Berechnung wurde die Sequenz meines Klones genutzt, da dieser nur in einer AS-Position von dem Modell abweicht.

	*	—
Danre-melan	PAVIAKASAIHNP I I Y A I T H P K Y R L A I A K Y I P	
Homsa-melan	PAVIAKASAIHNP I I Y A I T H P K Y R V A I A Q H L P	
Schma-rhod	PVLFAKTSAVYNP I V Y A V K H P K F R M E I E K R F P	
Eurco-rops	PVMLAKASAAYNP I I Y A L S H P R F R I E I N K H F P	
Lolfo-rhod	PVMFAKASAIHNP M I Y S V S H P K F R E R I A S N F P	
Sepof-rhod	PVMFAKASAIHNP L I Y S V S H P K F R E A I A E N F P	
Todpa-rhod	PVMFAKASAIHNP M I Y S V S H P K F R E A I S Q T F P	
Octdo-rhod	PVLFKASAIHNP I V Y S V S H P K F R E A I Q T T F P	
Cte-r-ops	PVMFAKASAMWNP I L Y A L S H P K F R A A L -----	
Pdu-r-ops3	PVLFKASAMWNP I L Y A L S H P R F R A V L D D K M P	
Helro-132379	PVMLAKASGAWNP I I Y A L S H P R Y R D A L -----	

Abbildung 2: Ausschnitt aus dem Opsin-Alignment mit *Cte-r-ops*. Markierung der kritischen Aminosäure Lysin (*) und des bei r-Opisinen konservierten Sequenzmotivs HPK (-).

Die beiden Opsine *Cte-ops2* und *Cte-ops3* fallen in der Analyse mit der großen Gruppe der r-Opisine zusammen. Dabei sind sie stärker miteinander verwandt als mit anderen r-Opisinen. In ihren Sequenzen (*Cte-ops2* 383 AS, *Cte-ops3* 247 AS) findet sich zwar jeweils die kritische AS Lysin, die Signatur der beiden Opsine weist jedoch nicht das konservierte Motiv „HPK“ der r-Opisine auf, sondern stattdessen „LPR“ (Abb. 3). Für die Berechnung des Baumes fanden jeweils die Sequenzen meiner Klone Eingang, wobei im Fall von *Cte-ops3* davon ausgegangen wird, dass hier ein zweites Allel kloniert wurde, welches von den Genmodellen bei JGI in den Voraussagen gar nicht erfasst wurde, wie der Abgleich mit den Rohdaten der Shotgun-Sequenzierung zeigte.

	*	—
Danre-melan	PAVIAKASAIHNP I I Y A I T H P K Y R L A I A K Y I P	
Homsa-melan	PAVIAKASAIHNP I I Y A I T H P K Y R V A I A Q H L P	
Musmu-melan	PAVIAKASAIHNP I I Y A I T H P K Y R V A I A Q H L P	
Schma-rhod	PVLFAKTSAVYNP I V Y A V K H P K F R M E I E K R F P	
Dugja-rhod	PVLFAKTSAMYNP F I Y A I N H P K F R E -----	
Eurco-rops	PVMLAKASAAYNP I I Y A L S H P R F R I E I N K H F P	
Schja-op4	PCLCAKTAAVWD P C I Y A F R Y P R F R A I F Q S R F G	
Lotgi-cand13	PGLLAKI S T A I N P M L Y A I S H P K F O S K L R A S C P	
Lotgi-cand12	PQLVAKL S T V T N P I L Y S L S H P V V R N K L F L R L R	
Cte-ops2	TTLFAKT S T I Y N P T I Y A A C L P R F R R R V Q Y L F Q	
Cte-ops3	TLLTKT S T I Y N P T I Y A A C L P R L R Q Y V K Y L L Q	
Brabe-op6	AALLAKL T V I I N P I V Y V L S I P N F R K A L F A Q E R	

Abbildung 3: Ausschnitt aus dem Opsin-Alignment mit *Cte-ops2* und *Cte-ops3*. Markierung der kritischen Aminosäure Lysin (*) und des bei r-Opisinen konservierten Sequenzmotivs HPK (-).

Die Opsine *Cte-ops4*, *Cte-ops5*, *Cte-ops6*, *Cte-ops7* und *Cte-ops8* clustern alle mit Unterstützungswerten von 0,98 bis 1 innerhalb der opn5-Opsine zusammen und bilden eine eigenständige Gruppe. Allen Sequenzen eigen ist erneut die kritische AS Lysin, was sie als echte Opsine auszeichnet (Abb. 4). Für die Berechnung des Baumes wurden im Fall von *Cte-ops4* (348 AS), *Cte-ops5* (288 AS) und *Cte-ops8* (303 AS) die Sequenzen der Genmodelle verwendet, im Fall von *Cte-ops6* (218 AS) und *Cte-ops7* (269 AS) die Sequenz meiner Klone.

		*	—
Strpu-new	PAFCAKTS	SVYNPIIYCIFNKSFRQDLSSLIC	
Cte-ops7	MSLFAKSS	TCYNPCIYFIMNRKFRKLIEKEFR	
Cte-ops5	SLLAKSS	CFYTPIIYFFMNDRFKRICIDTLP	
Cte-ops4	APICAKS	NAFLNPVVYFLAMKQFRQETMQLML	
Cte-ops8	APICAKS	NACLNPVYFLGMKQFRQEAAKLMP	
Cte-ops6	ATVLA	SNTFVNPPIYFLAVKRFREDALFVF-	
Homsa-opn5	PTLLAKS	AAMYNPIIYQVIDYKFACCOAGGLK	
Musmu-opn5	PTLLAKS	AAMYNPIIYQVIDYRFACCOAGGLR	
Danre-opn5	PTLLAKS	SAMYNPIIYQVIDCKKKCKVKSCCFQ	
Lotgi-cand03	PALCAKSS	HVLNPVIYFVMNKKLRSKIPLCCR	
Lotgi-cand04	PHLVAKSS	HLLNPVVYFFMNNKYORYVVGMR	

Abbildung 4: Ausschnitt aus dem Opsin-Alignment mit *Cte-ops4* - *Cte-ops8*. Markierung der kritischen Aminosäure Lysin (*) und des bei c-Opsinen konservierten Sequenzmotivs HPK (-).

Bei dem Opsin von *M. vesiculosum* (*Mve-c-ops*) handelt es sich eindeutig um ein Ortholog des c-Opsins von *P. dumerilii* (*Pdu-c-ops*). Beide finden sich mit einem Unterstützungswert von 1 in der Gruppe der c-Opsine wieder (Abb. 5). Die 364 AS lange Sequenz weist die für die Funktion des Opsins kritische Aminosäure Lysin ebenso auf wie das hochkonservierte Motiv „NKQ“, welches Arendt *et al.* (2004) als wichtig für die Interaktion mit dem heterotrimeren GTP-bindenden Protein bezeichnen.

		*	—
Strpu-new	PAFCAKTSS	VYNPIIYCIFNKSFRQDLSSLIC	
Strpu-op1	PPFFAKLCT	IHNPIIYFLLNKQFKDALIQLFC	
Cioin-op1	PAFFAKTATI	YNPLIYIIGLNRFQFDCVVRMIF	
Xentr-parapin	PMYLTKTST	VYNPIIYIFMKNQFQECVIPFLF	
Petma-pineal	PAFFSKTAT	VYNPVIIYIFMKNQFRDCFVQVLP	
Danre-val	PAFVAKTAA	VYNPIIYVFMKNQFRKCLVQLLS	
Utast-pariet	PTYLSKTS	PVYNPIIYIFLNKQFRDCAVEFIT	
Petma-rhod	PAFFAKTS	SALYNPIIYILMNKQFRNCMITTLC	
Xenla-rhod	PAFFAKSS	AIYNPVIIYIVLNKQFRNCLITTLIC	
Danre-green	PAFFSKSS	SIFNPIIYVLLNKQFRNCMLTTLF	
Danre-swave	PAFFSKSS	CVYNPLIYAFMKNQFNACIMETVF	
Fugru-tmt	PSVLAKS	SSTVINPIIYVFMKNQFYRCFLALLC	
Danre-tmt	PSILAKS	SSTVINPVIIYIFMKNQFYRCFRALLN	
Pdu-c-ops	PAMFAKSS	TMYNPLIYVFMKNQFRRSLKVLGG	
Mve-c-ops	PALFAKSS	FCYNPIIYVGMKNQFRKAFVDKFF	

Abbildung 5: Ausschnitt aus dem Opsin-Alignment mit *Mve-c-ops*. Markierung der kritischen Aminosäure Lysin (*) und des bei c-Opsinen konservierten Sequenzmotivs NKQ (-).

3.2 Ontogenese von *C. teleta*

Um die Genexpressionsdaten späterer Versuche interpretieren zu können, ist zunächst die Untersuchung einzelner Aspekte der Ontogenese von *C. teleta* mit dem Lichtmikroskop und dem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop (cLSM) notwendig.

3.2.1 Lichtmikroskopische Aufnahmen

Im Normalfall befindet sich während der embryonalen und larvalen Entwicklung von *C. teleta* ein weiblicher Adultus mit den Gelegen in der Brutröhre. Allerdings kann die Entwicklung auch außerhalb der Brutröhre und ohne Anwesenheit eines Adultus verlaufen. Dieses macht eine eingehende lichtmikroskopische Untersuchung von freipräparierten Stadien möglich. Der Entwicklungsstand und die Größe der Larven aus einer einzelnen Brutröhre und die Zahl der Larven verschiedener Brutröhren kann dabei stark variieren. Die Zuordnung der untersuchten Larven zu einzelnen Stadien erfolgte nach Seaver *et al.* (2005) anhand rein morphologischer Kriterien.

Etwa im Stadium 4 durchdringen Proto- und Telotroch die Eimembran und sind ein wichtiges Merkmal um lichtmikroskopisch den Körper der Larven in Epi- und Hyposphäre unterteilen zu können. Den größten Teil der Larve nimmt hier noch die homogene Dottermasse ein. In einigen Fällen sind zu diesem Zeitpunkt bereits andeutungsweise Pigmentflecken anterior des Prototrochs zu erkennen und vereinzelt können phototaktische Reaktionen auf Lichtquellen beobachtet werden (Abb. 6 A, B).

Im Stadium 5 sind die beiden Cilienringe prominent und die Larve elongierter. Anterior des Prototrochs und lateral gelegen tritt nun ein Paar Augen in Erscheinung, erkennbar an dem dunkelroten bis bräunlichen Pigment. In dessen unmittelbarer Nähe entwickelt sich das Gehirn. Posterior des Prototrochs tritt median auf der Ventralseite eine Vertiefung auf. Hier hebt sich das Stomodaeum von den Resten der dunkleren Dottermasse ab (Abb. 6 C, D).

Spätestens zum Ende des Stadiums 5 und zu Beginn des Stadiums 6 werden äußerlich Segmentgrenzen und der ventrale Neurotroch sichtbar. Das ventrale Nervensystem zeichnet sich klar ab. Die Larve ist in die Länge gewachsen, hat eine weniger ellipsoide Form und reagiert vermehrt positiv phototaktisch auf Lichtquellen. Äußerlich ist anterior des Prototrochs unverändert ein Paar Augen erkennbar (Abb. 6 E, F).

Im Stadium 8 ist der Verdauungstakt durchgängig, aber immer noch mit Dotterzellen gefüllt. Borsten sind jetzt zwar vorhanden, allerdings nur mit einer hohen Vergrößerung zu sehen.

Positiv phototaktische Reaktionen erfolgen jetzt fast ausnahmslos und die Larven schwimmen dabei im Vergleich zu jüngeren Stadien sehr schnell. Auch in diesem Stadium ist nur ein Paar Augen sichtbar (Abb. 6 G, H).

Im darauffolgenden Stadium 9 besitzt die Larve ein Paar Augen, ist deutlich langgestreckt, weist meistens 13 Segmente auf und frequentiert häufiger den Boden der Hälterungsgefäße. Der Darm ist gewunden und liegt dorsal des mächtigen ventralen Nervensystems (Abb. 6 I, J).

Durch Zugabe von ein wenig Sediment in das Hälterungsgefäß kann die Metamorphose der Larven induziert werden. Innerhalb von wenigen Minuten suchen die Larven das Sediment auf und bohren sich ein. Die Metamorphose verläuft sehr schnell, denn bereits nach 30 bis 60 min im Sediment werden die Cilienkränze resorbiert und sind nicht mehr nachweisbar. Die Larve erfährt ein großes Längenwachstum und beginnt erste durchsichtige Schleimröhren anzulegen sowie Sedimentpartikel aufzunehmen. Im Prostomium sind das Gehirn und ein Paar Augen die prominentesten Strukturen (Abb. 6 K-N).

Im Anschluss wurde die weitere Entwicklung der Tiere über einen Zeitraum von 24 h jeweils im Abstand von einer halben Stunde mittels Lichtmikroskop und Binokular verfolgt (nicht abgebildet). Auch in diesem Zeitfenster war immer nur ein Paar Augen zu sehen.

Die Ultrastruktur der Augen von Larven und Adulti unterscheidet sich nach Rhode (1993) deutlich. Dabei geht die Autorin von einer vollständigen Resorption des Larvalauges und einer Neuentwicklung des Adultauges während der Metamorphose der Tiere aus. Unter dieser Annahme wäre zu erwarten, dass man zu einem bestimmten Zeitpunkt der Entwicklung eine Überschneidung dieser Vorgänge, d. h. entweder keine oder aber zwei Paar Augen beobachten kann. Das war allerdings nicht der Fall. Vielmehr war immer nur ein Paar Pigmentflecke zu sehen. In der Konsequenz ergibt sich die Frage, wann und in welcher Form sich der Übergang vom Larval- zum Adultauge vollzieht und in welchen Stadien welcher Augentypus vorliegt?

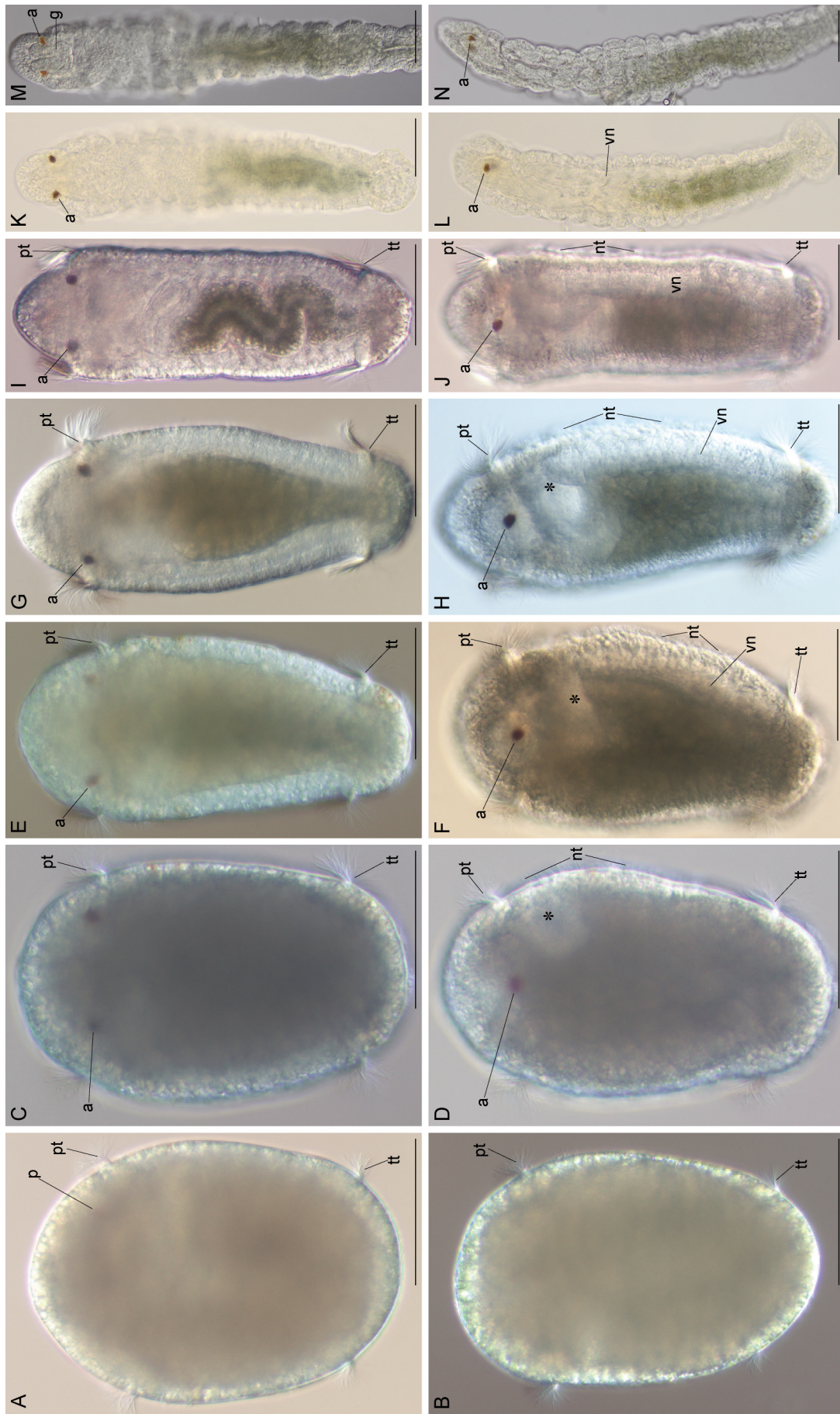


Abbildung 6: Lichtmikroskopische Aufnahmen verschiedener Stadien von *C. teleta*. A, C, E, G, I, K, M: Dorsalansicht. Anterior oben. B, D, F, H, J, L, N: Lateralansicht. Anterior oben, dorsal links, ventral rechts. **A+B:** Stadium 4. **C+D:** Stadium 4. **E+F:** Stadium 5. **G+H:** Stadium 6. **I+J:** Stadium 8. **K+L:** Stadium 9. **M+N:** Metamorphosestadium. 1 h im Sediment. **M+N:** Metamorphosestadium. 3 h im Sediment. a – Auge. g – Gehirn. nt – Neurotroch. pt – Protroch. tt – Telotroch. vn – ventrales Nervensystem. * Lage des Stomodaeums. Maßstab: 100 µm.

3.2.2 Antikörperfärbungen gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin

Die Kombination von immunohistochemischen Methoden mit der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie hat neuroanatomische Studien vereinfacht, setzt aber die Verfügbarkeit entsprechender Antikörper voraus (Müller 2006). Für den Nachweis stabilisierter Mikrotubuli in Cilien und Neurotubuli von Nervenzellen eignet sich der Antikörper gegen acetyliertes α -Tubulin, welcher mit der stabilisierten Form von α -Tubulin reagiert (Lodish *et al.* 1995). Der evolutiv alte und in seiner Expression bei den Larven der Bilateria stark konservierte Neurotransmitter Serotonin eignet sich, um serotonerge Anteile des Nervensystems zu untersuchen (Hay-Schmidt 2000). Die Immunmarkierungen mit den Antikörpern gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin ermöglichen so einerseits eine Beurteilung der relativen Lage von Expressionssignalen aus späteren Untersuchungen zum Nervensystem. Andererseits soll die Lage der von Müller (1999) beschriebenen, potentiell photosensitiven ciliären Sinnesorgane überprüft und dokumentiert werden.

Mit dem Antikörper gegen acetyliertes α -Tubulin werden im Stadium 4 von *C. teleta* vor allem die dichte Bewimperung des anterioren Proto- und des posterioren Telotrochs sowie des ventralen Neurotrochs markiert. Zusätzlich dazu werden Cilienbüschel am Pygidium markiert. Ventral, direkt posterior des Prototrochs befindet sich die Mundöffnung. Schwächer gefärbt sind die beiden lateralen Nephridien im vorderen Drittel der Larve bei denen es sich um larvale Head Kidneys handelt (pers. Kommunikation Chiharu Kato). Sie liegen dorso-lateral der Mundöffnung und verlaufen bis etwa zur Hälfte der Körperlänge des Larvenkörpers. Median vor dem Prototroch liegen sechs scheibchenförmige, ciliäre Organe (Abb. 7 A). Markierungen von Nervensträngen mit dem Antikörper gegen acetyliertes α -Tubulin sind noch undeutlich. Mit dem Antikörper gegen Serotonin werden in diesem Stadium deutlich die beiden ventralen Hauptlängsnervenstränge markiert, die auf der Höhe des Proto- und des Telotrochs jeweils in die entsprechenden Ringnerven münden und dort auch durch eine Kommissur verbunden sind. Ein dritter Ringnerv bildet sich im Pygidium. Perikaryen finden sich anterior des protochalen Ringnervs. Dorsolateral der Mundöffnung weisen beide Längsnervenstränge jeweils ein Paar Perikaryen auf. (Abb. 7 A).

Im Stadium 6 von *C. teleta* nehmen die pygidialen Cilienbüschel mehr Raum ein und haben sich zum Telotroch hin vergrößert. Die Orientierung der mittlerweile leicht elliptischen sechs ciliären Organe ist gegenüber dem früheren Stadium leicht verändert. Sie liegen anterior des Prototrochs, aber weiter dorsal und weisen posteroventrad. Dorsolateral tritt ein Längsnervenstrang etwas

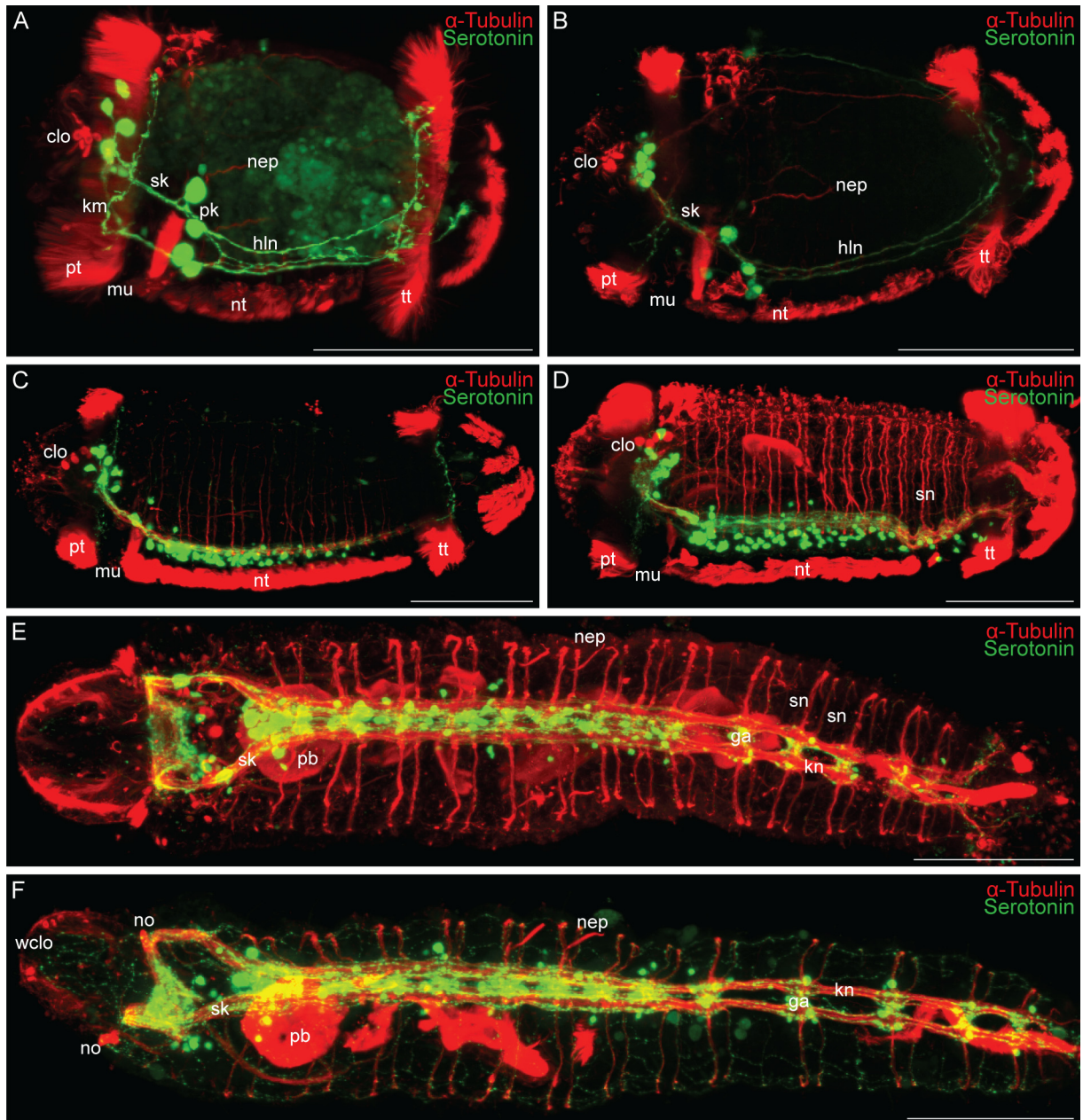


Abbildung 7: Antikörperfärbungen gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin in verschiedenen Stadien von *C. teleta*. A-D: Lateralansicht. Anterior links, dorsal oben. E+F: Ventralansicht. Anterior links. **A:** Stadium 4. **B:** Stadium 6. **C:** Stadium 7. **D:** Stadium 9. **E:** Metamorphosestadium. 1h im Sediment. **F:** Juvenilstadium. 48h im Sediment. clo - ciliäre Organe. ga - Ganglion. hln - Hauptlängsnervenstrang. km - Kommissur. kn - Konnektiv. mu - Mundöffnung. nep - Nephridien. no - Nuchalorgan. nt - Neurotroch. pb - Pharyngealbulbus. pk - Perikaryen. pt - Prototroch. sk - Schlundkonnektiv. sn - Seitennerven. tt - Telotroch. wclo - weitere ciliäre Organe. Maßstab: 100 μ m. Die Cilienbänder des Proto- und Telotrochs werden komplett mit dem Antikörper gegen acetyliertes α -Tubulin angefärbt, sind aber in den Abbildungen A-D als nicht geschlossen wiedergegeben, um den Blick auf dahinter befindliche serotonerge Strukturen zu ermöglichen.

deutlicher als im Stadium 4 in Erscheinung, welcher direkt zum Gehirn abzuzweigen scheint (Abb. 7 B). Die Perikaryen des Letzteren werden erneut deutlich durch den Antikörper gegen Serotonin markiert und liegen anterior des Prototrochs, nun näher beieinander. Dorsolateral ist ein weiterer serotonerger Längsnervenstrang auszumachen und der serotonerge Ringnerv im Pygidium scheint vollständig ausgebildet (Abb. 7 B).

Im Stadium 7 von *C. teleta* ist die Larve im Vergleich zu früheren Stadien deutlich elongierter. Die ciliären Organe sind weiter von einander entfernt, weisen stärker ventrad und sind nach dorsal verlagert. In jedem Segment ziehen von den Längsnervensträngen jeweils zwei Seitennerven dorsad (Abb. 7 C). Die beiden serotonergen Ringnerven sind deutlich zu erkennen. Das Gehirn ist differenzierter und die Perikaryen liegen jetzt sowohl anterior als auch posterior des Prototrochs und sind leicht nach dorsal verlagert. Ventral ist ein Neuritenband ausgebildet, dessen Perikaryen fast bis zum Telotroch reichen (Abb. 7 C).

Im Stadium 9 sind die tubulineren ciliären Organe fast vollständig posterior des Prototrochs und auf die Dorsalseite der Larve verlagert. Zusätzlich haben sich die Seitennerven auf der Dorsalseite verbunden und bilden mit den Längsnerven eine netzartige Struktur, die den Larvenkörper unterhalb der Epidermis umspannt (Abb. 7 D). Die serotonergen Perikaryen des Gehirns liegen in diesem Stadium posterior des Prototrochs und sind dorsad gerichtet. Hier hat eine postero-dorsale Verlagerung stattgefunden. Das ventrale Neuritenband ist deutlich vergrößert und die Perikaryen erreichen den Telotroch (Abb. 7 D). In den Segmenten sieben und acht tritt jeweils ein Paar Nephridien auf, bei denen es sich um segmentale Nephridien handelt (pers. Kommunikation Chiharu Kato).

In dem metamorphosierten Stadium, nach einer Stunde im Sediment, sind die sechs tubulineren ciliären Organe nicht mehr auszumachen. Dafür treten die Schlundkonnektive massiv in Erscheinung, ebenso die Seitennerven und die Konnektive der ventralen Längsstränge. Letztere sind in den hinteren Segmenten vereinzelt beachtlich verlängert, so dass zwischen den segmental angeordneten Ganglien Distanzen bis zu etwa 35 μm auftreten (Abb. 7 E). Ventral dominiert das serotonerge Neuritenband, in dem sich keine einzelnen Längsnervenstränge mehr unterscheiden lassen, dafür aber zwei deutlich aufgeteilte dicke Stränge. Anterior bilden die Neurite des Gehirns eine Fasermasse zwischen den Schlundkonnektiven. Posterior wird noch schwach der telochrochale Nervenring markiert (Abb. 7 E).

Nach 48 h im Sediment ist die Markierung der tubulineren Seitennerven schwächer. Dagegen treten Strukturen wie der Pharyngealbulbus hervor. Anterior der Schlundkonnektive werden jeweils dorsolateral auf dem Prostomium die Nuchalorgane markiert. In der Prostomiumsspitze treten weitere, scheibchenförmige ciliäre Organe auf (Abb. 7 F). Auf der Ventralseite des Juvenilstadiums werden die Längsstränge weiterhin durch die Antikörper gegen acetyliertes α -Tubulin und Serotonin markiert. Der Rumpf ist in jedem Segment von zwei Paaren Lateralnerven umgeben, die lateral und dorsolateral durch die bereits erwähnten Längsnerven

verbunden sind. Durch die Immunmarkierungen ist es gelungen, wichtige morphologische Landmarken für die Beurteilung von Genexpressionsdaten zu gewinnen. Die von Müller (1999) beschriebenen ciliären Organe konnten nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte eine Verlagerung dieser Strukturen nach dorsal und eine Rückverlagerung des Gehirns im Laufe der Ontogenese beobachtet werden. In dem metamorphosierte Stadium von *C. teleta* konnte außerdem das Auftreten weiterer, bis dato nicht beschriebener ciliärer Organe in der Prostomiumsspitze beobachtet werden. Um die potentielle Lichtsensitivität der von Müller (1999) beschriebenen Organe weiter zu untersuchen, wurden im Verlaufe der Arbeit ultrastrukturelle Daten und Genexpressionsdaten erhoben.

3.2.3 Expression des r-Opsins *Cte-r-ops* bei *C. teleta*

Den Angaben von Rhode (1993) zufolge sind sowohl das Larval- als auch das Adultauge von *C. teleta* rhabdomerisch aufgebaut weshalb zu erwarten ist, dass beide ein r-Opsin exprimieren.

Um die Photorezeptorzellen der beiden Augentypen lokalisieren zu können, wurde daher zunächst die Expression des in 3.1 vorgestellten r-Opsins *Cte-r-ops* untersucht. In initialen Versuchen mit Larven des Stadiums 6 wurden dabei erstaunlicherweise zwei Paar *Cte-r-ops*-positive Zellen gefunden. Aus den lichtmikroskopischen Untersuchungen zur Ontogenese (3.2.1) war jedoch bekannt, dass während der Entwicklung von *C. teleta* nur ein Paar Pigmentflecken auftritt. Deshalb wurde die Expression von *Cte-r-ops* über mehrere Entwicklungsstadien hinweg verfolgt.

Der früheste Zeitpunkt, zu dem in *C. teleta* eine Expression von *Cte-r-ops* nachgewiesen werden kann, ist das Stadium 4. Hier finden sich in der Episphäre zwei distinkte, aber schwach gefärbte Zellen anterior des Prototrochs, weit lateral und in der Horizontalebene liegend (Abb. 8 A, B). Bereits in diesem Stadium können vereinzelt Pigmentflecken in ähnlicher Position ausgemacht und positiv phototaktische Reaktionen der Larven beobachtet werden. Im darauf folgenden Stadium 5 wird *Cte-r-ops* zusätzlich in zwei weiteren Zellen exprimiert. Diese befinden sich jeweils antero-dorsal des ersten Paares (Abb. 8 C, D).

In den Stadien 6 bis 9 verringert sich in der anterior-posterior-Achse die Distanz zwischen dem ersten und dem zweiten Paar *Cte-r-ops* exprimierender Zellen und im späten Stadium 9 liegen sie in der dorsal-ventral-Achse in einer Ebene (Abb. 8 E-J).

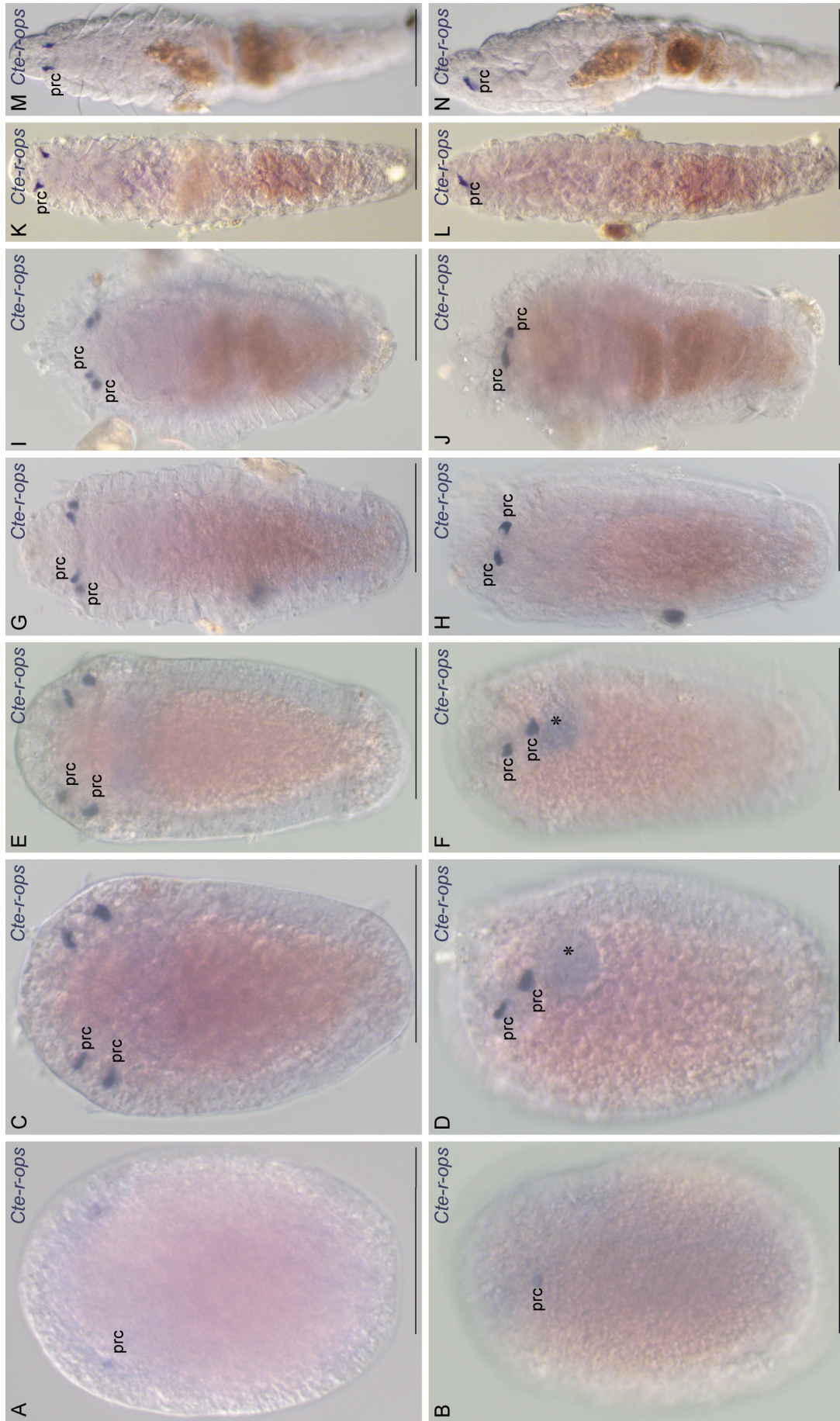


Abbildung 8: Expression von *Cte-r-ops* (Dig-UTP-Sonde) in verschiedenen Stadien von *C. teleta* bei einfarbiger WMISH im DIK. A, C, E, G, I: Dorsalansicht. Anterior oben. K+M: Ventralansicht. Anterior oben. B, D, F, H, J, L, N: Lateralansicht. Anterior oben, dorsal links, ventral rechts. **A+B:** Stadium 4. **C+D:** Stadium 5. **E+F:** Stadium 6. **G+H:** Stadium 8. **I+J:** Stadium 9. **K+L:** Metamorphosestadium. 1 h im Sediment. **M+N:** Metamorphosestadium. 3 h im Sediment. prc – Photorezeptorzelle. * Lage des Stomodaeums. Maßstab: 100 µm.

Sobald die Larven im Sediment die Metamorphose durchlaufen haben ist die *Cte-r-ops*-Expression überraschenderweise wieder nur in zwei Zellen nachweisbar. Diese beiden Expressionsdomänen liegen weit anterior im Prostomium auf der Dorsalseite des Tieres (Abb. 8 K-N).

Diese Befunde decken sich nur zum Teil mit den Aussagen von Rhode (1993) zur Augenentwicklung von *C. teleta*. Es liegt nahe anzunehmen, dass das erste Paar *Cte-r-ops*-positiver Zellen die Photorezeptorzellen der Larvalaugen sind. Dafür sprechen deren Lage und die im selben Stadium auftretende Pigmentierung und phototaktische Reaktion. Erstaunlich ist das Auftreten eines zweiten Paares von Photorezeptorzellen schon im Stadium 6 der Ontogenese. Offensichtlich handelt es sich dabei zuerst um unpigmentierte Photorezeptoren, da weder an fixierten noch an lebenden Tieren an dieser Position eine Pigmentierung erkennbar ist. Die Beschreibungen von Rhode (1993) liefern keine Anhaltspunkte, um welche Zellen es sich hierbei handelt. Bei metamorphosierten Stadien liegt nur ein Paar *Cte-r-ops*-positiver Zellen vor. Da dieses Muster erhalten bleibt liegt es nahe, dass es sich dabei um die Photorezeptorzellen der pigmentierten Adultraugen handelt. Es bleibt dabei sehr erstaunlich, dass während der Metamorphose kein weiteres, neues Paar von Photorezeptorzellen (das der Adultraugen) zu entstehen scheint, sondern vielmehr die *Cte-r-ops*-Expression in einem Paar Zellen sehr rasch aufhört. Zum weiteren Verständnis der Genese der Photorezeptorzellen ist daher ein Abgleich mit ultrastrukturellen Daten unabdingbar. Davon unabhängig stellen die Befunde entscheidende Landmarken für spätere Kolokalisationsuntersuchungen mit verschiedenen augenrelevanten Genen dar.

3.3 Larval- und Adultrauge

3.3.1 Ultrastruktur des Larvalauges im Stadium 9

Der prinzipielle Aufbau des Larvalauges von *C. teleta* (früher *C. capitata* sp. I) wurde bereits von Rhode (1993) untersucht. Danach weist dieses Auge eine einfache Organisation auf und ist den Larvalaugen vieler anderer Annelida sehr ähnlich. Um zu überprüfen, ob die existierende Beschreibung auch für Individuen der eigenen Laborkultur zutrifft und um als Grundlage für die Interpretation der Genexpressionsmuster die räumliche Lagebeziehungen der Zellen zueinander zu klären, wurde das Larvalauge des Entwicklungsstadiums 9 ultrastrukturell untersucht.

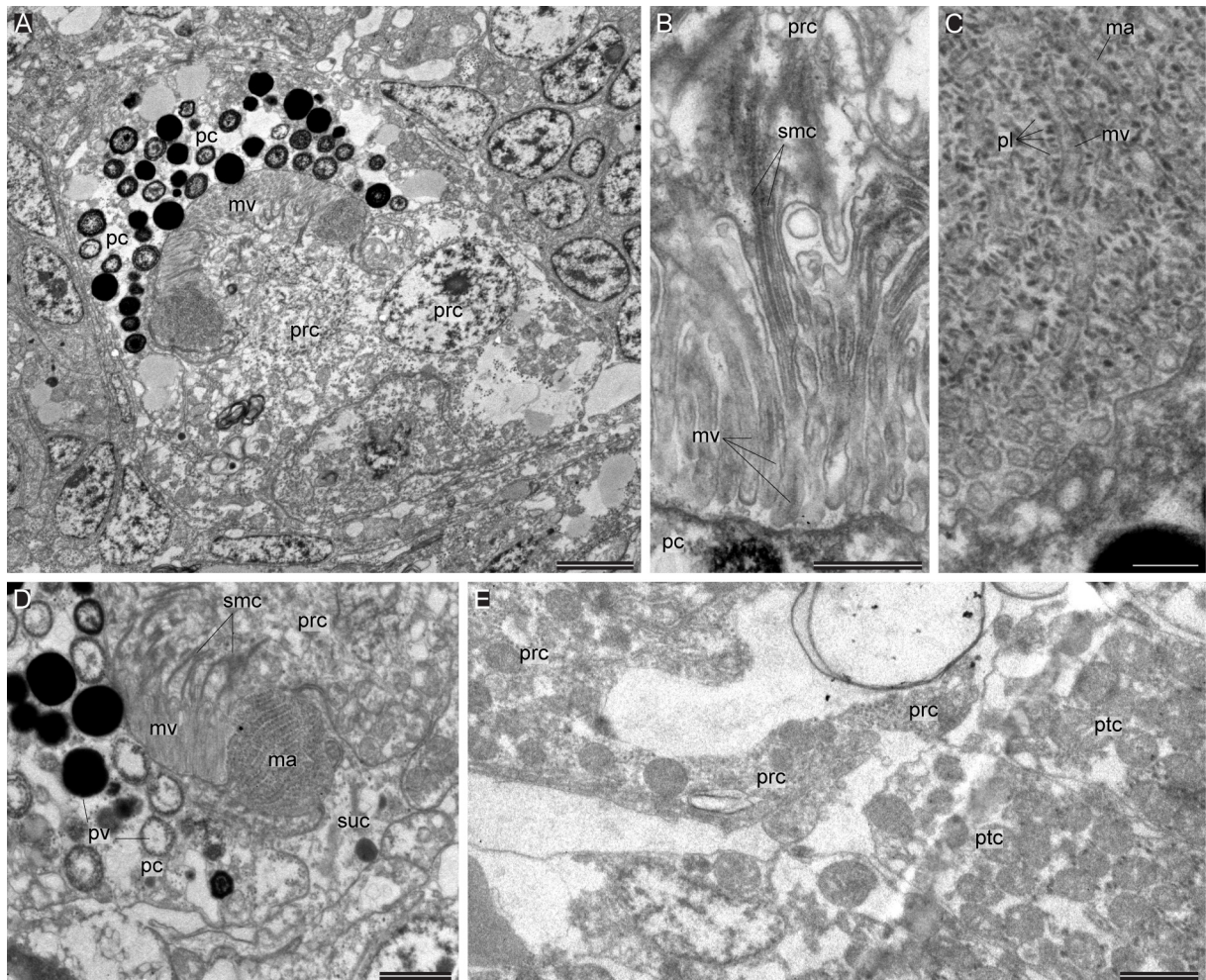


Abbildung 9: Ultrastruktur des Larvalauges von *C. teleta* im Stadium 9. **A:** Übersicht. Die Photorezeptorzelle (prc) entsendet einen Ausläufer in eine becherförmige Einsenkung der Pigmentzelle (pc). **B:** Von dem Ausläufer der Photorezeptorzelle entspringen viele Mikrovilli (mv). Submikrovilläre Zisternen (smc) unterlagern die Mikrovilli und ziehen auch in diese hinein. **C:** Mit elektronendunklen Plättchen (pl) besetzte mikrovilläre Ausläufer (ma) der Pigmentzelle. **D:** Eine Stützzelle (suc), die vereinzelte Pigmentvesikel (pv) enthält, sendet dünne Ausläufer zum Rand des Pigmentbechers. **E:** Die Photorezeptorzelle entsendet einen Zellausläufer zu den Basen der Zellen des Prototrochs (ptc). Maßstab: A: 2 μ m. B: 500 nm. C: 200 nm. D+E: 1 μ m.

In vielen Punkten decken sich die Daten gut mit der Beschreibung von Rhode (1993). Wie auch das Larvalauge von *P. dumerilii* (Rhode 1992) ist das Larvalauge von *C. teleta* ein einfach aufgebautes, rhabdomerisches, inverses Pigmentbecherauge.

Kurz vor dem Prototroch, in der Nähe des Nuchalorgans, also in der Region, in der lichtmikroskopisch die paarigen Pigmentflecken der Larvalaugen zu erkennen sind, befindet sich auf jeder Körperseite des Tieres genau eine Zelle, die einen dichten Besatz an elektronendunklen Pigmentgranula aufweist. Dabei handelt es sich eindeutig um die Pigmentzelle des Larvalauges. Das Larvalauge liegt in der Region, in der die frontalen Ausläufer des bilobigen Gehirns in Kontakt mit der Epidermis stehen. Die Pigmentzelle ist eingesenkt und hat keinen direkten Kontakt zur Kutikula. Die Zelle formt einen Pigmentbecher, der sich nach ventrolateral und leicht posterior

öffnet (Abb. 9 A). Der Zellkörper mit dem Nukleus liegt dorsomedian auf der Rückseite der becherförmigen Einstülpung. Neben Pigmentgranula ist die Pigmentzelle reich an Golgi-Stapeln, Mitochondrien, endoplasmatischem Retikulum und Lipidgranula. Wie auch von Rhode (1993) beschrieben und abweichend von den Larvalaugen anderer Annelida entsendet die Pigmentzelle am Rand des Bechers mikrovilläre Fortsätze, die außen mit dünnen elektronendunklen Plättchen belegt sind (Abb. 9 C, D). Diese Zellfortsätze formen insgesamt eine Ring entlang des inneren Randes der becherförmigen Einsenkung der Pigmentzelle. Die Basis der Pigmentzelle verzweigt sich zu vielen dünnen Zellausläufern.

Der Zellkörper der Photorezeptorzelle mit dem Nukleus liegt direkt vor, also ventrolateral und posterior der Öffnung des Pigmentbechers. Die Zelle ist eindeutig mikrovillär aufgebaut. Sie entsendet einen breiten Ausläufer in den Pigmentbecher. Zonula adhaerentes zwischen dem Rand des Pigmentbechers und dem Ausläufer der Rezeptorzelle stabilisieren den Kontakt und weisen diese Zellareale als die apikalen Oberflächen aus. Von dem Zellausläufer entspringen eine hohe Zahl an Mikrovilli, die den Pigmentbecher vollständig ausfüllen (Abb. 9 A, B, D). Es gibt keinerlei Hinweise auf ciliäre Strukturen. Licht muss erst den Zellkörper passieren, bevor es auf die Mikrovilli trifft. Das Auge ist also invers aufgebaut. Wie auch von Rhode (1993) beschrieben, sind die Mikrovilli von auffälligen submikrovillären Zisternen unterlagert (Abb. 9 B, D). Diese sind sehr lang, mit elektronendunklem Material gefüllt und ziehen häufig in die einzelnen Mikrovilli hinein. Die Rezeptorzelle ist reich an Mitochondrien und enthält sehr viele freie Polyribosomen. Dünne Zellausläufer ziehen proximad in das Innere des Körpers, aber ein Ausläufer zieht auch in Richtung Prototroch (Abb. 9 E).

Wie von Rhode (1993) beschrieben entsendet eine dritte Zelle dünne Ausläufer zum Rand des Pigmentbechers (Abb. 9 D). Deren Oberfläche ist insgesamt gering, weshalb eine rezeptive Funktion unwahrscheinlich ist. Diese Zelle besitzt vereinzelte Pigmentvesikel. Aufgrund der geringen Anzahl von Vesikeln schirmt diese Zelle Licht nicht effektiv von der rezeptiven Membranen der Photorezeptorzelle ab.

3.3.2 Ultrastruktur der medialen *Cte-r-ops*-positiven Zellen im Stadium 9

Um das zweite Paar von Zellen, das neben den Photorezeptorzellen des Larvalauges *Cte-r-ops* exprimiert, ultrastrukturell zu charakterisieren, wurde im Stadium 9 die Region anterior und medial des Larvalauges nach Sinneszellen durchsucht, die eine für lichtensitive Zellen typische starke Vergrößerung der apikalen Oberfläche aufweisen.

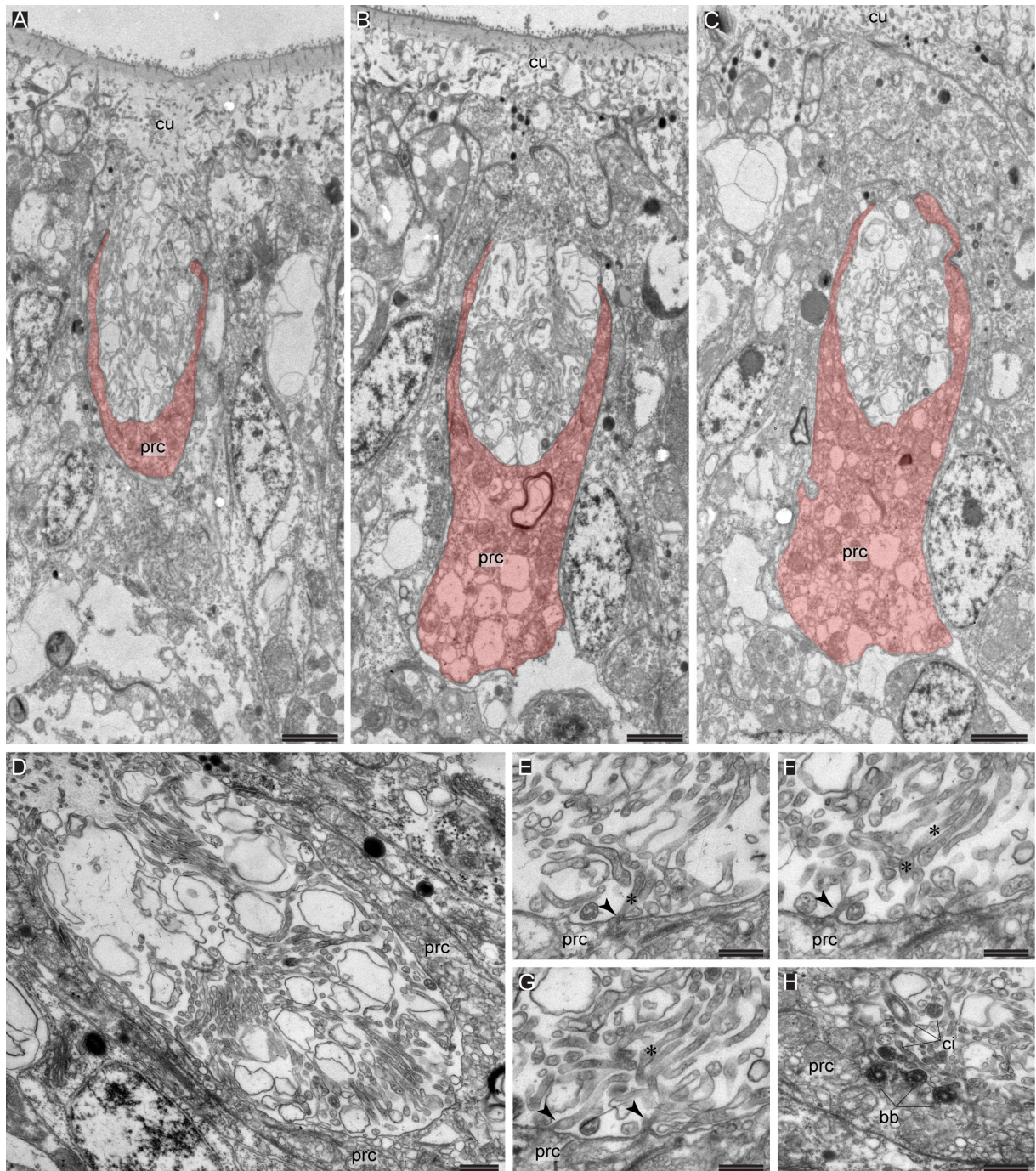


Abbildung 10: Ultrastruktur der mikrovillären Sinneszelle frontal und medial des Larvalauges von *C. teleta* im Stadium 9. **A-C:** Die apikale Membran der Zelle (prc) weist eine tiefe Einsenkung auf, die in direktem offenen Kontakt zur Kutikula steht (cu). **D:** Das Lumen der Einstülpung enthält zahlreiche, zum Teil stark erweiterte Mikrovilli. **E-G:** Die Mikrovilli des Lumens entspringen (Pfeilspitzen) der Sinneszelle. **H:** An Basis der Einsenkung entsendet die Zelle auch einige Cilien (ci) in die Einsenkung. bb – Basalkörper. * markiert Mikrovillus. Maßstab: A-C: 2 μ m. D, H: 500 nm. E-G: 100 nm.

In dieser Region gibt es nur ein Paar von Zellen, das eine solche Organisation aufweist. Die Zellen sind mit einem Durchmesser von 3-5 μ m relativ dünn, dafür aber sehr lang. Sie beginnen 7 μ m frontal des Larvalauges und ihr Verlauf konnte über 18 μ m verfolgt werden. Von der Kutikula ziehen die Zellen nach posterior medial am Larvalauge vorbei. Auf Höhe des Larvalauges biegen die Zellen erst nach dorsal um, um dann weiter posterior direkt in

das Gehirn zu ziehen. Die Zellkerne befinden sich im dorsomedial des Larvalauges gelegenen Abschnitt der Zellen. Von Ihrer Lage und ihrem Verlauf her korrespondieren die Zellen sehr gut mit den medialen *Cte-r-ops*-Expressionssignalen. Umliegende Zellen weisen nur einen sehr geringen Anteil an Pigmentvesikeln auf.

Apikal besitzen die Sinneszellen eine mindestens 8 μm tiefe und 4 μm breite Einsenkung, die in direktem Kontakt mit der Kutikula steht (Abb. 10 A-C). Der oberste Abschnitt der Einsenkung wird dabei nicht von der Sinneszelle selbst, sondern von benachbarten Zellen begrenzt. Das Lumen der Einsenkung wird von einer lockeren Anordnung von Mikrovilli ausgefüllt (Abb. 10 D), die sich stark verzweigen und z. T. stark erweitern. Diese Mikrovilli entspringen der von der Sinneszelle gebildeten Wandung des Lumens (Abb. 10 E-G). An der Basis der Einsenkung entsendet die Sinneszelle zusätzlich einige Cilien in das Lumen hinein (Abb. 10 H). Diese Cilien verjüngen sich schnell. Verzweigungen der Cilien konnten nicht beobachtet werden. Die Membranoberfläche der Cilien ist gering im Vergleich zur Oberfläche der Mikrovilli der Sinneszelle. Die Lage der Zelle und die für rhabdomerische Photorezeptorzellen typische Membranvergrößerung durch Mikrovilli legen nahe, dass das beobachtete mediale und frontale Expressionssignal von *Cte-r-ops* auf diese Zelle zurückzuführen ist.

Die hier beobachteten Zellen sind von Rhode (1993) nicht beschrieben. Ursache mag das Fehlen assoziierter, ausgeprägter Pigmentzellen sein. Die Morphologie der Zelle ist allerdings sehr ähnlich zu den von Rhode in bereits metamorphosierten Stadien beschriebenen Photorezeptorzellen des Adultauges. In diesen Stadien besitzen die Adultaugen nur eine Photorezeptorzelle, erst später kommen weitere hinzu. Die Photorezeptorzellen der Adultaugen sind ebenfalls sehr lang und senden viele Mikrovilli und einige Cilien in eine apikale Einsenkung.

3.3.3 Larval- und Adultauge während der Metamorphose

Um weiter abzusichern, dass es sich bei den unpigmentierten, ultrastrukturell charakterisierten Zellen des Larvalstadiums um die Photorezeptorzelle des späteren Adultauges handelt, wurde die Entwicklung der Augen während der Metamorphose untersucht.

Phalloidin-Färbungen haben sich im Rahmen von Untersuchungen vergangener Jahre als probates Mittel für den Nachweis von rhabdomerischen Photorezeptorzellen durch die Bindung von Phalloidin an Actin in den Mikrovilli erwiesen (Hafner *et al.* 1992). Eine zeitlich eng

gestaffelte Serie von Phalloidinfärbungen wurde genutzt, um das Schicksal des Larvalauges und die Ausbildung des Adultauges während der Metamorphose zu untersuchen.

Zu Beginn der Untersuchung im Stadium 8 liegt das Rhabdom des Larvalauges in dem nach lateral geöffneten Pigmentbecher. Ein weiter anterior und lateral gelegenes Phalloidinsignal entspricht von der Lage her der mikrovillibesetzten Einsenkung, also dem Rhabdom der ultrastrukturell charakterisierten unpigmentierten Photorezeptorzelle. Die folgenden Daten zeigen klar, dass diese Zelle zur Photorezeptorzelle des Adultauges wird, daher wird sie im Folgenden als solche bezeichnet. In diesem Stadium liegen beide Rhabdome anterior des Prototrochs (Abb. 11 A, G, M). Nach einigen Minuten im Sediment und im Zuge der Metamorphose der Larve hat sich die Distanz zwischen dem Rhabdom der Photorezeptorzelle des Adultauges und dem Pigmentbecher jedoch verringert und das Rhabdom des Larvalauges liegt nun posterior des Pigmentbeckers (Abb. 11 B, H, N). Mit längerer Verweildauer der juvenilen Tiere im Sediment und mit Fortschreiten der Metamorphose beginnt sich das Erscheinungsbild des Pigmentbeckers stark zu ändern. Dieser ist nicht mehr rund sondern nimmt eine fast rechteckige Form an und liegt quer zur Längsachse des Körpers. Zusätzlich hat sich die Entfernung zwischen dem Rhabdom der Photorezeptorzelle des Adultauges und dem Pigment immer weiter verringert, bis das Rhabdom direkt anterior an das Pigment grenzt und für einen gewissen Zeitraum beide Rhabdome dem Pigment direkt anterior bzw. posterior anliegen (Abb. 11 C-E, I-K, O-Q). Bei den Juvenilstadien die etwa 3,5 h im Sediment verbrachten kann mit Phalloidin schließlich nur noch das Rhabdom des Adultauges nachgewiesen werden, welches in dem nun nach anterior geöffneten Pigmentbecher liegt. (Abb. 11 F, L, R).

Die Phalloidin-Signale der Rhabdome können auf Grund ihrer räumlichen Anordnung sehr gut mit den zuvor gewonnenen Daten für die zwei Paar *Cte-r-ops*-exprimierenden Zellen (3.2.3) und den ultrastrukturellen Befunden (3.3.1 und 3.3.2) in Einklang gebracht werden. Mit diesen Befunden wird die Grundlage geschaffen, um die Entwicklung der Augen von *C. teleta* verstehen zu können. Anders als von Rhode (1993) vermutet entsteht die eine Photorezeptorzelle des postmetamorphen Adultauges also nicht während der Metamorphose, sondern ist in Form eines unpigmentierten *Cte-r-ops* exprimierenden Photorezeptors schon im Larvenstadium vorhanden. Im Laufe der Ontogenese verändern sich die Lagebeziehungen der Rhabdome von Larval- und Adultaugen zueinander und zum sich morphologisch gravierend verändernden Pigmentbecher. Es wird ersichtlich, dass in späten Metamorphosestadien das Rhabdom der Photorezeptorzelle des Larvalauges reduziert wird. Zusätzlich zeigte sich, dass im Laufe der Ontogenese zunächst

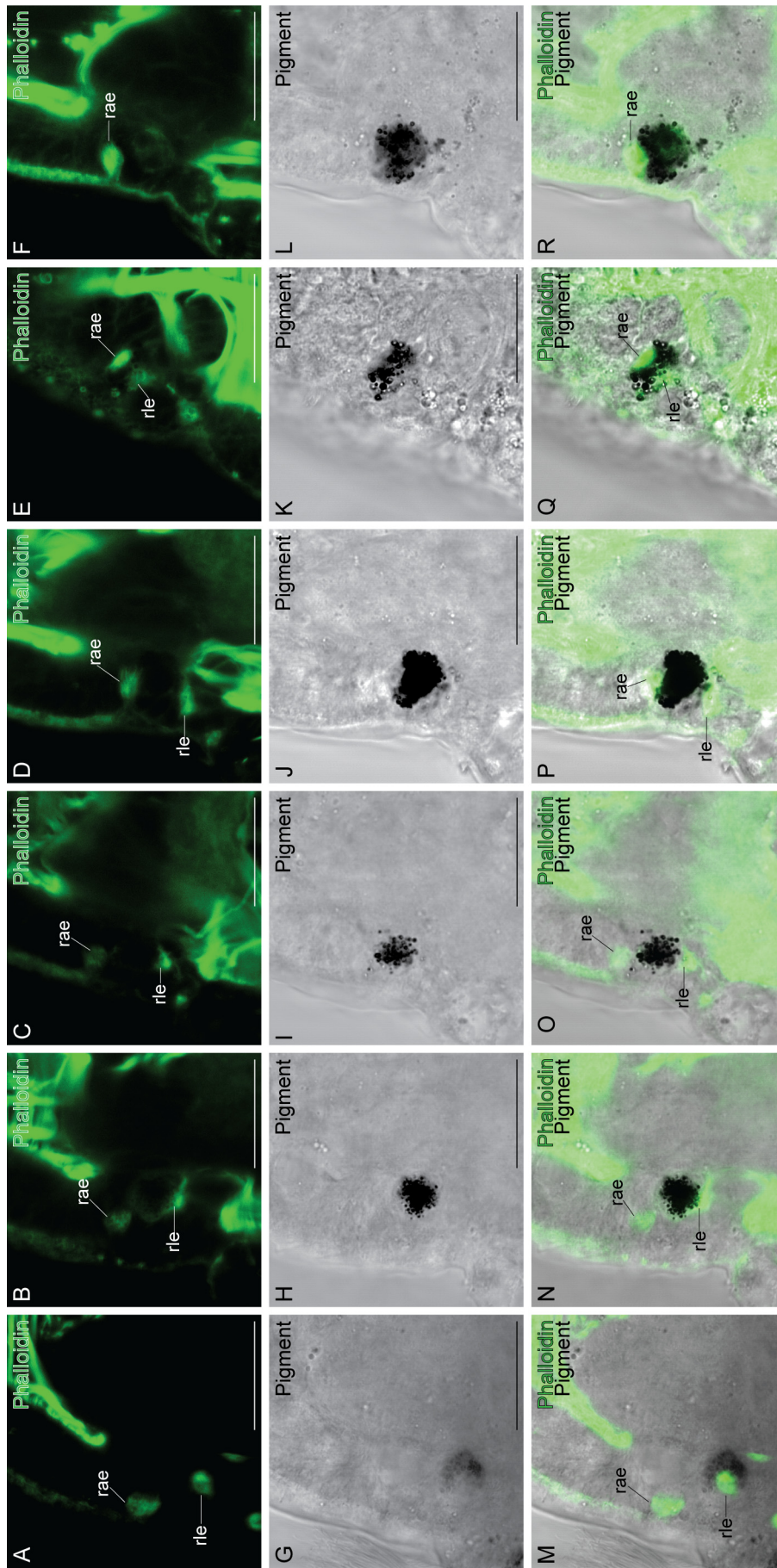


Abbildung 11: Phalloidin-Färbungen in späten Larval- und frühen Metamorphosestadien Stadien von *C. teleta*. A-R: Dorsalansicht. Anterior oben. A-F: Kanal 1: Phalloidin-Färbung. G-L: Kanal 2: Transmission. M-R: Kanal 1+2. **A, G, M:** Stadium 8. **B, H, N:** Metamorphosestadium. 0,25 h im Sediment. **C, I, O:** Metamorphosestadium. 0,5 h im Sediment. **D, J, P:** Metamorphosestadium. 1 h im Sediment. **E, K, Q:** Metamorphosestadium. 3 h im Sediment. **F, L, R:** Metamorphosestadium. 3,5 h im Sediment. rae – Rhabdom des Adultauges. rle – Rhabdom des Larvalauges. Maßstab: 25 µm.

kein weiterer separater Pigmentbecher entsteht, was die eigenen lichtmikroskopischen Beobachtungen (3.2.1) bestätigt. Die Daten geben keinen Hinweis darauf, dass anders als von Rhode (1993) vermutet, auch die Pigmentzelle des Larvalauges während der Metamorphose reduziert wird. Vielmehr ist anzunehmen, dass die Pigmentzelle des Larvalauges direkt in das Adultauge mit eingeht.

Auf Basis dieser Daten und den daraus resultierenden Lagebeziehungen der Zellen der Augen zueinander wird die Bewertung von Genexpressionsmustern im weiteren Verlauf der Arbeit ermöglicht.

3.4 Expression einzelner Effektorgene in *C. teleta*

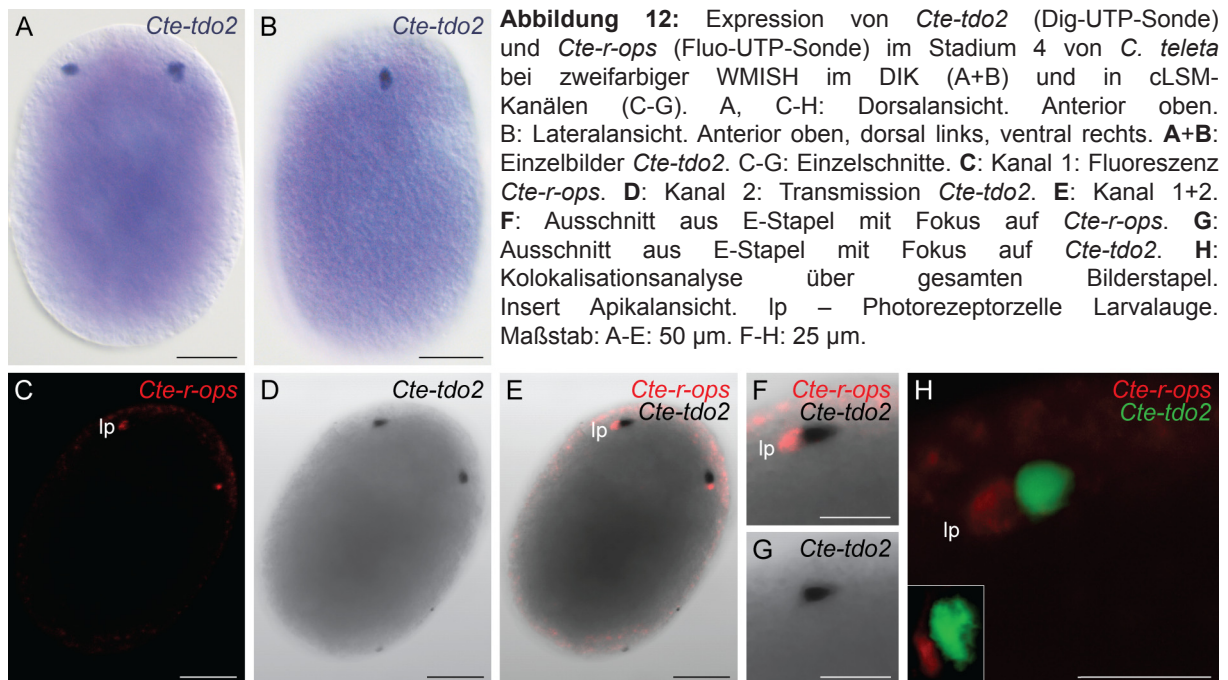
3.4.1 Tryptophan 2,3-dioxygenase

Pigmente im Tierreich sind Produkte des Melanin-, Pteridin-, Ommochrom- und Papiliochromesynthesewegs (Takeuchi *et al.* 2005). So nutzen z. B. die Vertebraten Melanin exklusiv als dunkles Pigment und Melanin ist das abschirmende Pigment in den Augen von *Tripedalia cystophora*. Die Augen- und Körperfarbe von *Dugesia ryukyuensis* beruht auf Ommochrom und Pterine und Ommochrome finden sich in den Augen von *Drosophila* (Kozmik *et al.* 2008). Innerhalb der Protostomia und Arthropoda sind Ommochrome weit verbreitet (Sawada *et al.* 2000) und durch ihre charakteristischen Eigenschaften wie Absorption von UV- und sichtbarem Licht und schwerer Löslichkeit als funktionale Pigmente für die Augen prädestiniert (Théry & Casas 2009).

Bei der *Tryptophan 2,3-dioxygenase* handelt es sich nun um ein Enzym, welches bei der Ommochrom-Biosynthese den Abbau der Aminosäure Tryptophan zu Formylkynurenin katalysiert (Linzen 1967; Han *et al.* 2003; Forouhar *et al.* 2007) und für das eine Expression in den Photorezeptorzellen der Adultaugen und in den Pigmentzellen der Larvalaugen von *P. dumerilii* beschrieben ist (Guy 2008). Vor diesem Hintergrund war eine Untersuchung dieses Gens bei *C. teleta* sehr interessant, lässt sie doch Rückschlüsse auf das Pigment der Augen zu.

Bei *C. teleta* konnte ein 1156 bp langes, putatives *Tryptophan 2,3-dioxygenase*-Fragment (*Cte-tdo2*) gewonnen werden, welches in ein 384 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen

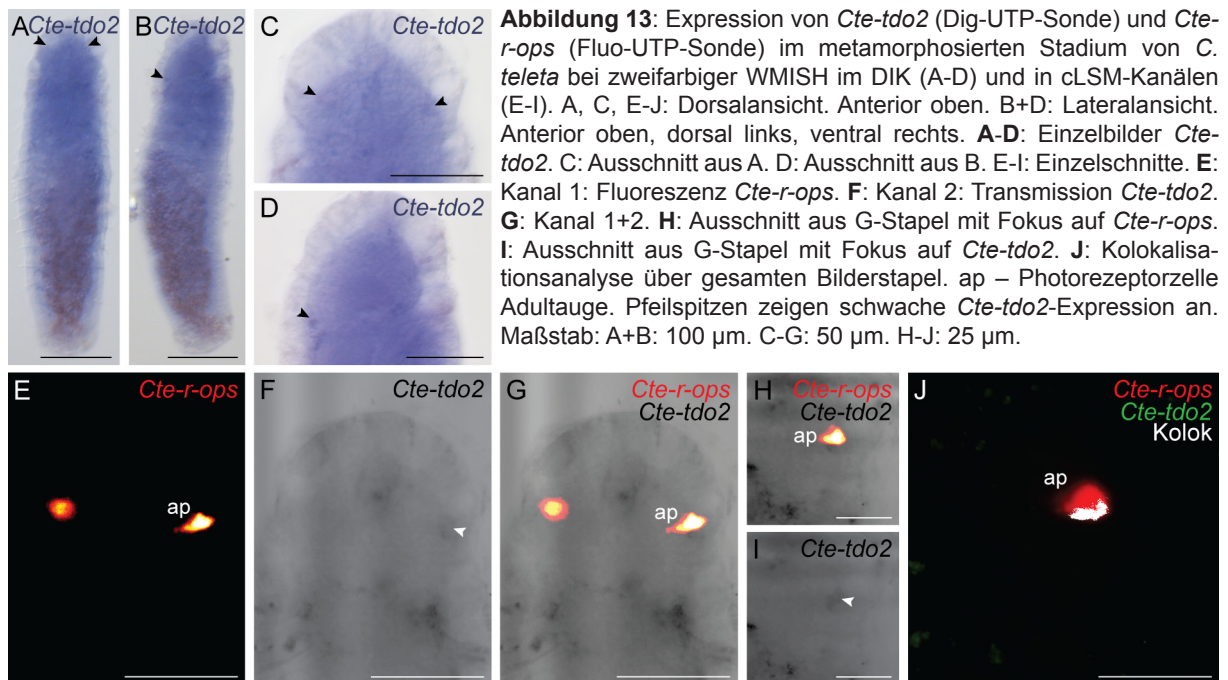
hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-tdo2* mit der *Tryptophan 2,3-dioxygenase* anderer Organismen (8.2). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weicht die Klonsequenz an zwei Wobblepositionen ab und zusätzlich in einer AS, die allerdings auch durch weitere Klone bestätigt wird. Insofern kann hier auf einen geringfügigen Polymorphismus des Gens in der Population von *C. teleta* gegenüber dem Modell geschlossen werden.



In dem frühen Stadium von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-tdo2* auf zwei sehr deutlich umrissene, anteriore Zellen beschränkt (Abb. 12, A, B, D, G). Diese liegen jeweils sehr weit lateral, aber in der Horizontalebene. Mit *Cte-r-ops* werden beide Photorezeptorzellen der Larvalaugen markiert (Abb. 12 C, E). Die Kolokalisationsanalyse verdeutlicht, dass *Cte-tdo2* und *Cte-r-ops* nicht koexprimiert werden (Abb. 12 H). Allerdings grenzen die Expressionsdomänen beider Gene direkt aneinander, wobei *Cte-r-ops* antero-lateral von *Cte-tdo2* liegt (Abb. 12 E, F, H).

Im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* finden sich zwei anteriore, weit lateral und auf der Dorsalseite gelegene Zellen, die *Cte-tdo2* exprimieren (Abb. 13 A-D, F, I). Die Intensität ist deutlich schwächer als die der anterioren Expressionsdomänen im früheren Stadium. Der restliche Körper ist bedingt durch die lange Färbezeit einheitlich gefärbt (Abb. 13 A-D). Beide Photorezeptorzellen der Adultaugen werden durch die *Cte-r-ops*-Expression markiert (Abb. 13 E, G). Die Kolokalisationsanalyse ergibt eine Koexpression von *Cte-tdo2* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 13 J, auch H). Es gibt demnach keine Koexpression

der Gene in frühen Stadien, wohl aber im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* in der Photorezeptorzelle des Adultauges. Im Stadium 9 konnte keine Expression von *Cte-tdo2* nachgewiesen werden. Die Lagebeziehungen der Expressionen lassen in Verbindung mit den ultrastrukturellen Daten und den Phalloidin-Färbungen auf eine Expression von *Cte-tdo2* in der Pigmentzelle schliessen.

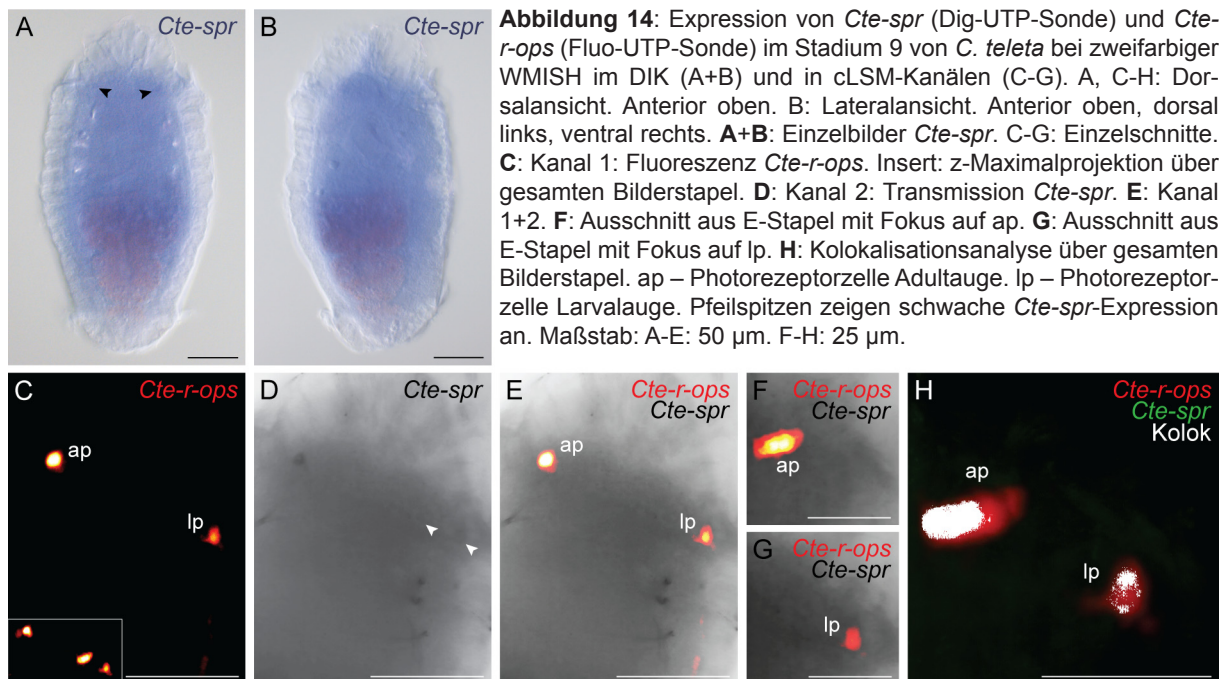


3.4.2 Sepiapterinreduktase

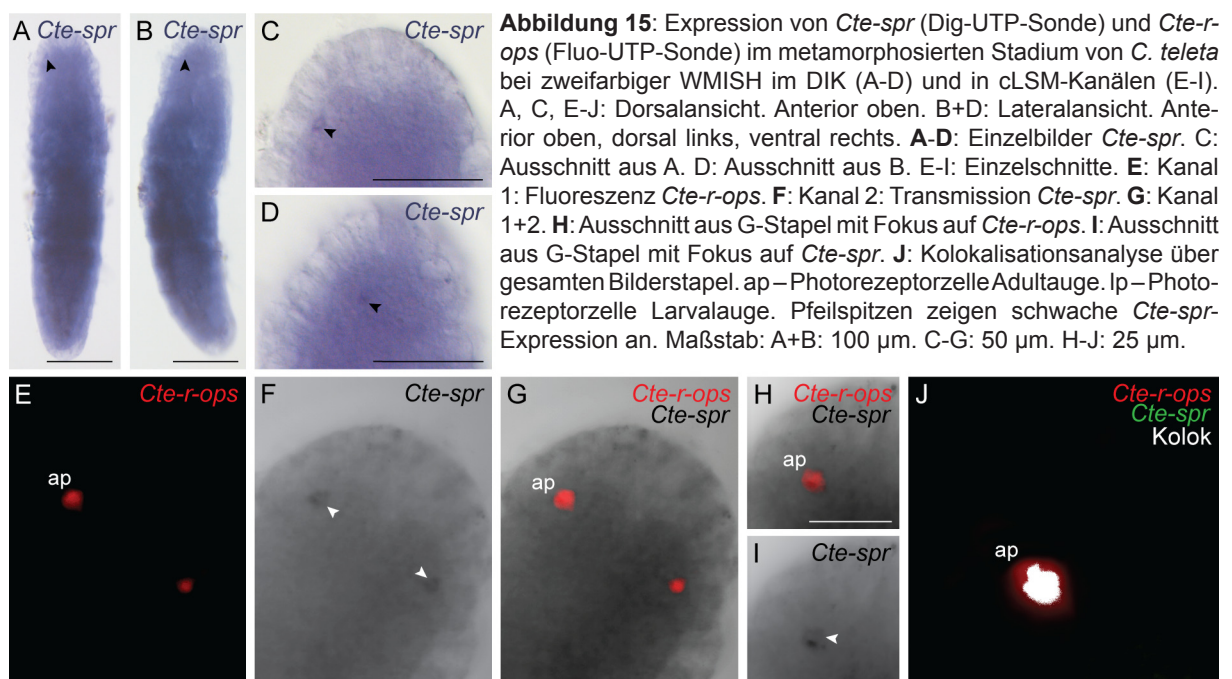
Mitglieder der Familie der Pterine fungieren neben Melaninen und Ommochromen als abschirmende Pigmente vieler Taxa, insbesondere bei Insekten (Fuzeau-Braesch 1972; Vopalensky & Kozmik 2009). Im Stoffwechselweg, der zur Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) zu verschiedenen Pterinen führt, spielt das Enzym *Sepiapterinreduktase* als Katalysator eine Schlüsselrolle (Takeuchi *et al.* 2005). Das Pigment in den Augen des Polychaeten *P. dumerilii* wurde von Viscontini & Hummel (1970) als Gemisch dreier Pterine identifiziert und die Expression der *Sepiapterinreduktase* in den Pigment- und Photorezeptorzellen der Adultaugen, aber nicht in denen der Larvalaugen durch Guy (2008) nachgewiesen.

Bei *C. teleta* konnte ein 977 bp langes, putatives *Sepiapterinreduktase*-Fragment (*Cte-spr*) gewonnen werden, welches in ein 271 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-spr* mit der *Sepiapterinreduktase* anderer Organismen

(8.3). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI zeigen sich keine Abweichungen.



Der früheste Zeitpunkt, zu dem eine Expression von *Cte-spr* in *C. teleta* nachgewiesen werden kann, ist das Stadium 9. Anterior des Prototrochs finden sich jeweils lateral und nah der Epidermis gelegene Expressionsdomänen auf der Dorsalseite der Larve (Abb. 14 A, B, D). *Cte-r-ops* markiert in diesem Stadium sowohl die Photorezeptorzelle der Larval- als auch der Adultaugen (Abb. 14 C, E) und mit der Kolokalisationsanalyse kann gezeigt werden, dass in den Rezeptorzellen der Larval- und Adultaugen eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-spr* vorliegt (Abb. 14 H, auch F, G).



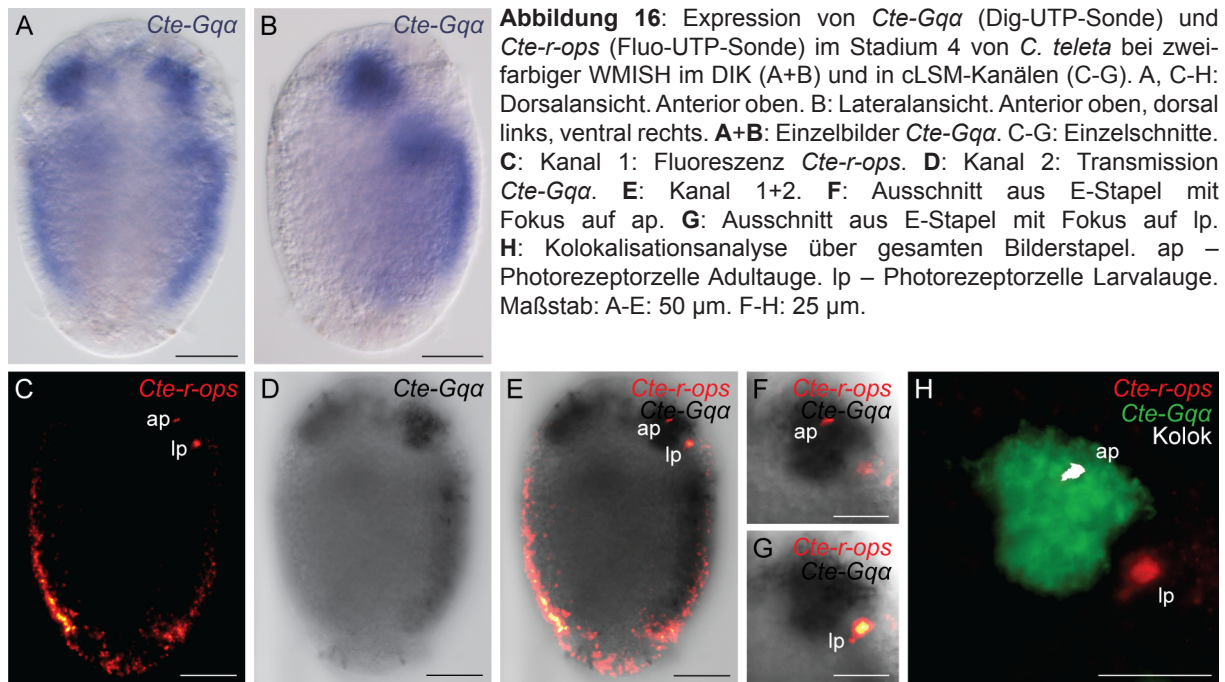
Im metamorphosierten Stadium können im Prostomium zwei Zellen mit deutlicher *Cte-spr*-Expression ausgemacht werden, die sich wie bereits im vorangegangenen Stadium weit lateral und nahe der Epidermis auf der Dorsalseite des Tieres befinden (Abb. 15 A-D, F, I). Die *Cte-r-ops*-Expression markiert die Photorezeptorzellen der Adultaugen (Abb. 15 E, G) und die Kolokalisationsanalyse ergibt eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-spr* in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 15 J, auch H).

Cte-spr wird mit *Cte-r-ops* im Stadium 9 in den Photorezeptorzellen von Larval- und Adultaugen koexprimiert, im metamorphosierten Stadium in der Photorezeptorzelle des Adultauges.

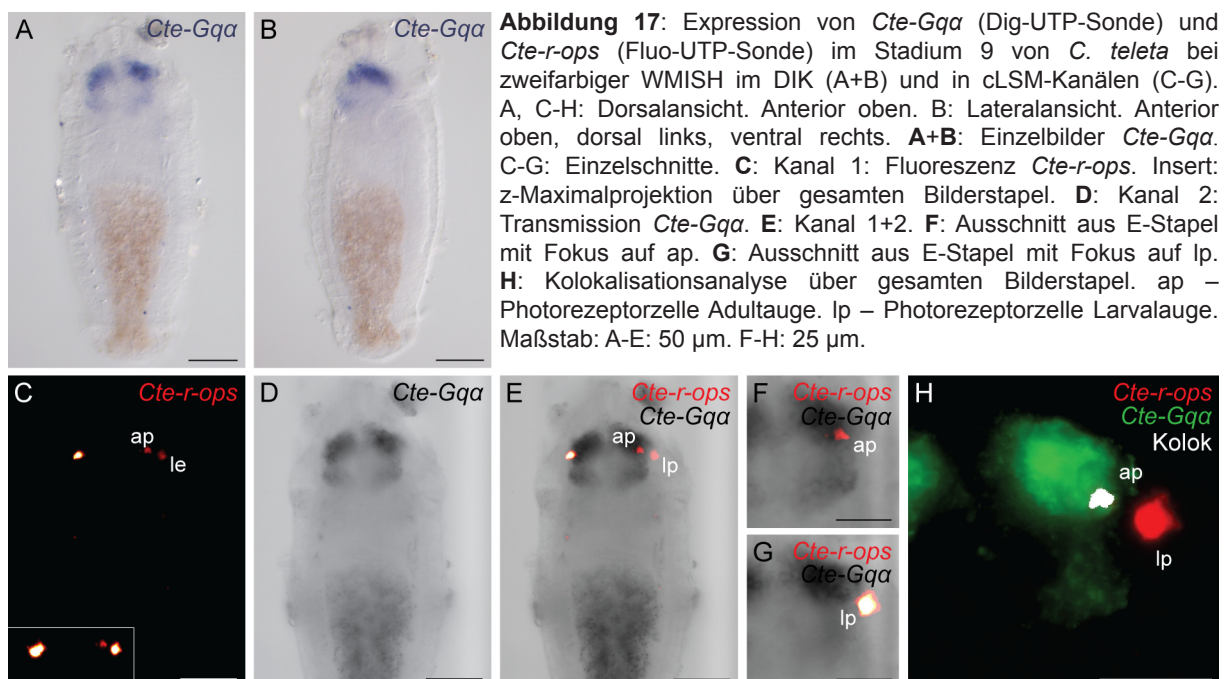
3.4.3 Gq-alpha

Heterotrimere G-Proteine spielen eine zentrale Rolle in der intrazellulären Weiterleitung von Signalen, die von einer großen Gruppe von Transmembranrezeptoren wahrgenommen werden. Verschiedene Rezeptoren aktivieren dabei unterschiedliche Typen der alpha-Untereinheiten der G-Proteine, die wiederum spezifische intrazelluläre second messenger Kaskaden auslösen (Milligan & Kostenis 2006; Oka & Korsching 2009). Auch Opsine stellen derart G-Protein gekoppelte Rezeptoren dar. Alle existierenden Daten sprechen dafür, dass die verschiedenen, evolutiv alten Gruppen von Opsinen jeweils spezifische G-Protein alpha-Untereinheiten ansprechen: c-Opsine Gi/t-alpha, Go-Opsine Go-alpha und r-Opsine Gq-alpha (Terakita 2005; Scheerer *et al.* 2008; Yau & Hardie 2009; Rogan & Roth 2011). Die Analyse der Expression von G-Protein alpha-Untereinheiten ermöglicht daher zum einen Rückschlüsse auf die Phototransduktionskaskade und Physiologie von Photorezeptorzellen. Zum anderen stellen die G-Proteine einen weiteren konservativen Marker für die Charakterisierung von Photorezeptorzellen dar. Bei *P. dumerilii* (pers. Kommunikation Detlev Arendt) und bei *Perinereis brevicirris* (Miyako-Shimazaki *et al.* 1999) wird konform zur Situation in anderen Organismen *Gq-alpha* im r-Opsin positiven Adultaugen exprimiert.

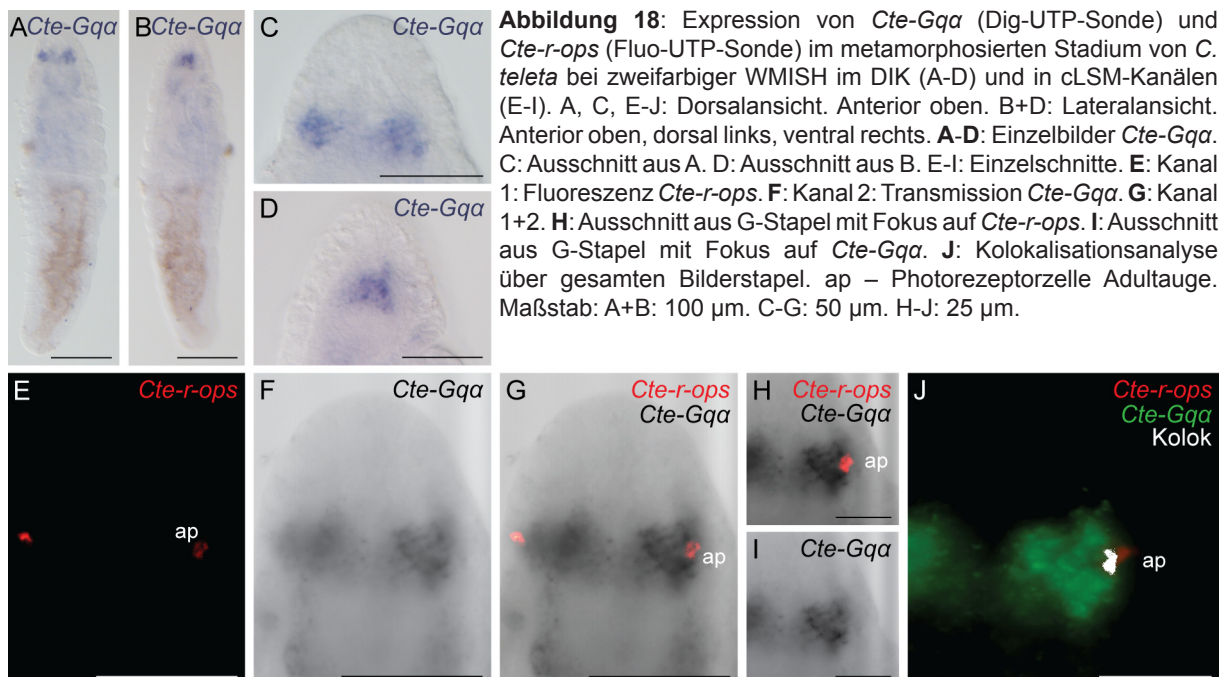
Bei *C. teleta* konnte ein 1113 bp langes, putatives *Gq-alpha*-Fragment (*Cte-Gqa*) gewonnen werden, welches in ein 350 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-Gqa* mit *Gq-alpha* anderer Organismen (8.4). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weicht die Klonsequenz an zwei Wobblepositionen ab und zusätzlich in einer AS, die allerdings auch durch weitere Klone bestätigt wird. Insofern kann hier auf einen geringfügigen Polymorphismus des *Gq-alpha*-Gens in der Population von *C. teleta* geschlossen werden.



Cte-Gqα wird im frühen Stadium von *C. teleta* in vier großflächige Domänen exprimiert. Zwei davon liegen anterior des Prototrochs, lateral und in der Horizontalebene. Zwei weitere beginnen posterior des Prototrochs, erstrecken sich fast bis zum Telotroch und schließen das ventrale Nervensystem und Teile des Stomodaeums ein (Abb. 16 A, B, D). *Cte-r-ops* markiert die Photorezeptorzellen des Larval- und Adultauges (Abb. 16 C, E). Die Kolokalisationsanalyse ergibt eine Lage der Photorezeptorzelle des Adultauges direkt in einer *Cte-Gqα*-Expressionsdomäne und der Photorezeptorzelle des Larvalauges antero-lateral davon und eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-Gqα* nur in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 16 H, auch F, G).



Im Stadium 9 von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-Gqa* auf den anterioren Teil der Larve vor dem Prototroch beschränkt. Die Markierung des ventralen Nervensystems und des Stomodaeums aus dem frühen Stadium ist nicht mehr vorhanden. Insgesamt gibt es vier Expressionsdomänen. Zwei davon sind sehr kräftig und liegen jeweils lateral in der Horizontalebene im Bereich des sich entwickelnden Gehirns. Zwei weitere liegen postero-dorsal davon, sind aber deutlich schwächer in ihrer Intensität (Abb. 17 A, B, D). Wie bereits auch in dem früheren Stadium werden hier mit *Cte-r-ops* die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen markiert (Abb. 17 C, E). Die Kolokalisationsanalyse ergibt, dass die Photorezeptorzelle des Adultauges randständig in einer *Cte-Gqa*-Expressionsdomäne liegt, die Photorezeptorzelle des Larvalauges erneut antero-lateral davon (Abb. 17 H, auch F, G). Wie bereits in dem früheren Stadium gibt es eine Koexpression von *Cte-Gqa* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Adultauges, aber nicht in der des Larvalauges.



Im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* wird *Cte-Gqa* in zwei Domänen exprimiert. Diese liegen anterior der Mundöffnung im Peristomium, lateral in der Horizontalebene im Bereich des Gehirns. Im Bereich des ventralen Nervensystems und des Darms finden sich vereinzelt sehr schwache, diffuse Färbungen. (Abb. 18 A-D, F, I). Durch *Cte-r-ops* werden beide Photorezeptorzellen der Adultaugen markiert (Abb. 18 E, G). Wie bereits im Stadium 9 liegt die Photorezeptorzelle lateral randständig in der *Cte-Gqa*-Domäne und die Kolokalisationsanalyse ergibt auch in diesem Stadium eine Koexpression von *Cte-Gqa* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 18 J, auch H).

Sehr erstaunlich ist, dass in allen Stadien die Expression von *Cte-Gq α* nur in den Photorezeptorzellen der Adultaugen, aber nicht in denen der Larvalaugen nachgewiesen werden konnte. Beide Zellen exprimieren das gleiche Opsin (*Cte-r-ops*) und somit war dieselbe Art der Signaltransduktion zu erwarten. Um sicherzustellen, dass nicht mehrere, evolutiv nahe stehende Typen von *Gq-alpha* bei *C. teleta* vorliegen, wurden alle verfügbaren Genmodelle von G-Protein alpha-Untereinheiten von *C. teleta* im Alignment mit anderen G-Protein Sequenzen verglichen. Alle Sequenzen lassen sich eindeutig verschiedenen bekannten Typen von G-Protein alpha-Untereinheiten zuordnen (8.4) Es gibt für *C. teleta* nur ein einziges Genmodell, welches ortholog zu Gq-alpha-Untereinheiten anderer Organismen ist. Offensichtlich weisen die Larvalaugen eine ungewöhnliche Form der Signaltransduktion auf.

3.4.4 Vesikulärer Acetylcholin-Transporter

Caenorhabditis elegans war der erste Organismus, in dem der vesikuläre Acetylcholin-Transporter (*VACHT*), der zusammen mit den vesikulären Monoamin-Transportern eine Familie bildet, erstmals als UNC-17 kloniert wurde (Alfonso *et al.* 1993; Usdin *et al.* 1995). Acetylcholin wird im Zytoplasma unter Mitwirkung des Enzyms Cholinacetyltransferase aus Cholin und Koenzym A gebildet und durch den als spezifischer Marker für cholinerge Neuronen geltenden vesikulären Acetylcholin-Transporter in die synaptischen Vesikel transportiert (Weihe *et al.* 1996; Arvidsson *et al.* 1997). Für *P. dumerilii* haben Jékely *et al.* (2008) nachgewiesen, dass die Photorezeptorzellen des Larvalauges, aber nicht der Adultaugen cholinerg Natur sind.

Für *C. teleta* konnte ein 1710 bp langes, putatives *VACHT*-Fragment (*Cte-VACHT*) gewonnen werden, welches in ein 569 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-VACHT* mit den vesikulären Acetylcholin-Transportern anderer Organismen (8.5). Im Vergleich mit dem Genmodell weicht die Klonsequenz an drei Wobblepositionen ab und zusätzlich in einer AS. Da hier nur ein Klon vorliegt kann nicht endgültig beurteilt werden, ob es sich dabei um einen Sequenzierfehler oder einen Polymorphismus handelt.

Im frühen Stadium von *C. teleta* wird *Cte-VACHT* in wenigen, klar umrissenen und jeweils antero-lateral des Prototrochs liegenden Zellen exprimiert (Abb. 19 A, B, D, J). *Cte-r-ops* markiert zu diesem Zeitpunkt die Photorezeptorzellen der Larvalaugen (Abb. 19 C, E). Die Kolokalisationsanalyse zeigt eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-VACHT* in der Photorezeptorzelle des Larvalauges (Abb. 19 H, auch F, G).

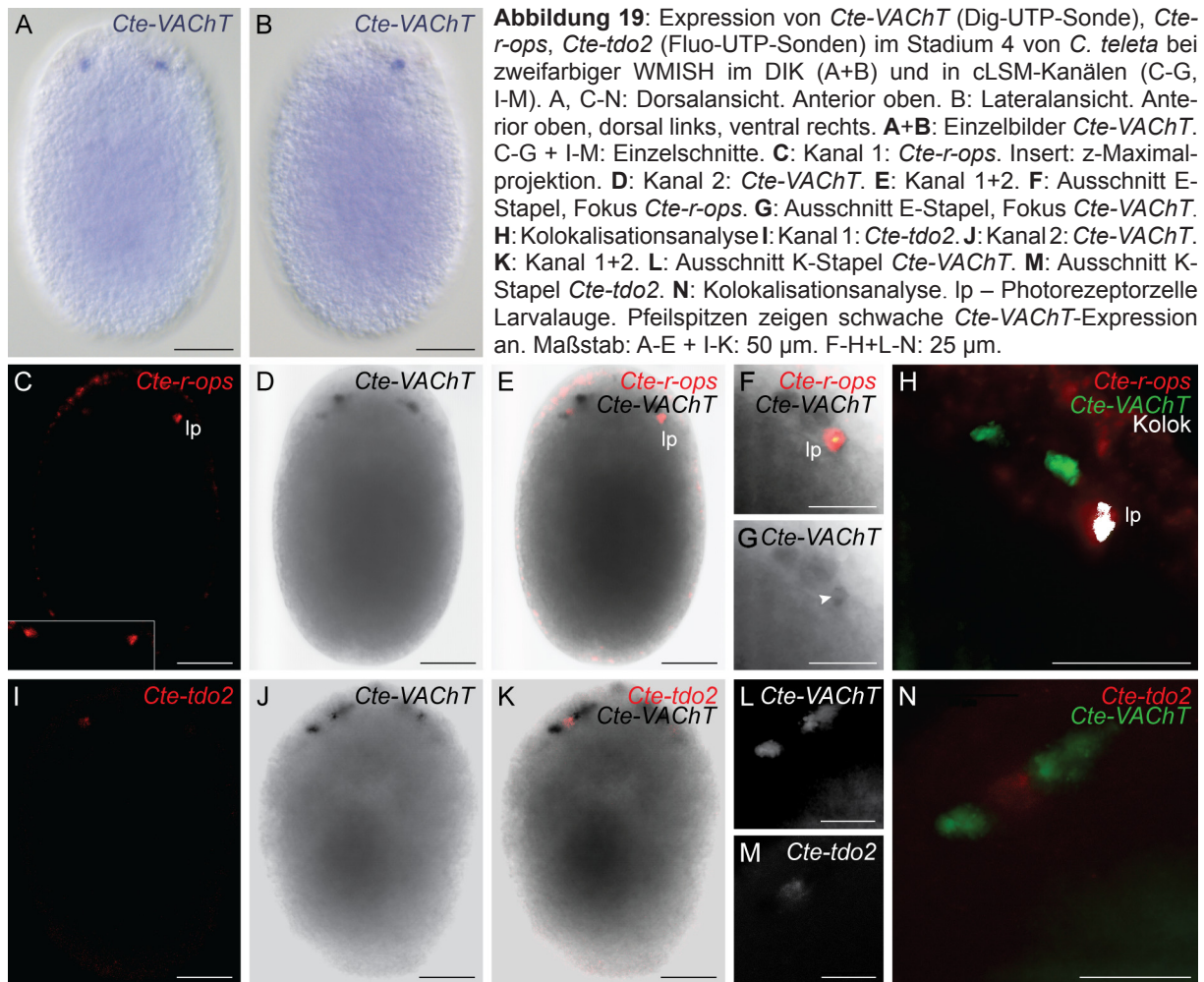
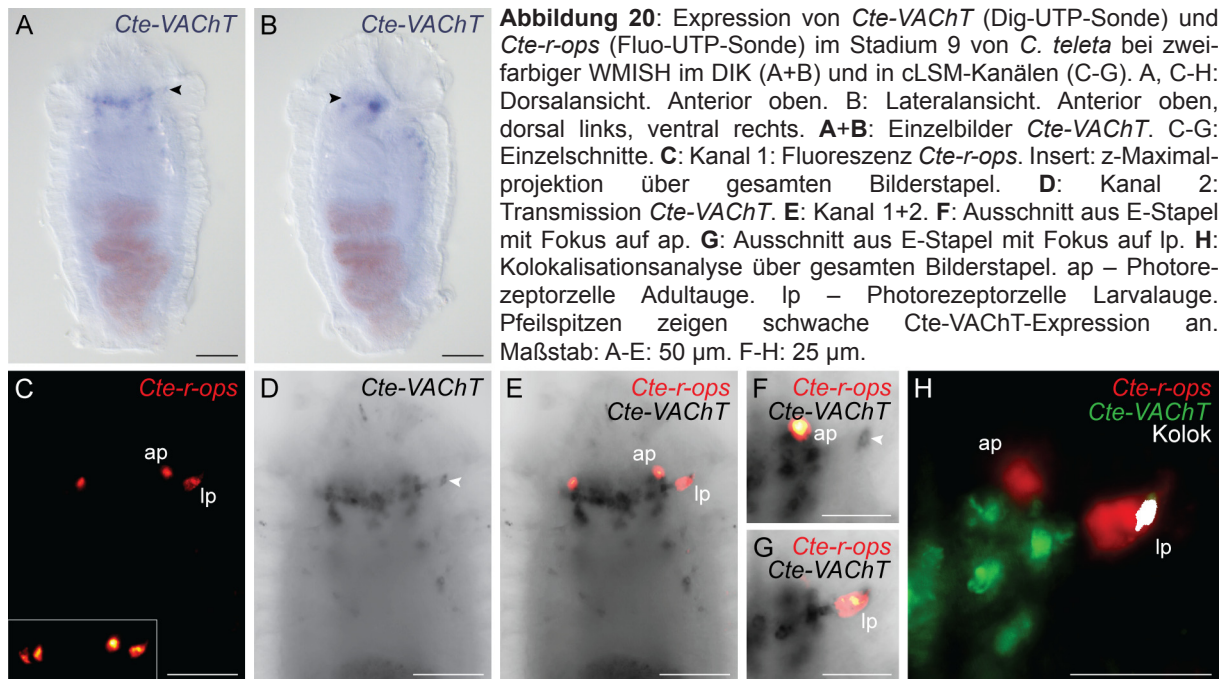


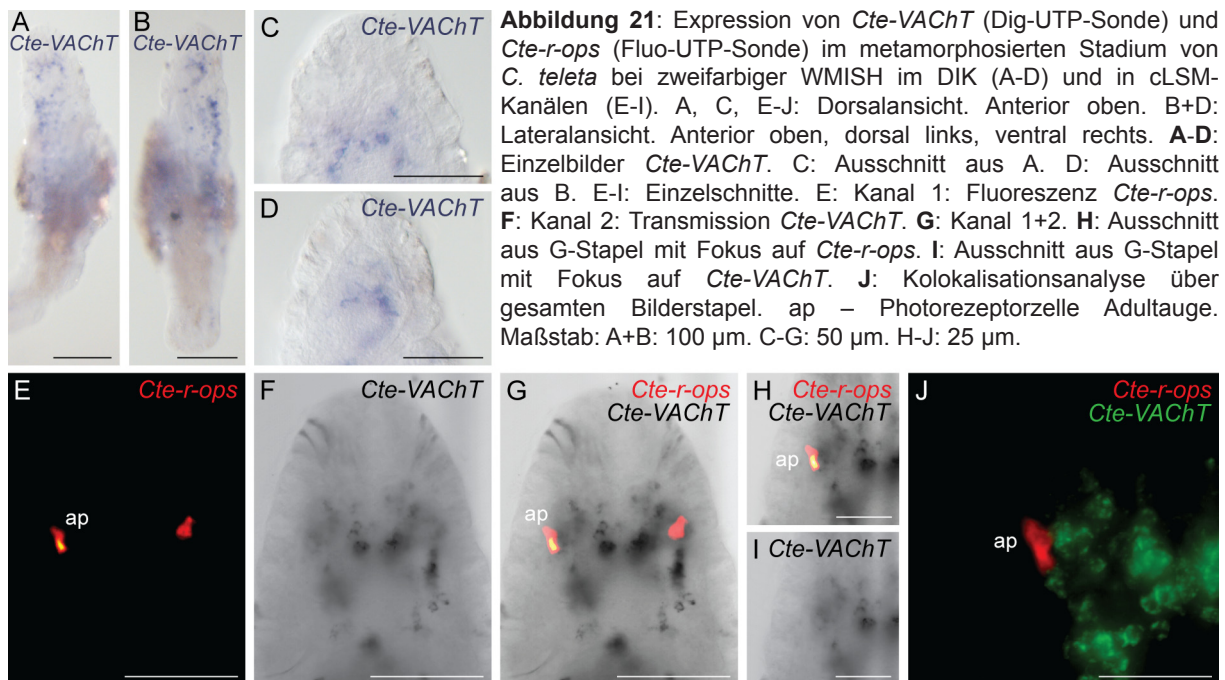
Abbildung 19: Expression von *Cte-VACHT* (Dig-UTP-Sonde), *Cte-r-ops*, *Cte-tdo2* (Fluo-UTP-Sonden) im Stadium 4 von *C. teleta* bei zweifarbiger WMISH in DIK (A+B) und in cLSM-Kanälen (C-G, I-M). A, C-N: Dorsalansicht. Anterior oben. B: Lateralansicht. Anterior oben, dorsal links, ventral rechts. **A+B:** Einzelbilder *Cte-VACHT*. C-G + I-M: Einzelschnitte. **C:** Kanal 1: *Cte-r-ops*. Insert: z-Maximalprojektion. **D:** Kanal 2: *Cte-VACHT*. **E:** Kanal 1+2. **F:** Ausschnitt E-Stapel, Fokus *Cte-r-ops*. **G:** Ausschnitt E-Stapel, Fokus *Cte-VACHT*. **H:** Kolokalisationsanalyse I: Kanal 1: *Cte-tdo2*. **J:** Kanal 2: *Cte-VACHT*. **K:** Kanal 1+2. **L:** Ausschnitt K-Stapel *Cte-VACHT*. **M:** Ausschnitt K-Stapel *Cte-tdo2*. **N:** Kolokalisationsanalyse. Ip – Photorezeptorzelle Larvalauge. Pfeilspitzen zeigen schwache *Cte-VACHT*-Expression an. Maßstab: A-E + I-K: 50 μ m. F-H+L-N: 25 μ m.

Um zu überprüfen, ob *Cte-VACHT* eventuell in der Pigmentzelle exprimiert wird, wurde noch eine zweifarbige WMISH mit dem Pigmentzellenmarker *Cte-tdo2* durchgeführt. *Cte-tdo2* wird in nur einer antero-lateralen Zelle exprimiert (Abb. 19 I, K). In der Kolokalisationsanalyse kann keine Koexpression von *Cte-VACHT* und *Cte-tdo2* festgestellt werden. Die *Cte-VACHT*-positive Photorezeptorzelle und eine weitere Zelle grenzen die *Cte-tdo2*-Expression ein (Abb. 19 N, auch L, M).

Im Stadium 9 von *C. teleta* sind zu den wenigen Zellen des jüngeren Stadiums etliche, symmetrisch angeordnete *Cte-VACHT*-positive Zellen im Bereich des sich entwickelnden Gehirns auf der Dorsalseite und in der Horizontalebene der Larve hinzugekommen. Zusätzlich treten *Cte-VACHT*-positive Zellen im ventralen Nervensystem auf (Abb. 20 A, B, D). Die Photorezeptorzellen des Larval- bzw. Adultauges sind *Cte-r-ops* positiv (Abb. 20 C, E) und die Kolokalisationsanalyse zeigt wie bereits im jüngeren Stadium eine deutliche Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-VACHT* in der Photorezeptorzelle des Larvalauges (Abb. 20 H, auch F, G). In der Photorezeptorzelle des Adultauges kann keine Koexpression festgestellt werden.



Im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* treten im Vergleich mit dem Stadium 9 weitere *Cte-VACHT*-positive Zellen im Prostomium und insbesondere im ventralen Nervensystem auf (Abb. 21 A-D, F, I). Die Kolokalisationsanalyse mit *Cte-r-ops*, welches hier die Photorezeptorzellen der Adultaugen markiert (Abb. 21 E, G), bestätigt keine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-VACHT* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen (Abb. 21 J, auch H).



Innerhalb des untersuchten Zeitraumes waren die Photorezeptorzellen der Larvalaugen stets *Cte-VACHT*-positiv, die Photorezeptorzellen der Adultaugen jedoch zu keinem Zeitpunkt.

3.4.4.1 Acetylcholin-Antagonisten und die Phototaxis von *C. teleta*

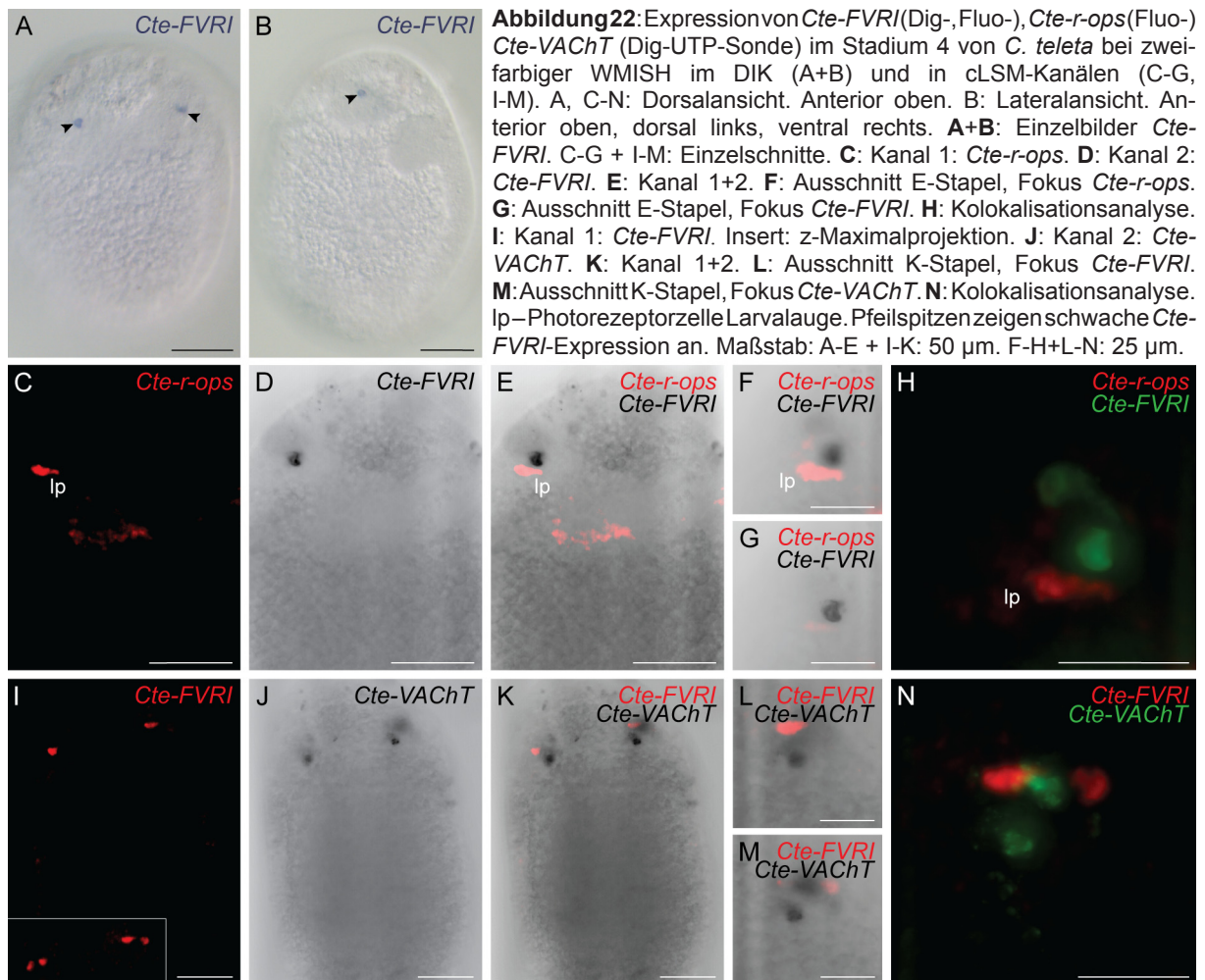
Aufgrund der Expressionssignale von *Cte-VACHT* in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen von *C. teleta* wurde eine cholinerge Natur derselben vermutet. Deshalb wurde das phototaktische Verhalten junger Larven in Ab- und Anwesenheit eines Acetylcholin-Antagonisten untersucht. Das Resultat dieser qualitativen Experimente ist, dass das zielgerichtete Schwimmen der Larven zu einer einzelnen Lichtquelle hin bei einer Konzentration des Acetylcholin-Antagonisten α -Bungarotoxin von 500 nM nahezu vollständig gehemmt wird und keine der Larven mehr direkt auf die Lichtquelle zuschwimmt, die Geschwindigkeit subjektiv allerdings nicht beeinflusst wird.

3.4.5 FVRIamid

Die früh evolvierten Neuropeptide stellen eine sehr diverse Gruppe von Signalmolekülen dar und spielen eine bedeutende Rolle bei vielen physiologischen Prozessen der Vertebraten und Invertebraten (Kiss 2011). Eine gut untersuchte und evolutiv konservierte Familie der Neuropeptide sind die FMRFamide (Wollesen *et al.* 2010). Diese Familie zeichnet sich durch das, zuerst in einem Mollusken isolierte Tetrapeptid FMRFamid aus und wurde bisher in Cnidariern, Plathelminthen, Mollusken, Nematoden, Arthropoden, Vertebraten und Anneliden identifiziert (Diaz-Miranda *et al.* 1991; Lefebvre & Salzet 2003; Walker *et al.* 2009). Das noch nicht lange bekannte FVRIamid gehört zu den FMRFamid ähnlichen Neuropeptiden und wurde bisher u.a. in *P. dumerilii* (Jékely *et al.* 2008) und *Eisenia fetida* (Herbert *et al.* 2009) nachgewiesen. Erst kürzlich verfügbar gemachten Daten für *Helobdella robusta* und *C. teleta* basieren dabei nur auf Genmodellen und die für *Potamoceros lamarckii* und *Hirudo medicinalis* auf Expressed Sequence Tags (Veenstra 2011). Über die Funktion ist wenig bekannt, allerdings exprimieren die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen von *P. dumerilii* FVRIamid (Guy 2008, Jékely *et al.* 2008), wodurch FVRIamid auch für *C. teleta* zu einem interessanten Kandidaten als Markergen für Photorezeptorzellen wird.

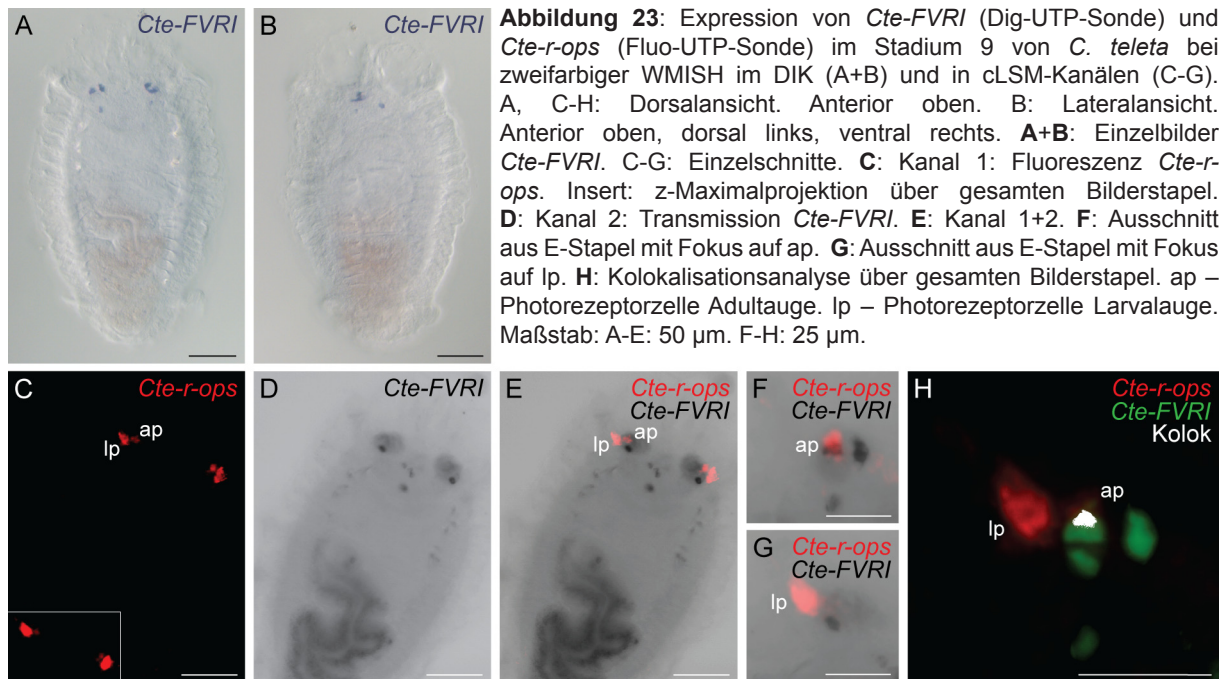
Für *C. teleta* konnte ein 1012 bp langes, putatives *FVRIamid*-Fragment (*Cte-FVRI*) gewonnen werden, welches in ein 337 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-FVRI* mit den FMRFamiden und insbesondere mit den FVRIamiden anderer Organismen in dem Tetrapeptid FVRI (8.6). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weicht die Klonsequenz an einer Wobbleposition ab und zusätzlich in einer AS. Letztere wird allerdings von weiteren

Klonen nicht bestätigt, weshalb an dieser Stelle ein Sequenzierfehler wahrscheinlich ist.



Die Expression von von *Cte-FVRI* im frühen Stadium von *C. teleta* ist hochspezifisch und beschränkt auf zwei Zellen anterior des Prototrochs (Abb. 22 A, B, D). In der Kolokalisationsanalyse ist keine Koexpression von *Cte-FVRI* und *Cte-r-ops* – letzteres markiert hier nur die Photorezeptorzelle eines Larvalauges – festzustellen (Abb. 22 C, E, H, auch F, G). Die beiden Expressionssignale grenzen unmittelbar aneinander, das *Cte-FVRI*-Signal liegt jedoch antero-lateral des *Cte-r-ops*-Signals. Um zu prüfen, ob es wie bei *P. dumerilii* eine Koexpression von *FVRI* und *VACHT* gibt, wurde eine weitere zweifarbige WMISH durchgeführt. In einem nur minimal älteren Stadium finden sich Transkripte von *Cte-FVRI* hochspezifisch in vier Zellen (Abb. 22 I), sind allerdings nicht mit *Cte-VACHT* koexprimiert (Abb. 22 J-N).

Im Stadium 9 von *C. teleta* treten zwei weitere *Cte-FVRI*-positive Zellen auf (Abb. 23 A, B, D). Die Kolokalisationsanalyse mit *Cte-r-ops* – welches die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen markiert – ergibt eine Koexpression von *Cte-FVRI* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Adultauges, jedoch nicht in der des Larvalauges (Abb. 23 C-H).



In den untersuchten Stadien lag eine Koexpression von *Cte-FVRI* und *Cte-r-ops* nur in der Photorezeptorzelle des Adultauges im Stadium 9 vor. In metamorphosierten Stadien konnte keine Expression von *Cte-FVRI* nachgewiesen werden.

3.5 Expression kanonischer Augengene

Bei dem RDGN-Netzwerk (Retinal Determination Gene Network) von *Drosophila* handelt es sich um ein konserviertes Netzwerk von Genen, dessen Mitglieder *Pax6*, *Six*, *Eyes absent* und *Dachshund* über Taxongrenzen hinweg in konzertierter Weise an der Spezifizierung von Zellen während der Augenentwicklung mitwirken (Silver & Rebay 2005; Jemc & Rebay 2006). Allerdings ist bei einigen Organismen nicht immer die Beteiligung aller dieser Gene bei der Augenentwicklung notwendig (Yang *et al.* 2009a; Yang *et al.* 2009b) und auch bei *P. dumerilii* gibt es Unterschiede in der Expression zwischen Larval- und Adultauge (Guy 2008). Ein Vergleich der Expression in den beiden Augentypen von *C. teleta* bietet sich daher an.

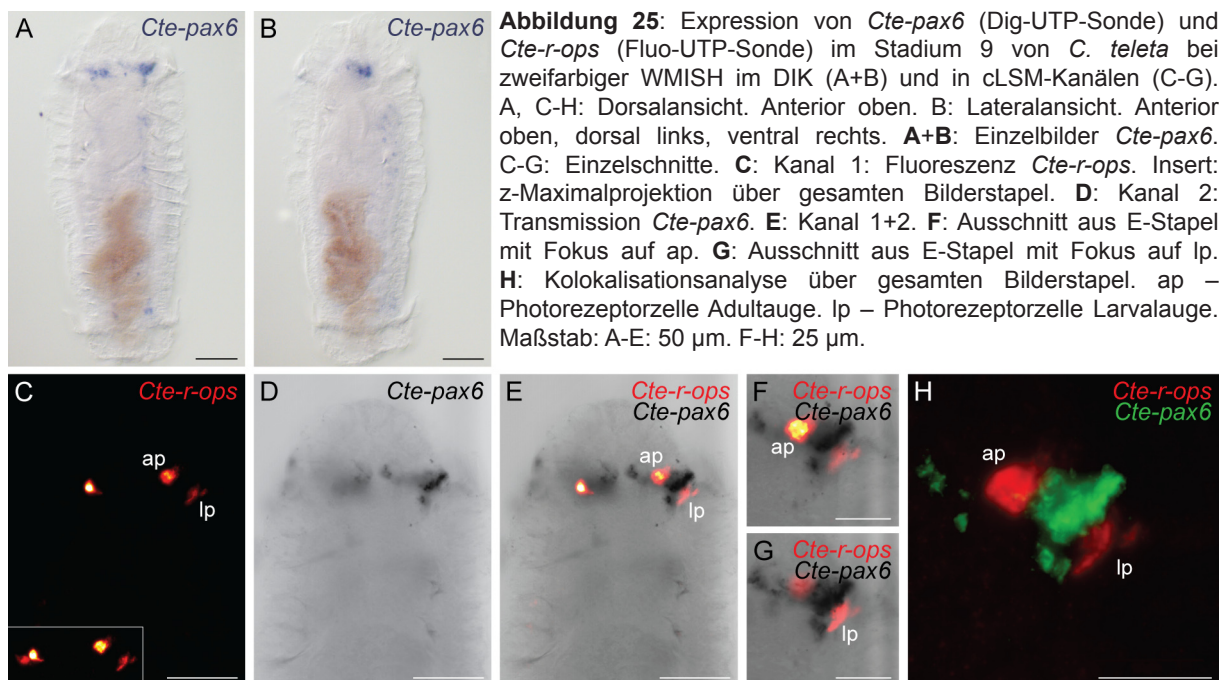
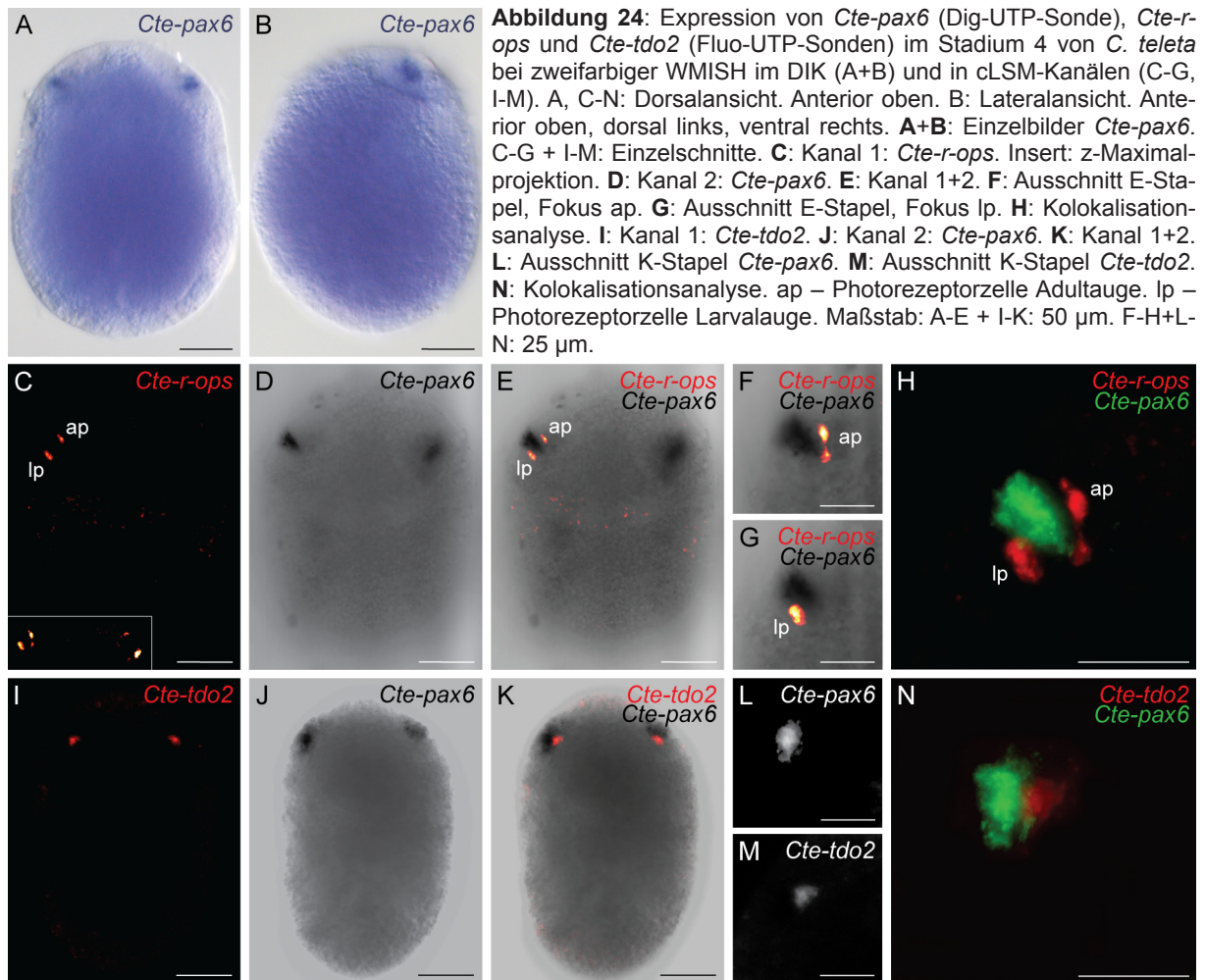
3.5.1 Pax6

Pax-Gene bilden eine evolutiv sehr alte Familie von Transkriptionsfaktoren, die durch eine stark konservierte Paired-Domäne und in manchen der vier Unterfamilien zusätzlich durch eine Homeodomäne oder ein Oktapeptid zwischen beiden Domänen charakterisiert ist (Pichaud

& Desplan 2002; Kozmik 2005; Holland *et al.* 2007; Kozmik 2008; Hill *et al.* 2010). Die Einteilung erfolgt dabei in vier oder fünf Unterfamilien *Pax2/5/8* (inklusive oder exklusive den *Poxn*-ähnlichen Genen), *PaxD/3/7*, *Pax1/9* und *Pax6*. *Pax6* spielt bei vielen, aber nicht allen Organismen eine wichtige Rolle in der Augenentwicklung (Glardon *et al.* 1998; Gehring & Ikeo 1999; Pineda *et al.* 2002; Gehring & Seimiya 2010). Bei *P. dumerilii* ist es in den Larvalaugen exprimiert, aber nicht in den Adultaugen. Neben dem direkten Vergleich mit *P. dumerilii* stellen die Untersuchung der Expression von *Pax6* bei *C. teleta* auch eine Möglichkeit dar, die generelle Rolle von *Pax6* bei der Augenentwicklung weiter zu untersuchen.

Für *C. teleta* konnte ein 1250 bp langes, putatives *Pax6*-Fragment (*Cte-pax6*) gewonnen werden, welches in ein 416 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-pax6* mit dem *Pax6* anderer Organismen, insbesondere in der Paired- und Homeodomäne (8.7). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weicht die Klonsequenz in einer Wobbleposition ab. Außerdem weist das Modell verteilt auf drei Abschnitte zusätzliche 160 bp auf. Davon kodieren 15 bp fünf stark konservierte AS, 60 bp für 20 weniger stark konservierte AS und die restlichen bp für einen Bereich, für den sich in anderen Taxa nur vereinzelte oder keine Übereinstimmungen finden. Inwiefern es sich hierbei um ein Fehler im Modell oder bei der Sequenzierung handelt kann nicht abschliessend beurteilt werden.

In dem frühen Stadium von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-pax6* beschränkt auf zwei sehr deutlich umrissene, jeweils lateral und sehr nah der Epidermis gelegene Domänen anterior des Prototrochs, auf der Ventralseite der Larve (Abb. 24. A, B, D, J). Bereits in diesem Stadium lassen sich durch die *Cte-r-ops*-Expression die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen lokalisieren (Abb. 24 C, E). Die durchgeführte Kolokalisationsanalyse von *Cte-r-ops* und *Cte-pax6* ergibt keine Koexpression der Gene in den Photorezeptorzellen von Larval- und Adultaugen (Abb. 24 H). Vielmehr grenzen die beiden *Cte-r-ops*-positiven Zellen die weiter ventral liegende *Cte-pax6*-positive Zelle anterio-median und posterio-lateral ein (Abb. 24 F-H). Um zu überprüfen, ob sich bei letzterer eventuell um die Pigmentzelle handelt, wurde zusätzlich eine weitere zweifarbige WMISH mit dem Pigmentzellmarker *Cte-tdo2* und *Cte-pax6* durchgeführt. Dabei wird ersichtlich, dass die *Cte-tdo2* positive Pigmentzelle direkt median der *Cte-pax6*-positiven Zelle liegt und beide Gene nicht in einer Zelle koexprimiert werden (Abb. 24 I-N). *Cte-pax6* ist in diesem frühen Stadium also weder in einer Photorezeptorzelle noch in der Pigmentzelle exprimiert.



Im Stadium 9 von *C. teleta* finden sich weiterhin zwei deutlich umrissene Expressionsdomänen anterior des Prototrochs, weit lateral und nahe der Epidermis gelegen. In ihrem direkten Umfeld

treten zusätzlich einzelne *Cte-pax6*-positive Zellen auf und weitere, deutlich schwächer gefärbt im ventralen Nervensystem (Abb. 25 A, B, D). *Cte-r-ops*-Transkripte markieren zu diesem Zeitpunkt die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultauken (Abb. 25 C, E). In der Kolokalisationsanalyse ist wie bereits im vorangegangenen Stadium keine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-pax6* in den Photorezeptorzellen nachweisbar (Abb. 25 H). Vielmehr grenzen auch hier die *Cte-r-ops*-positiven Zellen die *Cte-pax6*-positive Zelle antero-medial und postero-lateral ein (Abb. 25 F, G, auch H).

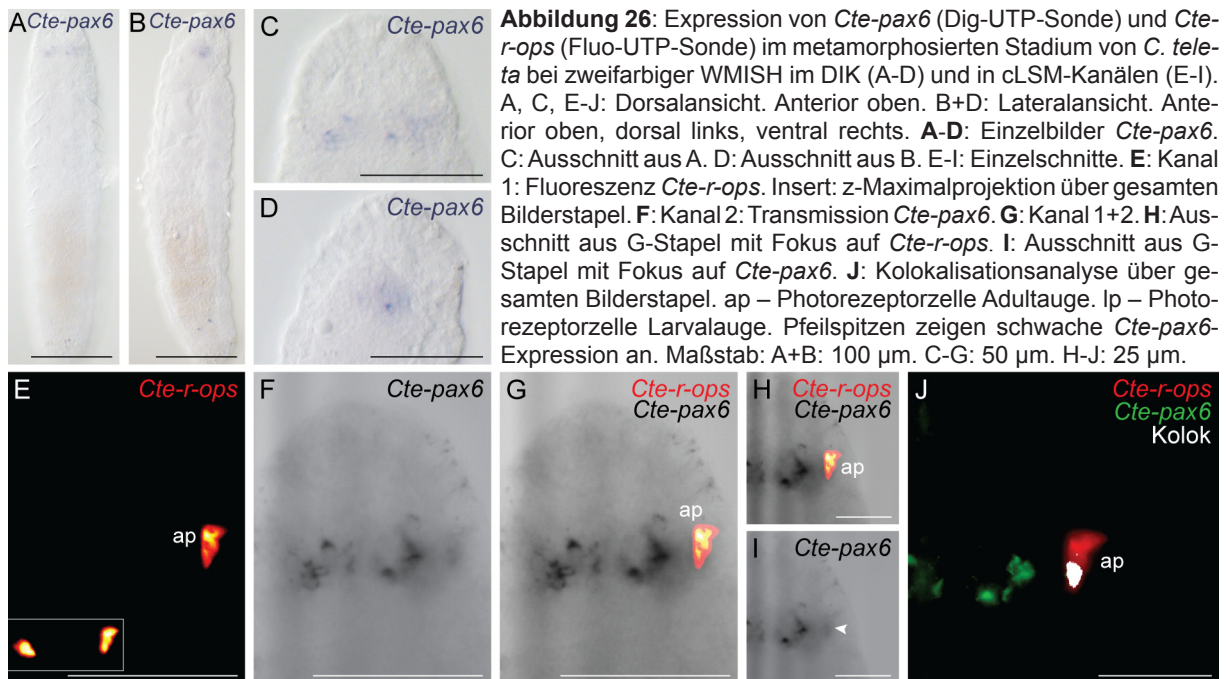


Abbildung 26: Expression von *Cte-pax6* (Dig-UTP-Sonde) und *Cte-r-ops* (Fluo-UTP-Sonde) im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* bei zweifarbiger WMISH im DIK (A-D) und in cLSM-Kanälen (E-I). A, C, E-J: Dorsalansicht. Anterior oben. B+D: Lateralansicht. Anterior oben, dorsal links, ventral rechts. **A-D:** Einzelbilder *Cte-pax6*. C: Ausschnitt aus A. D: Ausschnitt aus B. E-I: Einzelschnitte. **E:** Kanal 1: Fluoreszenz *Cte-r-ops*. Insert: z-Maximalprojektion über gesamten Bilderstapel. **F:** Kanal 2: Transmission *Cte-pax6*. **G:** Kanal 1+2. **H:** Ausschnitt aus G-Stapel mit Fokus auf *Cte-r-ops*. **I:** Ausschnitt aus G-Stapel mit Fokus auf *Cte-pax6*. **J:** Kolokalisationsanalyse über gesamten Bilderstapel. ap – Photorezeptorzelle Adultauhe. Ip – Photorezeptorzelle Larvalauge. Pfeilspitzen zeigen schwache *Cte-pax6*-Expression an. Maßstab: A+B: 100 µm. C-G: 50 µm. H-J: 25 µm.

Im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* ist die Intensität der Expression von *Cte-pax6* im Vergleich zu früheren Stadien zurückgegangen und die Expression nun wieder nur auf den anterioren Teil des Tieres beschränkt. Neben der Expression in zwei größeren Domänen finden sich *Cte-pax6*-Transkripte auch in weniger stark umrissenen Zellen lateral davon (Abb. 26 A-D, F). Durch *Cte-r-ops* werden die beiden Photorezeptorzellen der Adultauken markiert (Abb. 26 E, G) und in der Kolokalisationsanalyse zeigt sich im Gegensatz zu früheren Stadien eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-pax6* in der Photorezeptorzelle des Adultauken (Abb. 26 J, auch H, I).

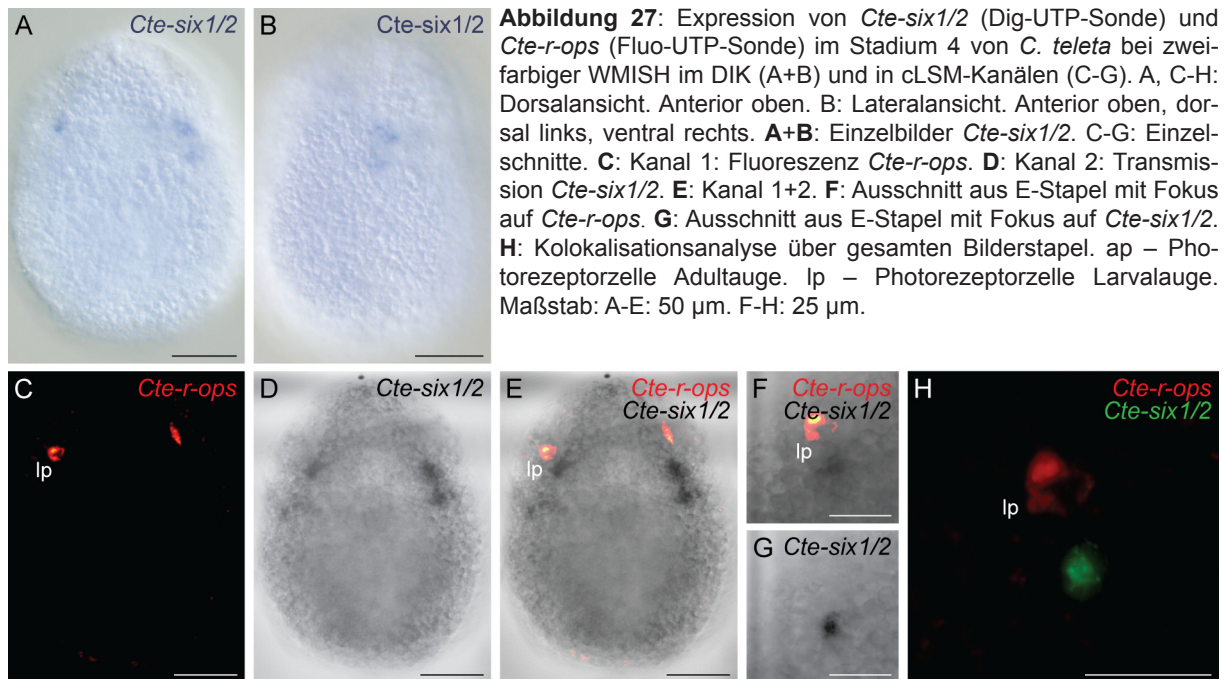
Cte-pax6 wird in den untersuchten Entwicklungsstadien also immer in unmittelbarer Nähe der Photorezeptorzellen von Larval- und Adultauken und der Pigmentzelle exprimiert, jedoch bis auf einen späten Zeitpunkt nie direkt in den Photorezeptorzellen. Nur im metamorphosierten Stadium findet sich eine Expression von *Cte-pax6* in der Photorezeptorzelle des Adultauken.

3.5.2 Six

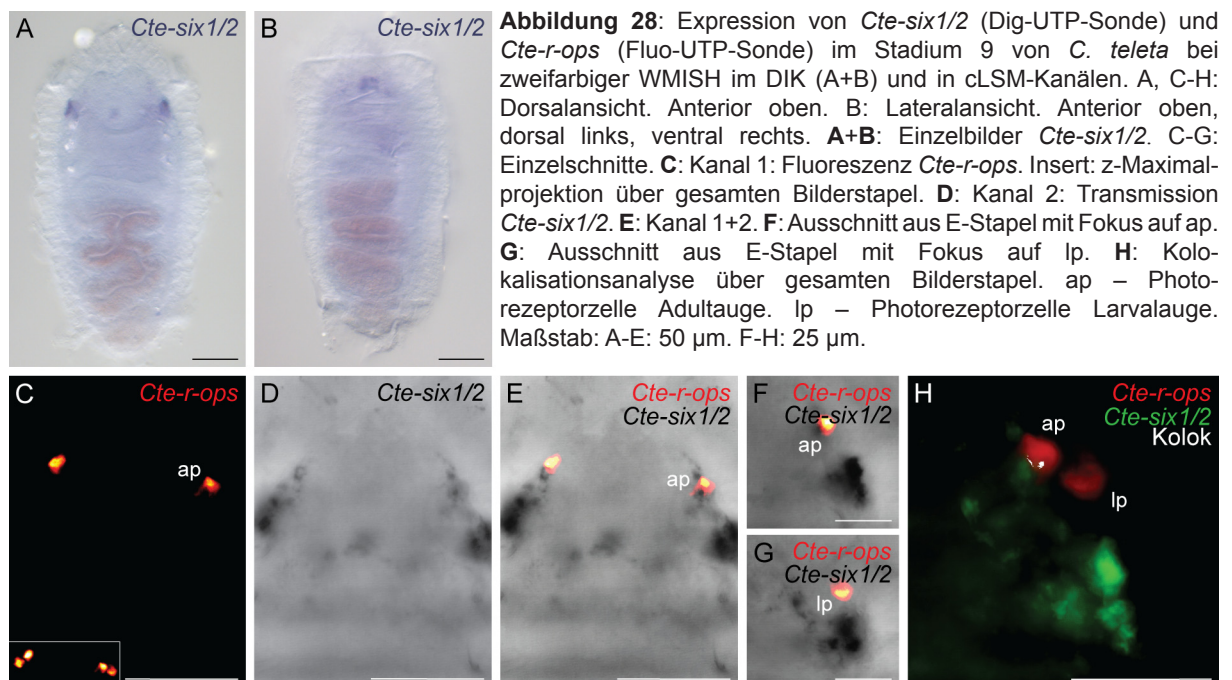
Eine weitere Familie von Homeodomain-Proteinen wird in Anlehnung an das *Drosophila*-Gen *sine oculis* als *Six*-Familie (*sine oculis* box) bezeichnet und ist durch das Vorhandensein einer konservierten *Six*-Domäne und einer konservierten *Six*-typischen Homeodomäne gekennzeichnet. Ihre Mitglieder können den drei Unterfamilien *Six1/Six2*, *Six3/Six6* und *Six4/Six5* zugeordnet werden, wobei sich die Gesamtzahl von sechs Mitgliedern bei den Vertebraten aus Duplikationen von *sine oculis*, *optix* und *DSix4* ergibt (Kawakami *et al.* 2000; Kumar 2009; Hill *et al.* 2010). Bioinformatische Untersuchungen des Genoms von *Helobdella robusta* lassen eine Expansion der Unterfamilie *Six1/2* auf sechs Gene für die Clitellata, jedoch nicht für die Annelida allgemein annehmen (Quigley *et al.* 2010). Als wichtiger Bestandteil des regulatorischen Netzwerkes *Pax-Six-Eyes absent-Dachshund* übernehmen diese Transkriptionsfaktoren Funktionen bei der Zellteilung, der Organogenese, der Differenzierung neuronaler Anlagen und der Entwicklung des visuellen Systems ohne aber ektopische Augen induzieren zu können (Cheyette *et al.* 1994; Arendt 2003; Fernald 2006; Schlosser *et al.* 2008). Für *P. dumerilii* ist bekannt, dass *Six1/2* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen, aber nicht in den Larvalaugen exprimiert wird (Guy 2008; Arendt *et al.* 2009).

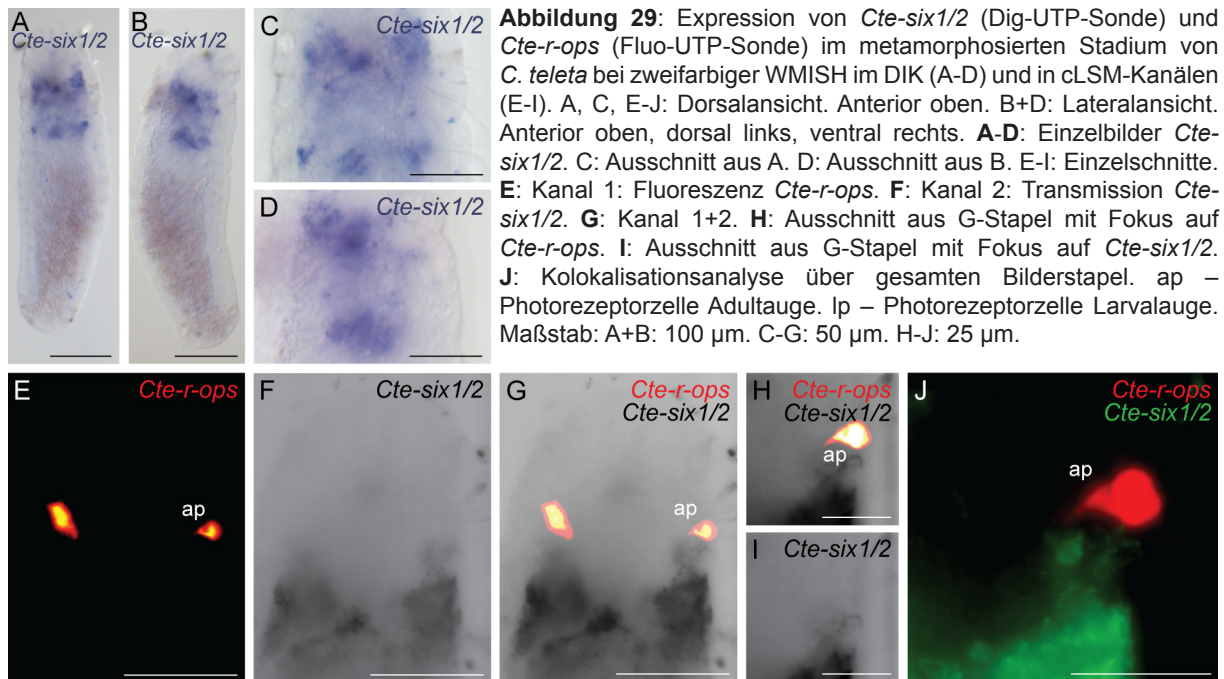
Bei *C. teleta* konnte ein 975 bp langes, putatives *Six1/2*-Fragment (*Cte-six1/2*) gewonnen werden, welches in ein 325 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-six1/2* mit *Six1* und *Six2* anderer Organismen, insbesondere im Bereich der Homeodomäne und *Cte-six1/2* weist das für die Unterfamilie typische Tetrapeptid ETSY auf (8.8). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weicht die Klonsequenz an fünf Wobblepositionen sowie in einer AS ab. Zusätzlich weist das Modell einen Abschnitt mit 53 bp auf, der nicht in der Sequenz des Klones enthalten ist. Ob es sich bei diesen Abweichungen um Fehler im Modell oder um Sequenzierfehler handelt, kann nicht abschließend beurteilt werden, zumal Teile des fragwürdigen Abschnittes in anderen Modellen gar nicht enthalten sind oder Wiederholungen anderer Sequenzbereiche darstellen.

In dem frühen Stadium von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-six1/2* auf wenige Domänen im anterioren Teil der Larve beschränkt. Diese liegen jeweils weit lateral und in der Horizontalebene (Abb. 27, A, B, D). Transkripte von *Cte-r-ops* zeigen die Lage der Photorezeptorzellen der Larvalaugen an (Abb. 27 C, E), in welchen mit der Kolokalisationsanalyse allerdings keine Koexpression von *Cte-six1/2* und *Cte-r-ops* festgestellt werden kann (Abb. 27 H, auch F, G).



Im sich anschließenden Stadium 9 von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-six1/2* immer noch beschränkt auf den anterioren Bereich der Larve. Zwei größere Expressionsdomänen, jeweils etwa drei Zellen umfassend, liegen lateral nahe der Epidermis und antero-medial davon noch einzelne Zellen mit *Cte-six1/2*-Expression (Abb. 28 A, B, D). *Cte-r-ops*-Expression findet sich in den Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen (Abb. 28 C, E). Die Kolokalisationsanalyse ergibt eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-six1/2* in der Photorezeptorzelle des Adultauges und erneut keine in den entsprechenden Zellen des Larvalauges (Abb. 28 H, auch F, G).





Im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* findet sich die Expression von *Cte-six1/2*, bis auf einzelne Zellen im Pygidium wie auch in den vorangegangenen Stadien hauptsächlich anterior. Klar umrissene Expression in symmetrisch verteilten Zellen und diffuse Domänen erstrecken sich dabei von der Epidermis auf der Dorsalseite bis kurz oberhalb des ventralen Nervensystems und nehmen das vordere Drittel des Tieres ein (Abb. 29 A-D, F). Die Photorezeptorzellen der Adultaugen werden mit *Cte-r-ops* markiert (Abb. 29 E, G), weisen aber in der Analyse keine Koexpression mehr mit *Cte-six1/2* auf (Abb. 29 J, auch H, I).

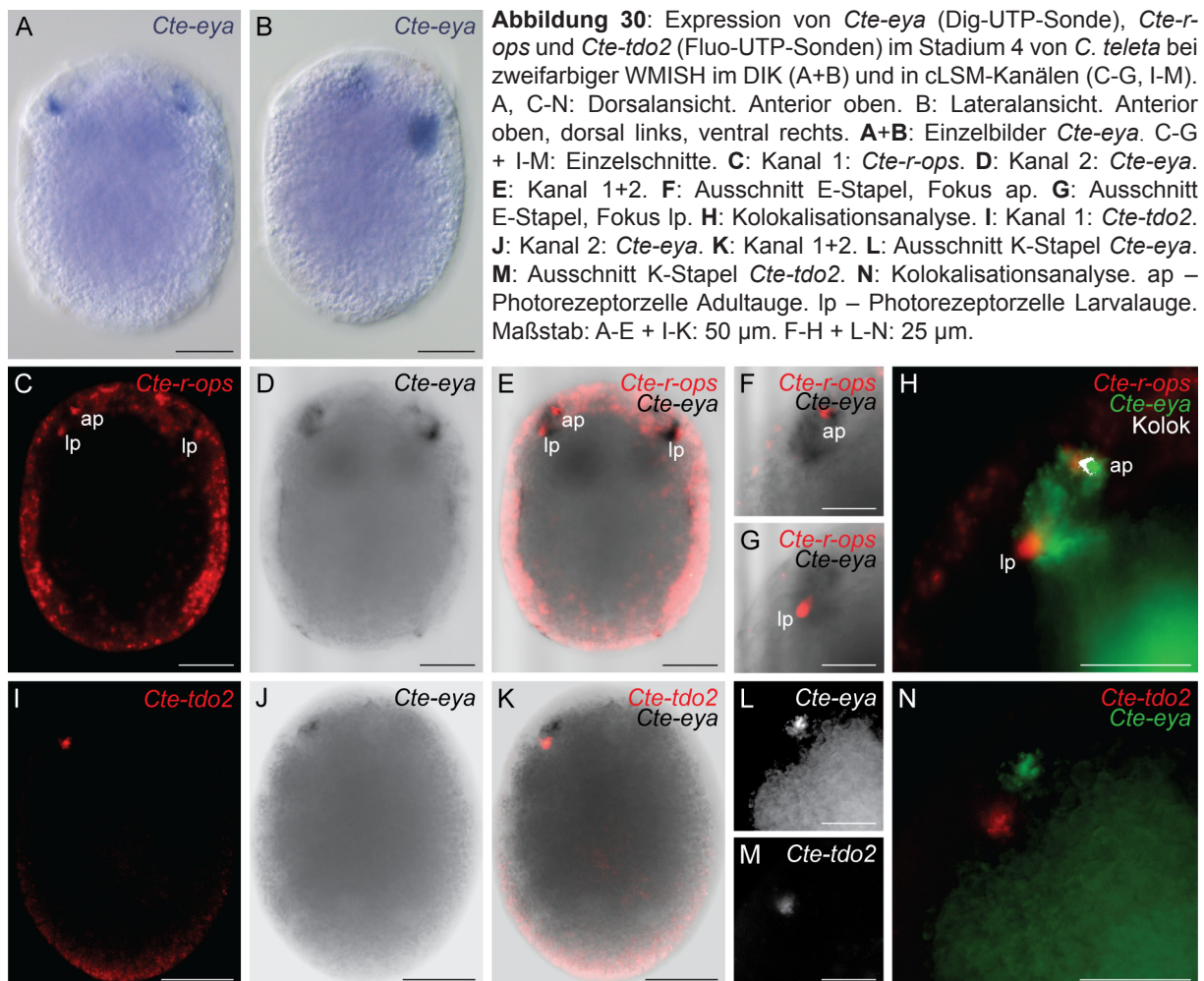
Cte-six1/2 wird bei *C. teleta* nur in den Photorezeptorzellen der Adultaugen exprimiert, allerdings nicht kontinuierlich sondern nur früh in deren Entwicklung.

3.5.3 Eyes absent

Eyes absent ist ebenfalls Teil des *Pax-Six-Eyes absent-Dachshund*-Netzwerkes und als Protein Tyrosin Phosphatase für die Augenentwicklung verschiedenster Organismen wie *Drosophila*, *Cladonema* oder *Amphioxus* notwendig, wobei es sowohl als Transkriptionsfaktor als auch als Enzym fungieren kann (Jemc & Rebay 2007; Kumar 2009; Vopalensky & Kozmik 2009). Bei den Mammalia finden sich vier Paraloge (*Eya1-Eya4*), wohingegen in *Drosophila* nur ein Gen vorliegt. Proteine der Eya-Familie sind durch zwei Domänen charakterisiert. C-terminal liegt die stark konservierte Eya-Domäne, welche für die Interaktion mit anderen Proteinen von Bedeutung ist und N-terminal die weniger stark konservierte Eya-Domäne 2, deren genauer

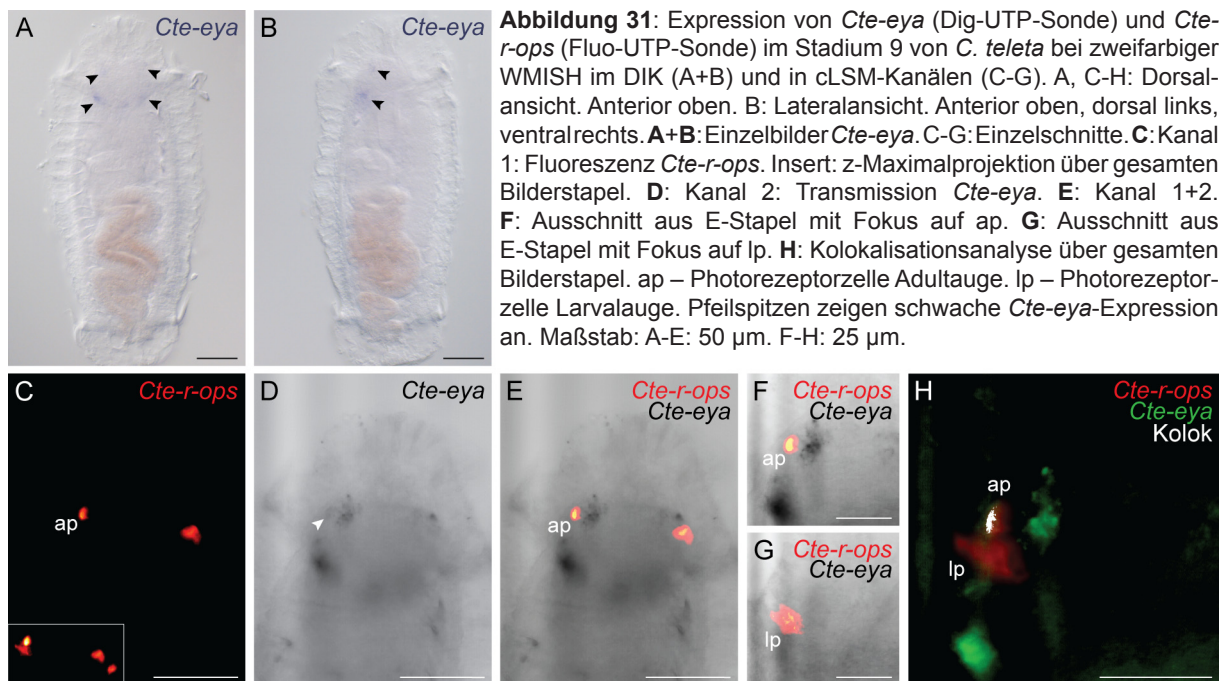
Beitrag für die Funktion von *Eyes absent* teilweise noch unklar ist (Silver *et al.* 2003; Jemc & Rebay 2007). Für *P. dumerilii* ist eine Expression von *Eyes absent* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen bekannt (Arendt *et al.* 2009).

Für *C. teleta* konnte ein 1131 bp langes, putatives *Eyes absent*-Fragment (*Cte-eya*) gewonnen werden, welches in ein 376 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-eya* mit dem *Eyes absent* anderer Organismen, insbesondere im Bereich der stark konservierten Eya-Domäne (8.9). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI sind keine Abweichungen festzustellen. Wie bei *Drosophila* gibt es auf Basis der annotierten Daten des JGI keinen Hinweis auf die Existenz von Paralogen.

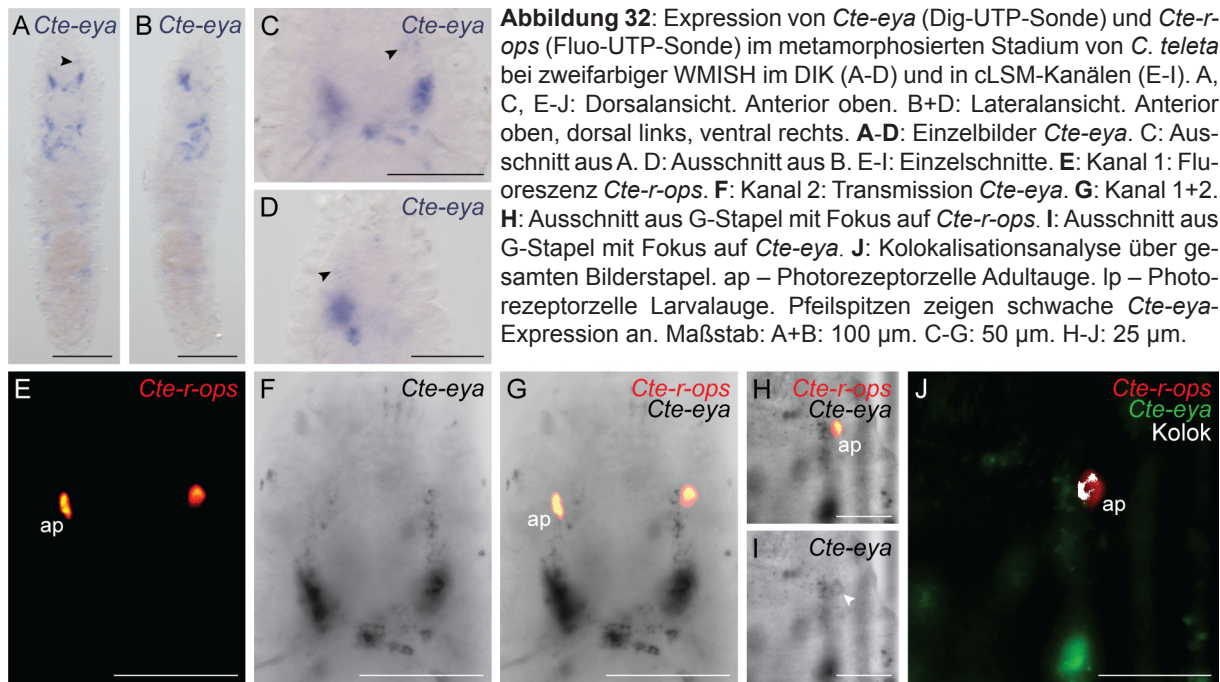


In dem frühen Stadium von *C. teleta* wird *Cte-eya* in vier Domänen im anterioren Drittel der Larve exprimiert. Zwei davon liegen anterior des Prototrochs im Bereich der Gehirnanlagen, nahe der Epidermis. Zwei weitere Areale mit *Cte-eya*-Expression befinden sich unmittelbar hinter dem Prototroch auf der Ventralseite der Larve, beiderseits des sich entwickelnden

Stomodaeums (Abb. 30 A, B, D). Mit *Cte-r-ops* werden in diesem frühen Stadium sowohl beide Photorezeptorzellen der Larvalaugen als auch eine Photorezeptorzelle des Adultauges markiert (Abb. 30 C, E). Die Kolokalisationsanalyse ergibt eine regelrechte Eingrenzung der Expression von *Cte-eya* durch die *Cte-r-ops*-Expression. In der Photorezeptorzelle der Larvalaugen kann keine Koexpression der beiden Gene nachgewiesen werden, wohl aber in der Photorezeptorzelle der Adultaugen (Abb. 30 H, auch F, G). Eine zusätzlich durchgeführte zweifarbige WMISH mit *Cte-tdo2* als Marker für die Pigmentzelle und *Cte-eya* dient der Überprüfung, ob *Cte-eya* eventuell in der Pigmentzelle des Larvalauges exprimiert wird. Dies kann allerdings durch die fehlende Koexpression in der Kolokalisationsanalyse ausgeschlossen werden, denn *Cte-eya* wird noch weiter anterior exprimiert als *Cte-tdo2* (Abb. 30 I-N).



Im Stadium 9 von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-eya* im Vergleich zum früheren Stadium deutlich reduzierter. Es gibt keinerlei Expression im stomodaealen Bereich mehr, nur anterior und posterior des Prototrochs finden sich jeweils zwei distinkte, aber schwache Domänen auf der Dorsalseite der Larve (Abb. 31 A, B, D). *Cte-r-ops* markiert die zwei Paar Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen (Abb. 31 C, E). In der Kolokalisationsanalyse ergibt sich – wie bereits im vorangegangenen Stadium – keine Koexpression in der Photorezeptorzelle des Larvalauges, erneut aber in der des Adultauges (Abb. 31 H, auch F, G).



Im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* ist die anteriore Expression von *Cte-eya* wieder großflächiger geworden. Im Prostomium liegen jeweils lateral zwei symmetrisch verteilte, längliche Expressionsdomänen, die in ihrem Verlauf an die beiden Loben des Gehirns erinnern. Mit einer hohen Vergrößerung wird erkennbar, dass sich anterior davon noch eine weitere, sehr feine Expressionsdomäne befindet. Auf der Ventralseite können nun zusätzlich auch noch Transkripte im beiderseits des Darms ausgemacht werden (Abb. 32 A-D, F). *Cte-r-ops*-Transkripte markieren beide Photorezeptorzellen der Adultaugen (Abb. 32 E, G) und wie in den beiden jüngeren Stadien ergibt die Kolokalisationsanalyse eine Koexpression von *Cte-eya* und *Cte-r-ops* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen (Abb. 32 J, auch H, I).

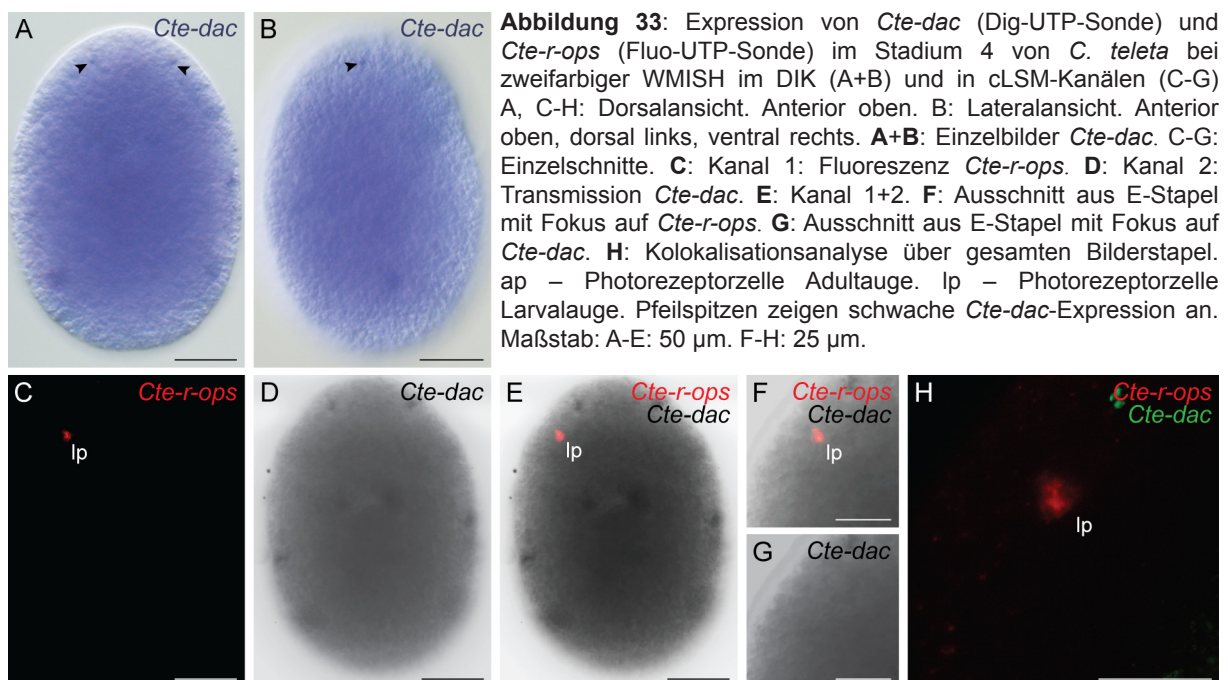
Cte-eya wird also in allen untersuchten Stadien immer in der Photorezeptorzelle der Adultaugen exprimiert, jedoch nie in der Photorezeptorzelle der Larvalaugen.

3.5.4 Dachshund

Dachshund gehört auch zu den Genen des *Pax-Six-Eyes absent-Dachshund*-Netzwerkes, dessen Mitglieder die Entwicklung einer Vielzahl von Geweben beeinflussen (Pappu & Mardon 2004; Silver & Rebay 2005; Firth & Baker 2009). Die Proteinsequenzen von *Dachshund* sind zwischen Insekten und Vertebraten hoch konserviert, insbesondere die Domänen DD1 und DD2 (Davis *et al.* 1999; Kumar 2009). Ein wichtiger Aspekt der *Dachshund*-Homologe der Bilateria ist ihre Expression und Funktion während der Entwicklung von Photorezeptoren, was

z. B. durch die Fähigkeit ektopische Augen zu induzieren ebenso verdeutlicht wird wie durch das Fehlen von Augen bei Nullmutanten in *Drosophila* (Mardon *et al.* 1994; Chen *et al.* 1997; Pappu *et al.* 2005; Fernald 2004). Bei *P. dumerilii* wird *Dachshund* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen, jedoch nicht in denen der Larvalaugen exprimiert (Arendt *et al.* 2009).

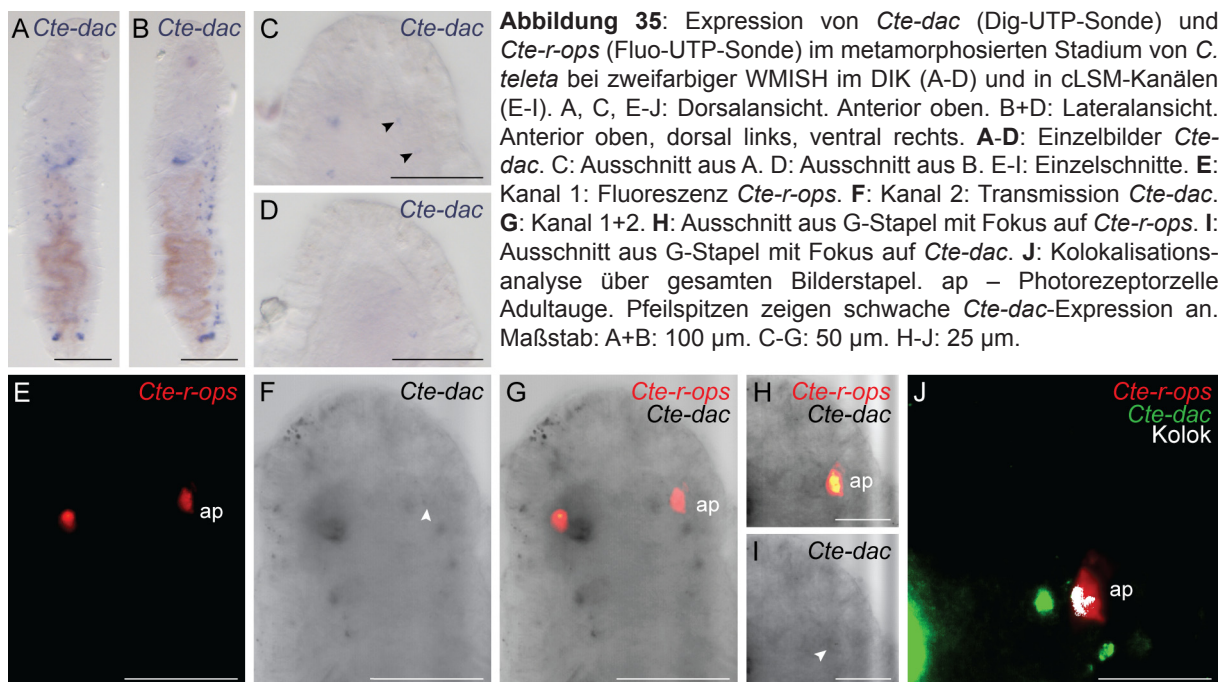
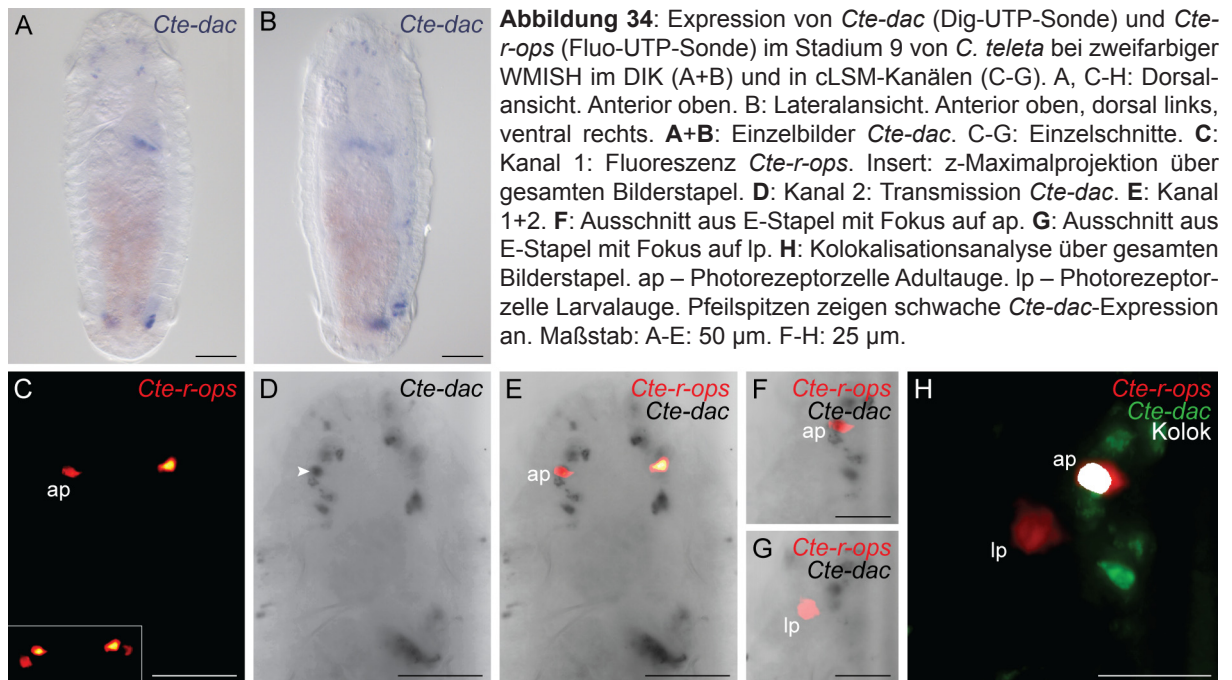
Bei *C. teleta* konnte ein 1632 bp langes, putatives *Dachshund*-Fragment (*Cte-dac*) gewonnen werden, welches in ein 544 AS langes Protein translatiert werden kann. Dieses Fragment ist das Produkt aus verschiedenen PCR-Ansätzen, da konservierte Bereiche in unterschiedlichen Modellen des JGI geführt wurden. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-dac* mit dem *Dachshund* anderer Organismen, insbesondere im Bereich der konservierten Domänen DD1 und DD2 (8.10).



In dem frühen Stadium von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-dac* auf wenige, distinkte Domänen beschränkt. Zwei sehr feine Domänen liegen in der Horizontalebene sehr weit anterior und lateral, nahe der Epidermis. Weitere finden sich in unsymmetrischer Verteilung in der posterioren Körperhälfte der Larve, jeweils sehr nah der Epidermis gelegen (Abb. 33 A, B, D). Die Expression von *Cte-r-ops* markiert hier nur die Photorezeptorzelle eines Larvalauges (Abb. 33 C, E) und aus der Kolokalisationsanalyse ergibt sich keine Koexpression von *Cte-dac* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Larvalauges (Abb. 33 H, auch F, G).

Im Stadium 9 tauchen weitere *Cte-dac*-Expressionsdomänen auf. Anterior des Prototrochs befinden sich nun laterale, klar umrissene aber unsymmetrisch verteilte Domänen im Bereich

des sich entwickelnden Gehirns. Im sich entwickelnden ventralen Nervensystem zeigen einzelne Zellen eine *Cte-dac*-Expression, ebenso beiderseits des Darms gelegene Zellen auf der Höhe des Telotrochs. Vereinzelt Transkripte können zudem im Stomodaeum ausgemacht werden (Abb. 34 A, B, D). Mit *Cte-r-ops* werden hier sowohl die Photorezeptorzellen der Larval- als auch der Adultaugen markiert (Abb. 34 C, E). Das Resultat der Kolokalisationsanalyse ist, dass es auch in diesem Stadium keine Koexpression von *Cte-dac* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle der Larvalaugen, wohl aber in denen der Adultaugen gibt (Abb. 34 H, auch F, G).



Die Expression von *Cte-dac* im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* ähnelt der im Stadium 9. Im Gegensatz zu dem vorangegangenen Stadium wird *Cte-dac* im Prostomium aber nur noch sehr schwach in vier Zellen exprimiert. Im ventralen Nervensystem ist die Expression dafür stärker geworden, ebenso in den pygidialen Zellen beiderseits des Darms (Abb. 35 A-D,F, I). Mit der *Cte-r-ops*-Expression werden die beiden Photorezeptorzellen der Adultaugen markiert (Abb. 35 E, G). Durch die Kollokalisationsanalyse wird eine Koexpression von *Cte-dac* und *Cte-r-ops* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen wie auch bereits in früheren Stadien nachgewiesen (Abb. 35 H, auch I).

Cte-dac wird in allen untersuchten Stadien in der Photorezeptorzelle der Adultaugen exprimiert, jedoch nie in der Photorezeptorzelle der Larvalaugen.

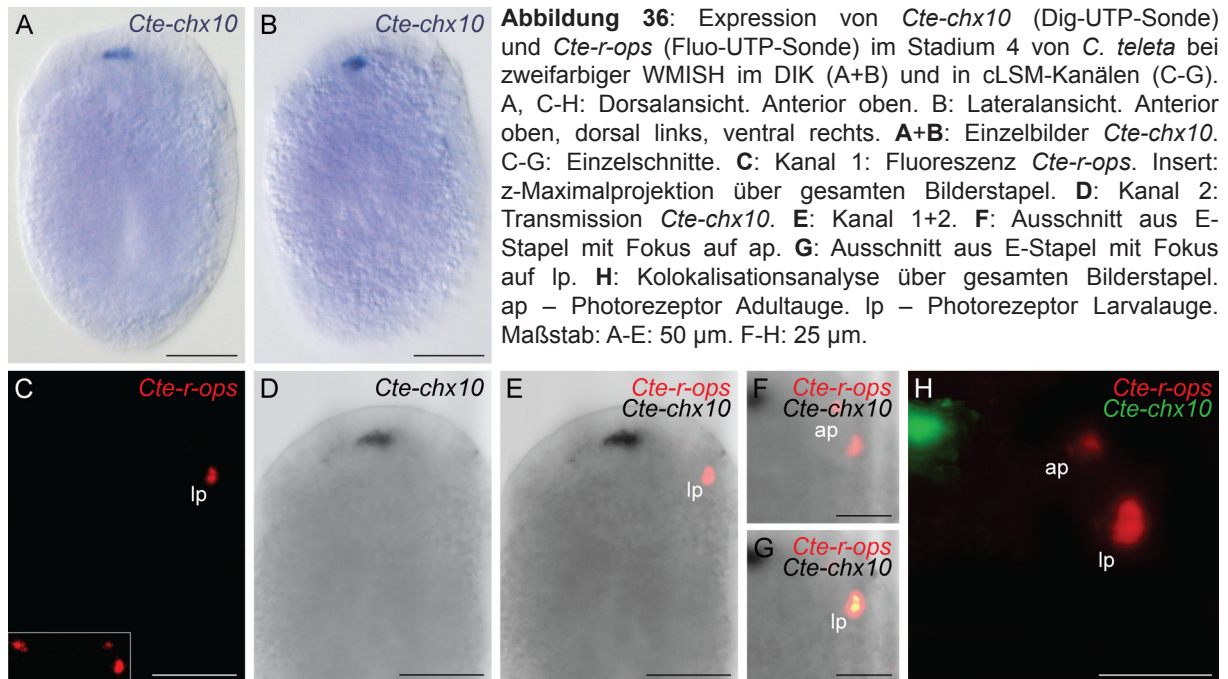
3.6 Expression weiterer Kandidatengene

3.6.1 Chx10

Chx10 gehört zu der evolutiv alten Klasse der Prd-Gene, die sich durch eine Homeodomäne mit sechs diagnostischen Aminosäuren sowie einer ca. 60 AS umfassenden CVC-Domäne mit bislang unbekannter Funktion auszeichnen. Letztere trägt ihren Namen aufgrund der vier Gene *ceh-10*, *vsx1*, *vsx2* und *Chx10*, bei denen sie zuerst identifiziert wurde (Schneitz *et al.* 1993; Galliot *et al.* 1999; Chen & Cepko 2000; Clark *et al.* 2008). *Chx10* spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Augen der Mammalia und wird z. B. in den bipolaren Zellen der Retina der Vertebraten exprimiert und ist für deren Bildung wichtig und wird mit dem als Master-Regulator der Augenentwicklung bezeichneten Gen *Pax6* während der Entwicklung koexprimiert (Liang & Sandell 2008; Nilsson & Arendt 2008). Da weiterhin bekannt ist, dass die Photorezeptorzellen und Pigmentzellen der Larvalaugen bei *P. dumerilii* *Chx10* exprimieren, jedoch nicht die entsprechenden Zellen der Adultaugen (Arendt *et al.* 2009), ist es nur konsequent, diese Verhältnisse auch bei *C. teleta* zu untersuchen.

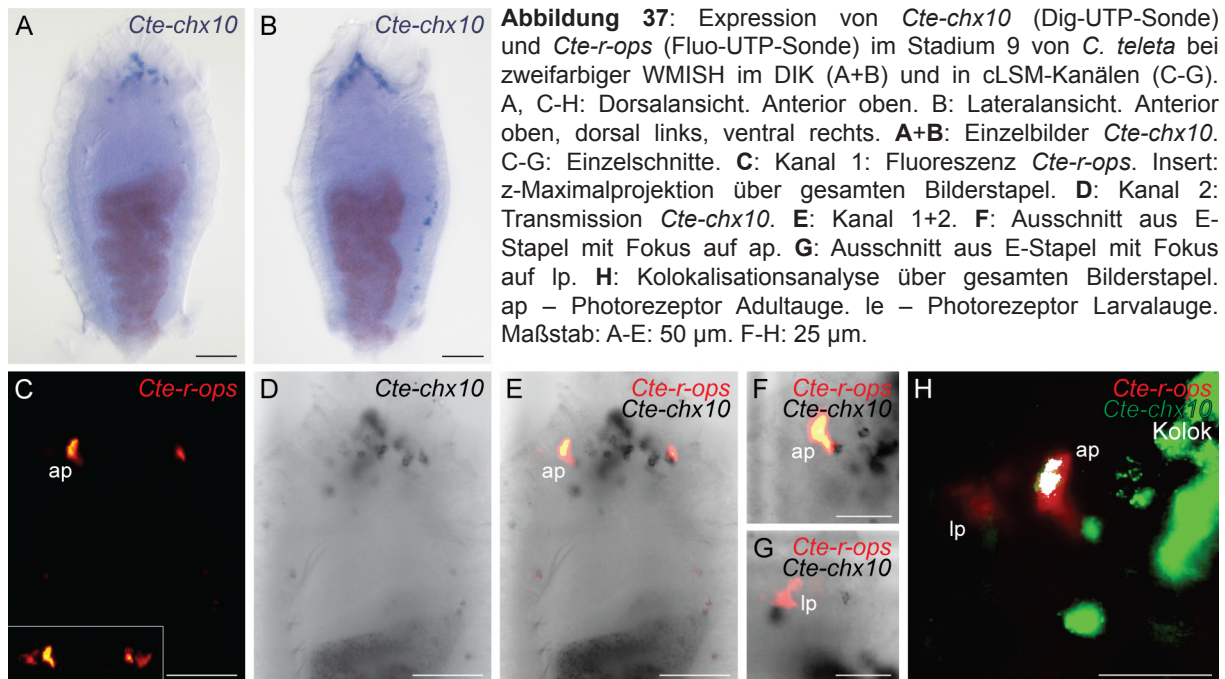
Bei *C. teleta* konnte ein 732 bp langes, putatives *Chx10*-Fragment (*Cte-chx10*) gewonnen werden, welches in ein 243 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-chx10* mit dem *Chx10* anderer Organismen, insbesondere im Bereich der Homeodomäne (8.11). Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weist die Sequenz des Klones Abweichungen

an zwei Wobblepositionen sowie in acht AS auf. Zusätzlich befindet sich in der Sequenz des Modells des JGI ein 32 AS langer Abschnitt, der so nicht in der Sequenz meines Klonen vorhanden ist. Hierbei ist allerdings ein fehlerhaft zusammengesetztes Modell denkbar, da Teile dieses Abschnittes exakt mit vorangegangenen Sequenzbereichen übereinstimmen, andere Teile exakt mit nachfolgenden Sequenzbereichen.

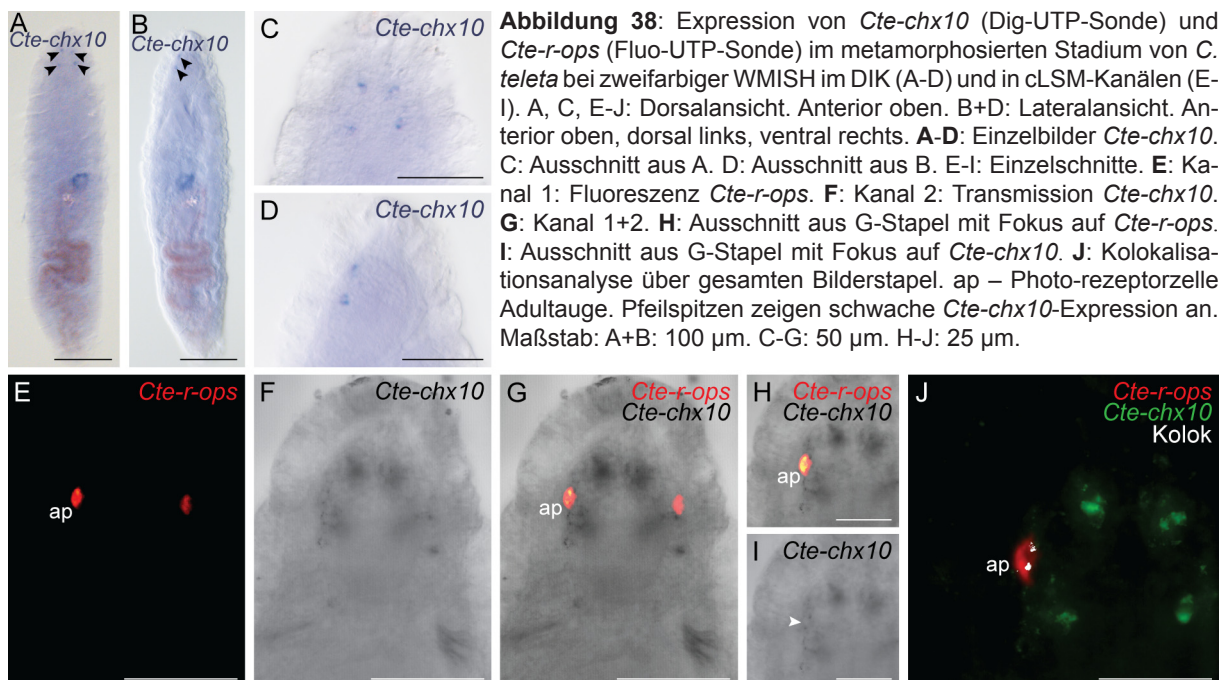


Im frühen Stadium von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-chx10* deutlich umrissen und auf sehr wenige apikale Zellen beschränkt (Abb. 36 A, B, D). Die *Cte-r-ops*-Expression markiert die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen (Abb. 36 C, E, auch F, G). Durch die Kolokalisationsanalyse kann keine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-chx10* in den Photorezeptorzellen festgestellt werden (Abb. 36 H).

Im Stadium 9 exprimieren anterior des Prototrochs deutlich mehr Zellen *Cte-chx10*. Transkripte finden sich erneut in apikalen Zellen und in Zellen, die sich von diesem Punkt ausgehend auf die Dorsal- und Ventralseite der Larve erstrecken sowie in Zellen im ventralen Nervensystem (Abb. 37 A, B, D). *Cte-r-ops* markiert in diesem Stadium die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen (Abb. 37 C, auch E-G). Die Kolokalisationsanalyse ergibt eine Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-chx10* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen, jedoch nicht in denen des Larvalauges (Abb. 37 H).



Im metamorphosierte Stadium von *C. teleta* findet sich im Gegensatz zu jüngeren Stadien keine Expression mehr von *Cte-chx10* im ventralen Nervensystem und anterior ist sie beschränkt auf vier, symmetrisch verteilte Zellen auf der Dorsalseite des Tieres. Zusätzlich finden sich Transkripte in einem Teil des Oesophagus (Abb. 38 A-D, F, I). *Cte-r-ops* markiert die Photorezeptorzellen der Adultaugen (Abb. 38 E, G). Das Resultat der Kolokalisationsanalyse von *Cte-chx10* und *Cte-r-ops* ist eine Koexpression beider Gene in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 38 J, auch H).



Cte-chx10 wird in den untersuchten Stadien nie in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen exprimiert, dafür aber in den entsprechenden Zellen der Adultaugen im Stadium 9 und im metamorphosierte Stadium.

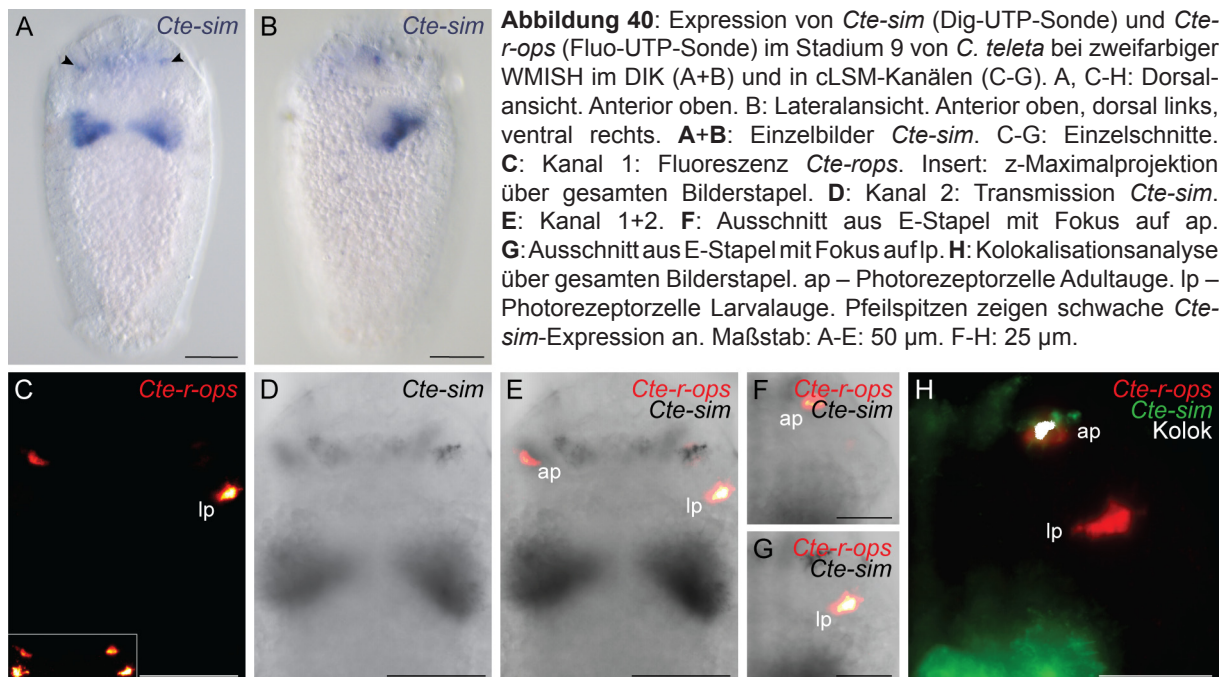
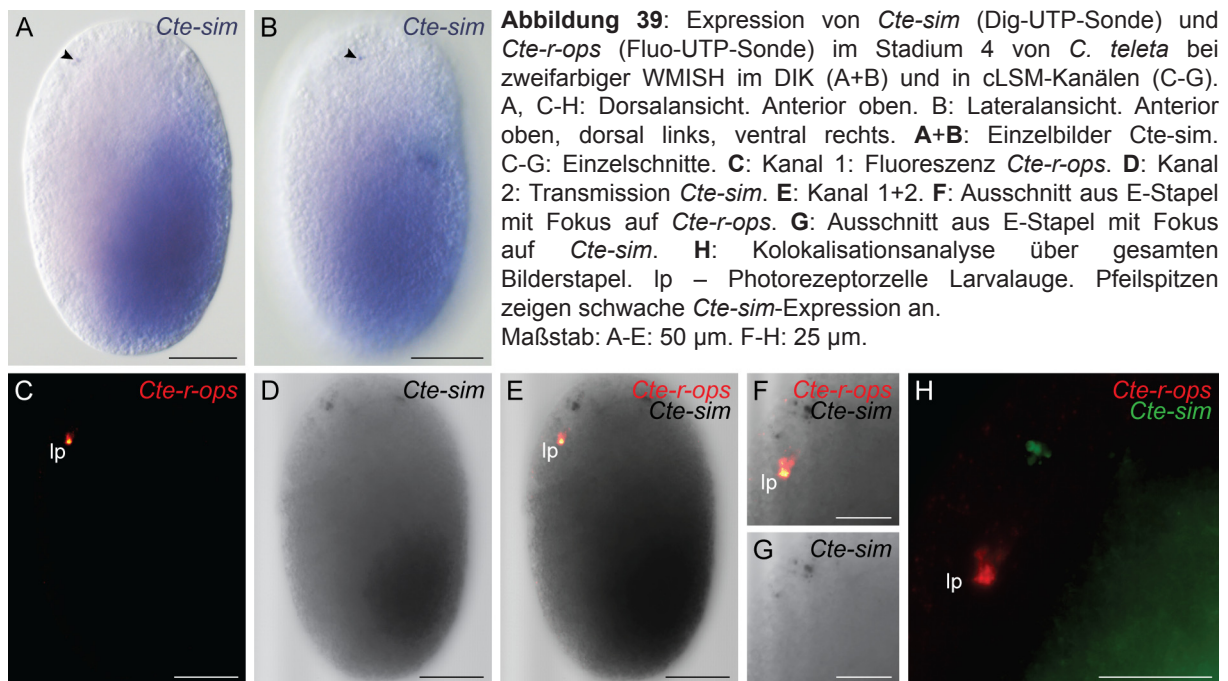
3.6.2 Single-minded

Bei *Single-minded* handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor, der zur Familie der bHLH-PAS-Proteine (basic-helix-loop-helix/Per-ARNT-Sim) gehört. Diese kontrolliert eine Vielzahl von entwicklungsbiologischen und physiologischen Vorgängen wie circadiane Rhythmik, Neurogenese oder Toxinmetabolismus und ist durch das Vorhandensein einer bHLH-Domäne und einer PAS-Domäne charakterisiert (Nambu *et al.* 1991; Crews 1998; Gu *et al.* 2000; Coumailleau *et al.* 2003). *Single-minded* spielt eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung der Zellen der Mittellinie und des zentralen Nervensystems bei *Drosophila* und ist auch bei der Entwicklung des zentralen Nervensystems in der Maus von Bedeutung (Crews & Fan 1999; Coumailleau & Duprez 2009). Auch wenn *Single-minded* vermutlich keine zentrale Rolle bei der Augenontogenese spielt, so ist es doch an der Entwicklung des optischen Systems in *Drosophila* beteiligt und wird, in sich entwickelnden Augenscheiben gefunden (Pielage *et al.* 2002; Umetsu *et al.* 2006) und kann bei ektopischer Expression mit dem Gen *fish* scheinbar synergistisch die Augenentwicklung beeinflussen (Ma *et al.* 2000). Zusätzlich wird es in den Augen von Adulten von *Danio rerio* (Wen *et al.* 2002) und in den Photorezeptor- und Pigmentzellen der Larvalaugen von *P. dumerilii*, jedoch nicht in den Zellen seiner Adultaugen exprimiert (Guy 2008; Arendt *et al.* 2009). Diese Beispiele machen *Single-minded* zu einem interessanten Kandidaten für Untersuchungen in *C. teleta*.

Bei *C. teleta* konnte ein 1131 bp langes, putatives *Single-minded*-Fragment (*Cte-sim*) gewonnen werden, welches in ein 377 AS langes Protein translatiert werden kann. Blast-Suchen in der Datenbank des NCBI und ein beispielhaftes Alignment zeigen hohe Sequenzübereinstimmungen von *Cte-sim* mit dem *Single-minded* anderer Organismen, insbesondere im Bereich der bHLH- und der PAS-Domäne (8.12). Im Vergleich mit dem Modell des JGI weist die Sequenz meines Klones Abweichungen an drei Wobblepositionen und einer AS auf. Da letztere aber durch weitere Klone bestätigt wird, wird hier auf einen geringfügigen Polymorphismus geschlossen.

Die Expression von *Cte-sim* im frühen Stadium von *C. teleta* ist anterior beschränkt auf zwei sehr feine und distinkte laterale Domänen. Zusätzlich dazu findet sich eine weitaus stärkere und

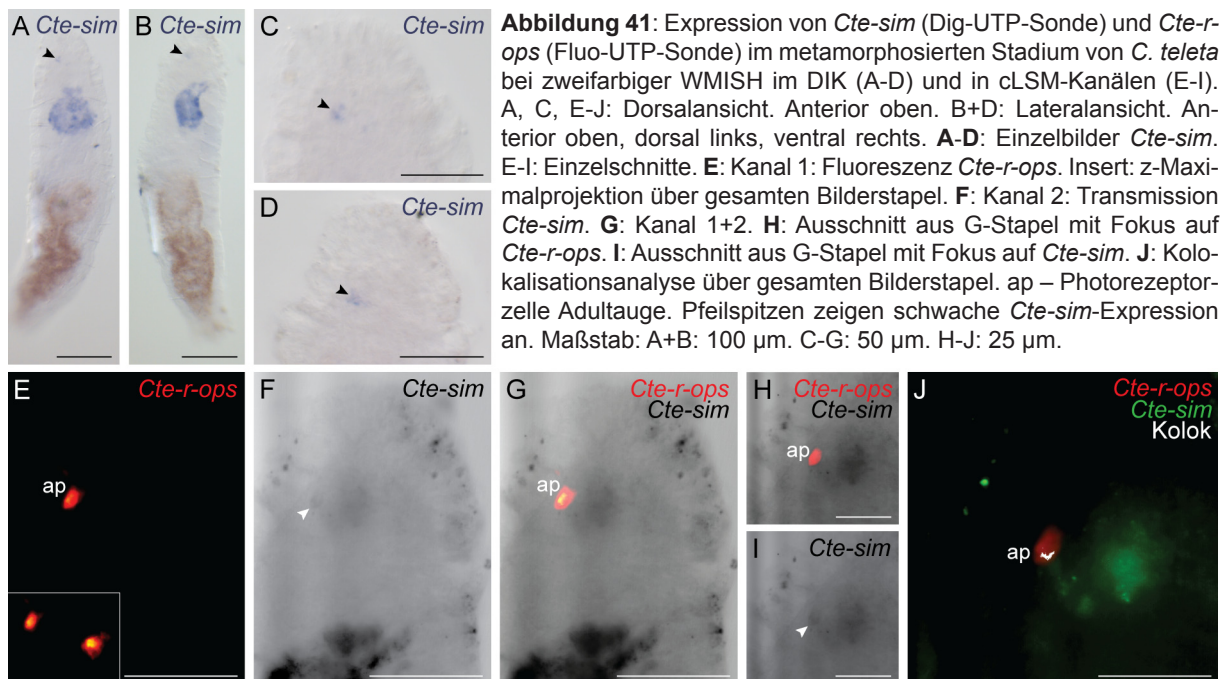
sehr weitläufige Expression, die ab der Hälfte der Larve einseitig den kompletten posterioren Bereich einnimmt. Diese Expressionsdomäne erstreckt sich dabei vom ventralen Nervensystem fast bis zur Dorsalseite der Larve (Abb. 39 A, B, D). In diesem frühen Stadium wird mit *Cte-r-ops* nur eine larvale Photorezeptorzelle markiert (Abb. 39 C, E). Die Kolokalisationsanalyse bestätigt, dass keine Koexpression von *Cte-sim* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Larvalauges vorliegt (Abb. 39 H, auch F, G).



Die beiden feinen anterioren Expressionsdomänen von *Cte-sim* aus dem frühen Stadium bestehen scheinbar im Stadium 9 fort und es finden sich weitere in direkter Nachbarschaft.

Die überaus dominante, posteriore Expressionsdomäne ist nicht mehr vorhanden, der posteriore Bereich der Larve ist komplett frei von *Cte-sim*-Expression. Dafür finden sich nun zwei distinkte Areale latero-ventral des Stomodaeums mit *Cte-sim* Expression (Abb. 40 A, B, D). In diesem Stadium werden durch die *Cte-r-ops*-Expression beide larvalen und adulten Photorezeptorzellen markiert (Abb. 40 C, auch E). Aus der Kollokalisationsanalyse ergibt sich weiterhin keine Koexpression von *Cte-sim* und *Cte-r-ops* in der larvalen Photorezeptorzelle, dafür aber in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 40 H, auch F, G).

Auch im metamorphosierten Stadium von *C. teleta* findet sich eine feine anteriore *Cte-sim*-Expression, jetzt allerdings nur noch auf einer Körperseite und weiter dorsal gelegen als in früheren Stadien. Die weiteren Expressionsdomänen in der direkten Nachbarschaft in vorangegangenen Stadien treten nicht mehr auf. Die Expression im Bereich des Stomodaeums aus dem Stadium 9 hat sich hier vergrößert und nimmt nun mehr Raum ein (Abb. 41, A-D, auch F, I). Die *Cte-r-ops*-Expression markiert in diesem Stadium die beiden Photorezeptorzellen der Adultaugen (Abb. 41 E, G) und die Kollokalisationsanalyse ergibt wie im Stadium 9 eine schwache Koexpression von *Cte-r-ops* und *Cte-sim* in der Photorezeptorzelle des Adultauges (Abb. 41 J, auch H).



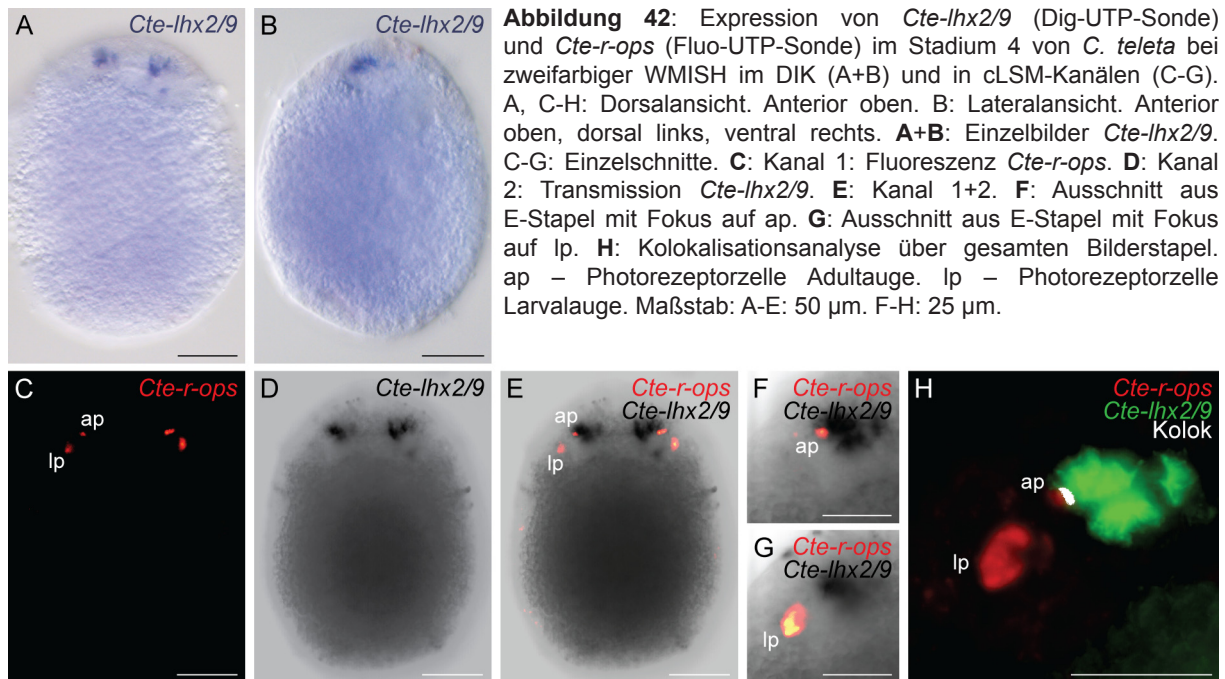
In den untersuchten Stadien wird *Cte-sim* stets in der Photorezeptorzelle des Adultauges, aber nicht in der Photorezeptorzelle des Larvalauges exprimiert.

3.6.3 Lhx2/9

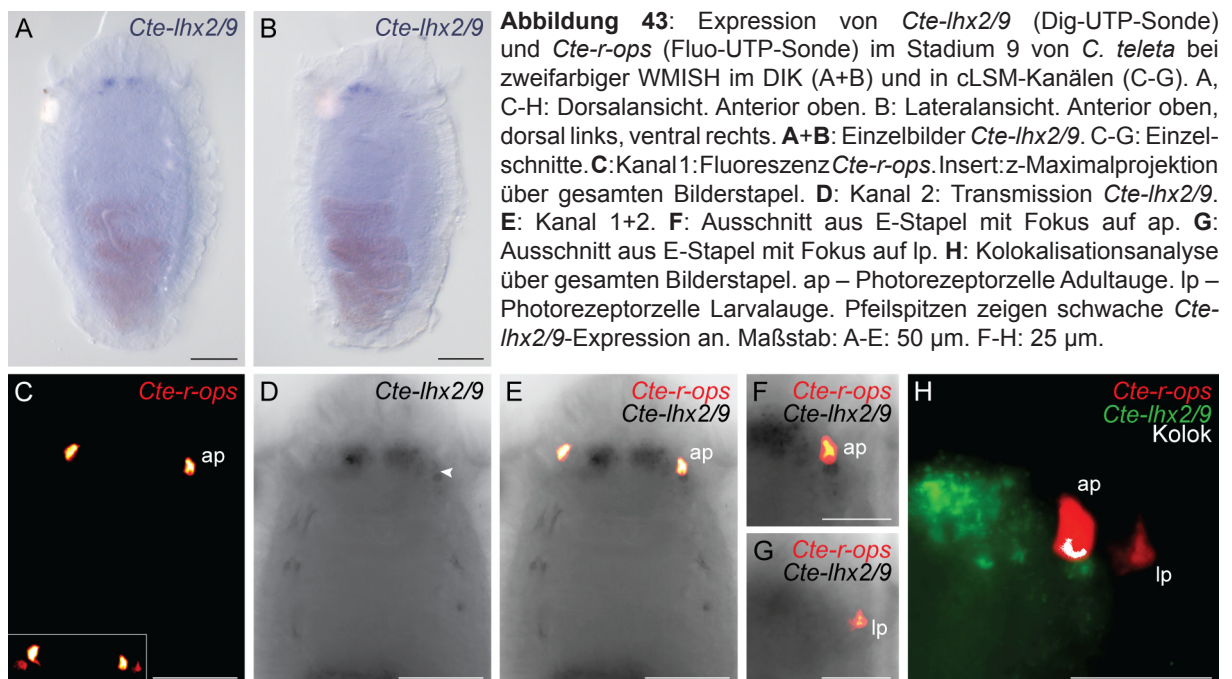
Eine weitere Unterfamilie der Homeobox-Gene ist die der LIM-Homeobox-Gene, deren Mitglieder in sechs Gruppen eingeteilt werden können und durch zwei LIM-Domänen und die Homeodomäne charakterisiert sind. Die LIM-Domäne ist nach den Genen *lin-11*, *islet-1* und *mec-3* benannt und wichtig für Protein-Protein Interaktionen. Die evolutiv alten Lhx-Transkriptionsfaktoren sind an einer Vielzahl von Entwicklungs- und Differenzierungsprozessen sowohl in Vertebraten als auch in Invertebraten beteiligt. Dazu gehören z. B. die Entwicklung von Gliedmaßen, Augen, die Spezifizierung neuronalen Gewebes und die neuronale Verknüpfung sensorischer Strukturen (Porter *et al.* 1997; Bach 2000; Hobert & Westphal 2000; Holland *et al.* 2007; Farfán *et al.* 2009; Srivasta *et al.* 2010). Für *P. dumerilii* ist bekannt, dass *Lhx2* zwar in den Photorezeptor- und Pigmentzellen der Larvalaugen, aber nicht denen der Adultraugen exprimiert wird (Arendt *et al.* 2009).

Bei *C. teleta* konnte ein 834 bp langes Fragment eines LIM-Homeobox-Gens kloniert werden, welches in ein 278 AS langes Protein translatiert werden kann. Die Sequenz von *C. teleta* wurde mit MAFFT unter der E-INS-i Option mit Sequenzen verschiedener Typen von LIM-Homeobox Genen von Vertretern der Bilateria aligniert. Positionen mit vielen Gaps wurden manuell aus dem Alignment entfernt. Die Wahl des besten Substitutionsmodells und die Maximum Likelihood Analyse (CAT Modell für rapid bootstrapping, automatischer Abbruch nach 250 replicates, DAYHOFF Modell für ML Suche) erfolgte mit RaXML 7.04. In der phylogenetischen Analyse (8.13) clustert die Sequenz gut gestützt zusammen mit dem Gen *Pdu-lhx2* von *P. dumerilii* und *Lhx2* und *Lhx9* Genen von Vertebraten. Es handelt sich um ein Ortholog zu diesen Genen und erhält die Bezeichnung *Cte-lhx2/9*. Im Vergleich mit dem Genmodell des JGI weicht die Klonsequenz an zwei Wobblepositionen und in zwei anderen AS ab, die durch weitere Klone nicht bestätigt werden. Insofern wird hier auf einen PCR- bzw. Sequenzierartefakt geschlossen.

In dem frühen Stadium von *C. teleta* ist die Expression von *Cte-lhx2/9* auf wenige apikale, symmetrisch verteilte Zellen nahe der Epidermis beschränkt (Abb. 42, A, B, D). *Cte-r-ops* markiert in diesem Stadium sowohl die Photorezeptorzellen der Larvalaugen als auch der Adultraugen (Abb. 42 C, E). Die Kolokalisationsanalyse ergibt eine Koexpression von *Cte-lhx2/9* und *Cte-r-ops* in der Photorezeptorzelle des Adultrauges, jedoch nicht in der des Larvalauges (Abb. 42 H, auch F, G).



Im Stadium 9 von *C. teleta* finden sich Transkripte von *Cte-lhx2/9* erneut nur in wenigen apikalen Zellen, etwas dorsaler als im vorangegangenen Stadium (Abb. 43 A, B, D). Transkripte von *Cte-r-ops* markieren die Photorezeptorzellen von Adult- und Larvalaugen (Abb. 43 C, E). Aus der Kolokalisationsanalyse von *Cte-r-ops* und *Cte-lhx2/9* resultiert erneut eine Koexpression der Gene in der Photorezeptorzelle des Adultauges, jedoch abermals nicht der des Larvalauges (Abb. 43 H, auch F, G).



Im metamorphosierte Stadium von *C. teleta* ist die *Cte-lhx2/9*-Expression wie bereits in den jüngeren Stadien auf wenige dorsale Zellen im anterioren Teil des Tieres beschränkt (Abb. 44 A-D, F). Die Photorezeptorzellen der Adultaugen werden durch die Expression von *Cte-r-ops* markiert (Abb. 44 E, G) und die Kolokalisationsanalyse von *Cte-lhx2/9* und *Cte-r-ops* ergibt dort eine Koexpression beider Gene (Abb. 44 J, auch H, I).

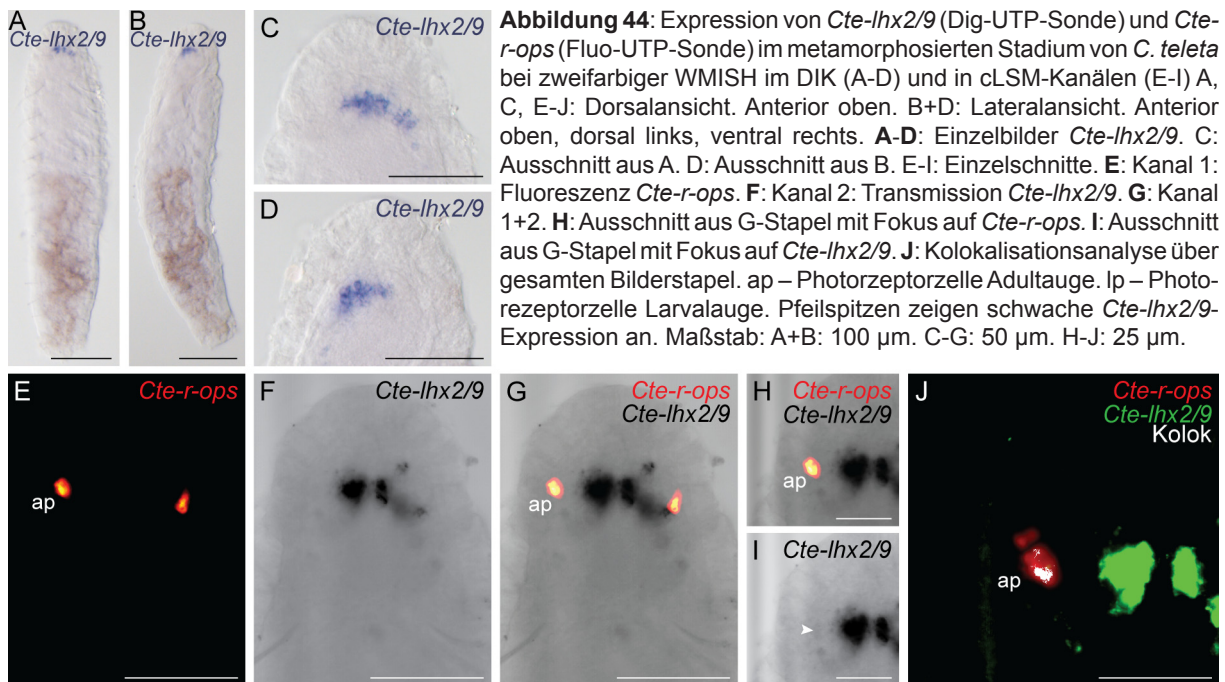


Abbildung 44: Expression von *Cte-lhx2/9* (Dig-UTP-Sonde) und *Cte-r-ops* (Fluo-UTP-Sonde) im metamorphosierte Stadium von *C. teleta* bei zweifarbiger WMISH im DIK (A-D) und in cLSM-Kanälen (E-I) A, C, E-J: Dorsalansicht. Anterior oben. B+D: Lateralansicht. Anterior oben, dorsal links, ventral rechts. **A-D:** Einzelbilder *Cte-lhx2/9*. **C:** Ausschnitt aus A. **D:** Ausschnitt aus B. **E-I:** Einzelschnitte. **E:** Kanal 1: Fluoreszenz *Cte-r-ops*. **F:** Kanal 2: Transmission *Cte-lhx2/9*. **G:** Kanal 1+2. **H:** Ausschnitt aus G-Stapel mit Fokus auf *Cte-r-ops*. **I:** Ausschnitt aus G-Stapel mit Fokus auf *Cte-lhx2/9*. **J:** Kolokalisationsanalyse über gesamten Bilderstapel. ap – Photorezeptorzelle Adultaug. lp – Photorezeptorzelle Larvalauge. Pfeilspitzen zeigen schwache *Cte-lhx2/9*-Expression an. Maßstab: A+B: 100 μ m. C-G: 50 μ m. H-J: 25 μ m.

Cte-lhx2/9 wird somit in allen untersuchten Stadien stets in den Photorezeptorzellen der Adultaugen, jedoch nie in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen exprimiert.

3.7 Strukturelle Charakterisierung *Cte-ops2*-positiver Zellen bei *C. teleta*

3.7.1 Expression von *Cte-ops2*

Wie bei *Cte-rops* ist die Expression des Opsins *Cte-ops2* auf wenige Zellen beschränkt. Im jungen Stadium liegen zwei *Cte-ops2* positive Zellen eingesenkt ins Gewebe im anterioren Bereich der Larve (Abb. 45 A, B, E). Die Zellen nehmen eine mediale Position in der Sagittalebene des Tieres ein. Im weiteren Verlauf der Ontogenese verlagern sich die Zellen. Im Stadium 9 sind sie ebenfalls tief in das Gewebe eingesenkt aber sie liegen weiter posterior kurz hinter dem Prototroch und in der dorsalen Hälfte des Tieres (Abb. 45 C, D, F). Die Position der Zellen unterscheidet sich in allen Stadien deutlich von der Lage der Larval- und Adultaugen. Dies deutet darauf hin, dass *C. teleta* weitere, von den Augen unabhängige Photorezeptorzellen besitzt.

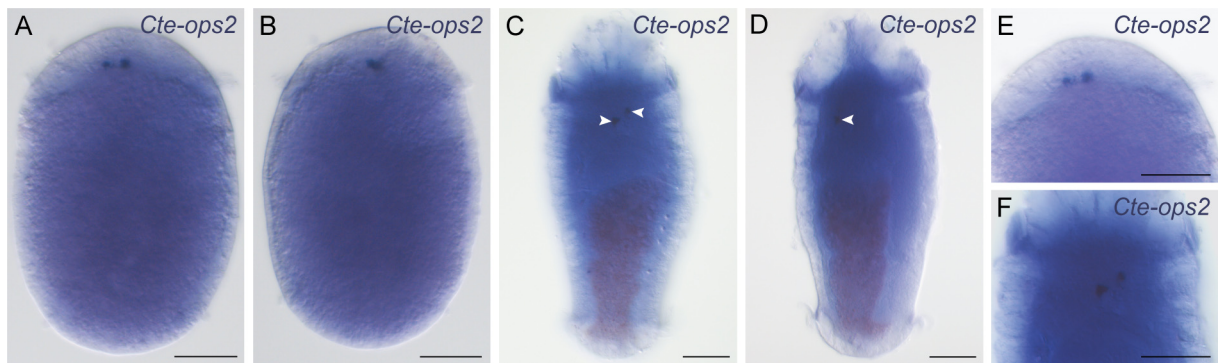


Abbildung 45: Expression von *Cte-ops2* (Dig-UTP-Sonde) im Stadium 4 und im Stadium 9 von *C. teleta* bei einfarbiger WMISH im DIK (A-F). A, C, E: Dorsalansicht. Anterior oben. B, D, F: Lateralansicht. Anterior oben, dorsal links, ventral rechts. **A, B, E:** Stadium 4. **C, D, F:** Stadium 9. Pfeilspitzen zeigen schwache *Cte-ops2*-Expression an. Maßstab: A-F: 50 μ m.

3.7.2 Ultrastrukturelle Untersuchungen

Da *Cte-ops2* in der evolutiven Analyse der Opsine mit anderen r-Opsinen clustert lag es nahe, die Region der *Cte-ops2*-Expression ultrastrukturell nach weiteren mikrovillären Sinneszellen zu durchsuchen. Diese Suche blieb allerdings ohne Erfolg. Allerdings befindet sich im Stadium 9 in dieser Region eine Gruppe anderer auffälliger Sinneszellen. Diese Zellen liegen posterior des Prototrochs dorsal dem Gehirn an. Die Zellen besitzen eine große intrazelluläre Vakuole, in die sie eine hohe Zahl von langen, unverzweigten Cilien entsenden (Abb. 46 A, B). Der Zellkörper ist um den Zellkern herum stark erweitert und reich an rauem endoplasmatischem Retikulum und Mitochondrien. Raus endoplasmatisches Retikulum zieht allerdings auch in die dünneren Bereiche der Zellen hinein, die die intrazelluläre Vakuole umschliessen.

Die Cilien entspringen an verschiedenen Stellen von der Wandung der Vakuole (Abb. 46 B). Sie besitzen einen wohl ausgebildeten Basalkörper, aber keine Cilienwurzeln (Abb. 46 C). Das Axonem ist basal nach dem $9 \times 2 + 2$ -Muster (Abb. 46 D) aufgebaut. Weiter apikal fehlt das zentrale Mikrotubulipaar jedoch (Abb. 46 E). Dies stützt die Annahme einer sensorischen Funktion der Cilien, da Reduktionen des Axonems häufig bei immotilen, sensorischen Cilien zu beobachten sind (Purschke *et al.* 2006; Berbari *et al.* 2009). Die ultrastrukturell untersuchten Zellen korrespondieren in ihrer Lage sehr gut mit den im Abschnitt 3.2.2 immunhistochemisch charakterisierten ciliären Sinnesorganen. In dieser Region gibt es außer den beschriebenen Zellen keine Strukturen, für die ein so intensives Tubulin-Signal zu erwarten ist, wie es hier beobachtet wurde.

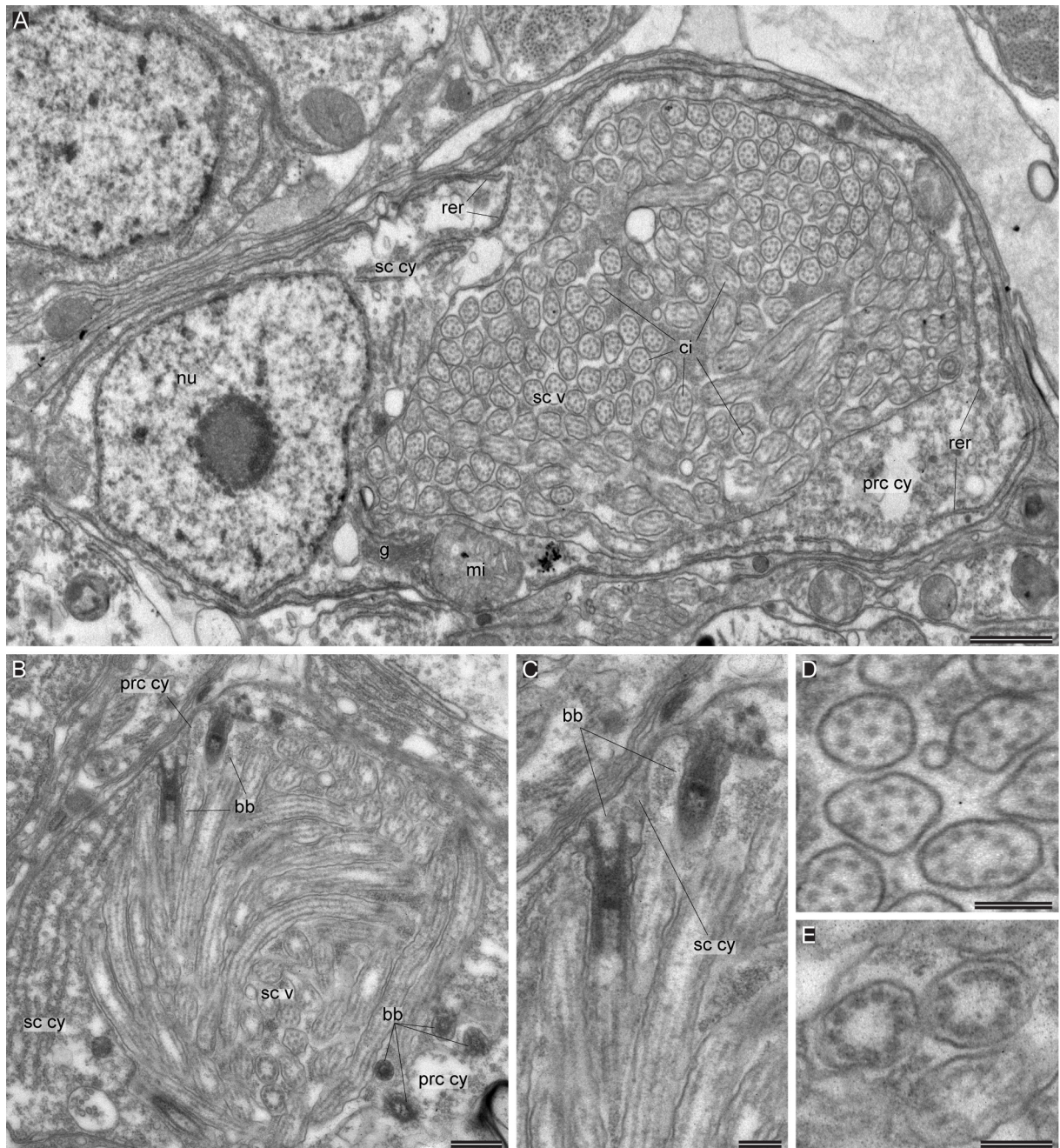


Abbildung 46: Ultrastruktur eines ciliären Phaosoms dorsal im Gehirn von *C. teleta* im Stadium 9. **A:** Das Cytoplasma des Zellkörpers (sc cy) ist reich an rauem endoplasmatischem Retikulum (rer) und umschließt eine mit Cilien (ci) gefüllte intrazelluläre Vakuole (sc v). **B:** Die Cilien entspringen an verschiedenen Stellen der Wand der Vakuole. **C:** Die Cilien weisen wohl ausgebildete Basalkörper auf (bb). **D:** Basal besitzen die Cilien ein vollständiges Axonem nach dem 9*2+2-Muster. **E:** Im apikalen Bereich der Cilien weist das Axonem kein zentrales Mikrotubulipaar auf. mi – Mitochondrien. nu – Zellkern. prc cy – Cytoplasma Photorezeptorzelle. Maßstab: A: 1 μ m. B: 500 nm. C-E: 200 nm.

3.7.3 Expression von *Cte-ops2* und Antikörperfärbung

Um zu überprüfen, ob wirklich diese ciliären Sinneszellen für die Expression von *Cte-ops2* verantwortlich sind, wurde die Detektion der Genexpression mit dem immunhistochemischen Nachweis von acetyliertem α -Tubulin im jungen Stadium und im Stadium 9 kombiniert.

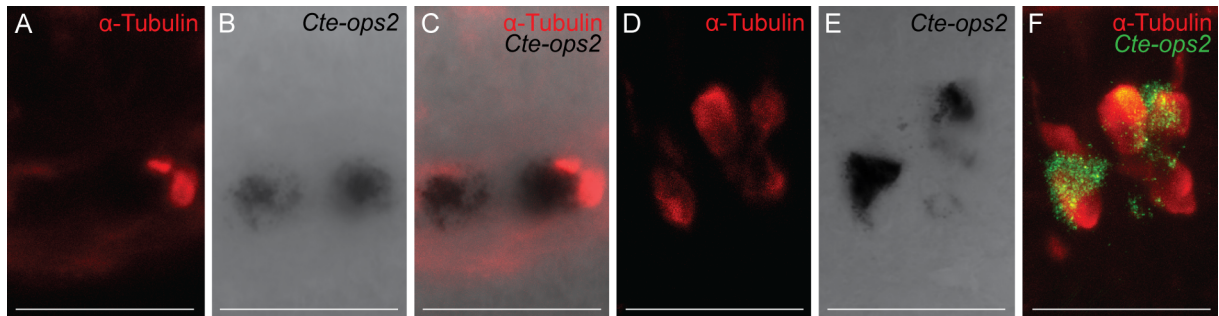


Abbildung 47: Antikörperfärbungen gegen acetyliertes α -Tubulin und Expression von *Cte-ops2* bei einfarbiger WMISH im Stadium 4 und im Stadium 9 von *C. teleta* in cLSM-Kanälen (A-E). A-F: Dorsalansicht. Anterior oben. A-C: Stadium 4. D-F: Stadium 9. **A:** Kanal 1: Fluoreszenz α -Tubulin. **B:** Kanal 2: Transmission *Cte-ops2*. **C:** Kanal 1+2. **D:** Fluoreszenz α -Tubulin. **E:** Kanal 2: Transmission *Cte-ops2*. **F:** Kombinierte z-Maximalprojektion jeweils über gesamten Bilderstapel von Kanal 1+2. Maßstab: A-F: 25 μ m

Wie zuvor konnten wieder nur zwei *Cte-ops2*-Signale aber sechs Tubulin-Signale nachgewiesen werden. Die *Cte-ops2*-Signale grenzen dabei direkt an ihnen benachbarte Tubulin-Signale an (Abb. 47 A-F). Die hochauflösende Detektion des Expressionssignals im Reflektionsmodus (Jékely & Arendt 2007) am cLSM zeigt, dass die Signale dabei zwar nicht überlappen, aber dass das *Cte-ops2*-Signal das Tubulin-Signal zum Teil umhüllt (Abb. 47 F).

3.8 Ciliäre Photorezeptoren bei *M. vesiculosum*

Für *M. vesiculosum* konnte ausgehend von Material der Branchialkrone ein 1093 bp langes Fragment eines Orthologs des c-Opsins von *P. dumerilii* kloniert werden, welches in ein 364 AS langes Protein translatiert werden kann. Damit handelt es sich um das zweite c-Opsin bei einem Polychaeten, für das Expressionsdaten vorliegen.

Das extracerebrale Auge (Richter *et al.* 2010) von *M. vesiculosum* hebt sich in unbehandelter Form durch das dunkle Pigment deutlich von dem helleren Radiolus und den Pinulae der Krone ab (Abb. 48 A, B). Durch die Behandlung während einer WMISH verlieren diese Strukturen jene typische Färbung jedoch (Abb. 48 C). Die Expression von *Mve-c-ops* ist in Kronenmaterial von *M. vesiculosum* scharf umrissen und nur auf den Bereich des Auges beschränkt (Abb. 48 D).

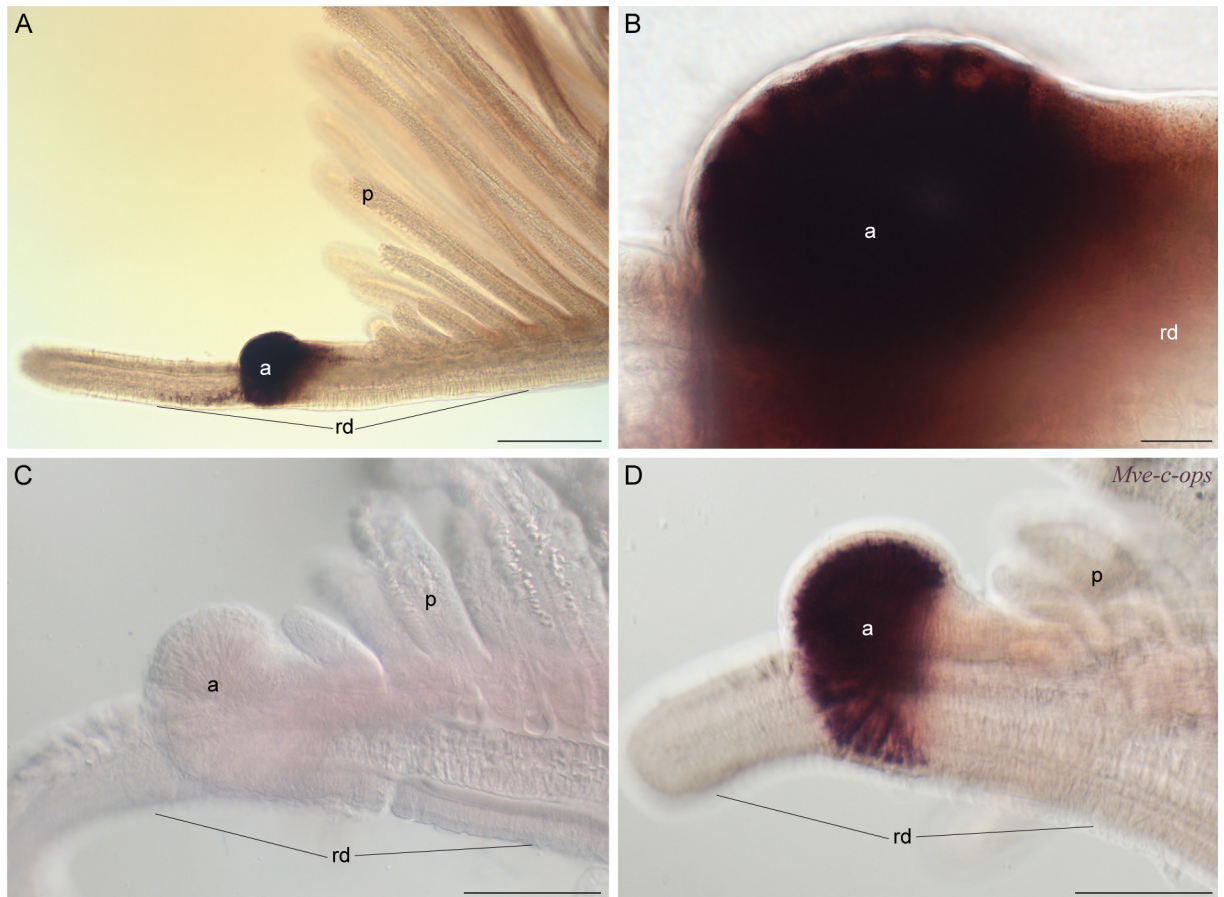


Abbildung 48: Expression des ciliären Opsins *Mve-c-ops* (Dig-UTP-Sonde) in den Augen der Branchialkrone von *M. vesiculosum* bei einfarbiger WMISH im DIK. Distales Ende des Radiolus jeweils links. **A+B:** Unbehandelte Präparate. **C:** Kontrolle. **D:** Expression *Mve-c-ops*. a – Auge. p – Pinnulus. rd – Radiolus. Maßstab: A: 200 μm . B: 20 μm . C+D: 100 μm .

4 Diskussion

4.1 Opsine

Als Photorezeptormoleküle visueller Systeme sind Opsine von immenser Bedeutung. Alle Sehvorgänge im Tierreich basieren auf der Detektion des Lichts durch diesen Typ G-Protein gekoppelter Rezeptoren (Nilsson 2009; Shichida & Matsuyama 2009). Das erste Opsin wurde 1982 sequenziert (Shichida & Matsuyama 2009). Heute sind bereits über 1000 bekannt, die aufgrund der Sequenzevolution konservierter Protein-Interaktionsstellen zu verschiedenen Gruppen zusammengefasst werden und als spezifische Marker von Photorezeptorzellen in unterschiedlichen Taxa genutzt werden können. So exprimieren ciliäre und rhabdomerische Photorezeptorzellen unterschiedliche Opsine (c-Opsine und r-Opsine), die schon sehr früh in der Evolution der Metazoa, wahrscheinlich in der Stammlinie der Bilateria oder der Cnidaria und Bilateria entstanden sind (Arendt *et al.* 2004; Nilsson 2004; Terakita 2005; Yau & Hardie 2009; Ullrich-Lüter *et al.* 2011).

Die meisten Opsine sind von Vertebrata und Arthropoda bekannt. Von Vertretern der Lophotrochozoa liegen hingegen bisher nur wenige Opsinsequenzen vor, die meisten von Molluska. Vor diesem Hintergrund ist es auf den ersten Blick erstaunlich, dass im Rahmen dieser Arbeit im Genom von *Capitella teleta*, einem überwiegend im Sediment lebenden Organismus, acht verschiedene Opsinsequenzen gefunden wurden. Da sieben von ihnen auch aus cDNA kloniert wurden, ist offensichtlich, dass diese auch tatsächlich exprimiert werden. Diese hohe Zahl an Opsinen deckt sich allerdings mit Resultaten bei anderen Invertebraten, bei denen genomische Daten zur Verfügung stehen. So wurden auch bei dem Seeigel *Strongylocentrotus purpuratus*, bei dem bis vor kurzem keinerlei Photorezeptoren beschrieben waren, sechs verschiedene Opsine gefunden (Raible *et al.* 2006; Ullrich-Lüter *et al.* 2011). Auch bei dem Gastropoden *Lottia gigantea*, dessen gesamter Körper dorsal von einer Kalkschale bedeckt ist, gibt es im Genom den Hinweis auf die Existenz von 13 verschiedenen Opsinen (pers. Kommunikation Harald Hausen). Bei einzelnen Vertretern der Cnidaria sind sogar bis zu 20 verschiedene Opsine beschrieben (Suga *et al.* 2008). Der evolutive Ursprung dieser Diversität von Opsinen in den einzelnen Organismen kann allerdings sehr unterschiedlich sein. So gehört die überwiegende Zahl von Opsinen der Cnidaria einer Gruppe von Sequenzen an, den Cnidopsinen, die keine Opsine anderer Organismen enthält (Suga *et al.* 2008). Diese Opsine

divergierten somit rein innerhalb der Cnidaria und zu der beobachteten Vielfalt gibt es keine Entsprechung bei anderen Tieren. Die evolutive Analyse der Opsine von *S. purpuratus* ergab dagegen, dass zumindest vier der sechs im Genom vorhandenen Opsine verschiedenen Opsintypen angehören (Raible *et al.* 2006), die sowohl bei anderen Deuterostomia als auch bei Protostomia vorkommen und deren vergleichende Charakterisierung Hinweise auf den evolutiven Ursprung verschiedener Photorezeptortypen gibt (Ullrich-Lüter *et al.* 2011). Wie später diskutiert wird, weisen innerhalb der Protostomia vor allem Lophotrochozoa, zu denen auch *C. teleta* gehört, einen ähnlich breiten Fundus an evolutiv alten Opsintypen auf. Sie sind daher für die Rekonstruktion der Evolution von besonderem Interesse.

4.1.1 Evolution von Opsinen

Die frühe Evolution der Opsine ist noch in vielen Punkten umstritten (Suga *et al.* 2008; Plachetziki *et al.* 2010). Außerhalb der Bilateria sind Opsine bisher nur von Cnidaria bekannt und die meisten ihrer Opsine, die Cnidopsine besitzen wie dargelegt keine direkten Orthologa innerhalb der Bilateria. Die Position der wenigen weiteren Opsine von Cnidaria in Opsinbäumen ist unsicher und der evolutive Zusammenhang zwischen Cnidopsinen und den von Bilateria bekannten c-Opsinen und r-Opsinen daher umstritten (Koyanagi *et al.* 2008c; Kozmik *et al.* 2008). Hier liefert die eigene evolutive Analyse auch keinen weiteren Aufschluss. Einige Autoren hypothesieren die Duplikation eines Ur-Opsin noch in der gemeinsamen Stammlinie der Cnidaria und Bilateria, aus der dann einerseits die c-Opsine und andererseits alle anderen Opsine inklusive der Cnidopsine hervorgegangen sind (Suga *et al.* 2008; Nilsson 2009; Vopalensky & Kozmik 2009). Eng damit verknüpft ist die Frage nach dem Ursprung der ciliären und rhabdomerischen Photorezeptorzellen, für den Suga *et al.* (2008) zwei mögliche Szenarien skizzieren, die sich u. a. darin unterscheiden, ob im letzten gemeinsamen Vorfahren der Cnidaria und Bilateria ciliäre und rhabdomerische Photorezeptorzellen bereits getrennt waren oder ob es eine Photorezeptorzelle gab, die beide Typen vereinte. Für eine Klärung sind hier weitere Untersuchungen notwendig.

Innerhalb der Bilateria sind die Verhältnisse klarer. Es gibt einige Typen von Opsinen, bei denen mittlerweile viel dafür spricht, dass sie schon in der Stammart der Bilateria vorhanden waren und dann im Laufe der Evolution weiter diversifizierten (Arendt *et al.* 2004; Terakita 2005; Raible *et al.* 2006; Suga *et al.* 2008). C-Opsine waren lange Zeit zwar nur für die Vertebraten bekannt, bei denen sie z. B. zahlreich zum Farbsehen diversifizierten (Terakita 2005) und bei denen

zusätzlich auch den c-Opsinen ähnliche, nicht-visuelle Opsine wie Pinopsin oder Encephalopsin vorhanden sind (Shichida & Matsuyama 2009). Sukzessive wurden c-Opsine auch bei Tunicata (Kusakabe *et al.* 2001; Kusakabe & Tsuda 2007) und Echinodermata (Raible *et al.* 2006) gefunden. Sehr viel erstaunlicher war aber die Beschreibung des ersten c-Opsins für die Protostomia durch Arendt *et al.* (2004) bei *Platynereis dumerilii* und später der Fund eines orthologen Gens bei *Apis mellifera* durch Velarde *et al.* (2005) und kürzlich auch bei Brachiopoda (Passamaneck *et al.* 2011). Diese Opsine gruppieren in den jeweiligen Analysen klar mit den c-Opsinen der Deuterostomier zusammen und die c-Opsine der Proto- und Deuterostomia weisen charakteristische, konservierte Sequenzbereiche auf (Velarde *et al.* 2005; Passamaneck *et al.* 2011). Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein weiteres c-Opsin (*Mve-c-ops*) bei dem Polychaeten *Megalomma vesiculosum* gefunden. Für *C. teleta* konnte hingegen kein c-Opsin gefunden werden. Auch im Genom von *Helobdella robusta* und *L. gigantea* gibt es keine Hinweise auf die Existenz von c-Opsinen (pers. Kommunikation Harald Hausen). Bei *C. teleta*, *H. robusta* und *L. gigantea* fehlt dieser Opsintyp sicher sekundär und offensichtlich wurden c-Opsine innerhalb der Annelida und Molluska unabhängig voneinander reduziert, denn die evolutive Analyse der Opsine zeigt deutlich, dass die c-Opsine von *M. vesiculosum* und *P. dumerilii* einen gemeinsamen Vorläufer gehabt haben und die Annahme einer konvergenten Entwicklung nicht sparsam wäre. Angesichts des positiven Befundes bei *M. vesiculosum* ist nun klar, dass c-Opsine innerhalb der Annelida nicht auf die Teilgruppe der Errantia beschränkt sind, der *P. dumerilii* angehört. Die Stellung von *M. vesiculosum* innerhalb der nach neuen molekularen Daten gut begründeten Sedentaria (Struck *et al.* 2011), legt vielmehr nahe, dass dieser Opsintyp innerhalb der Annelida recht weit verbreitet sein kann. Wie später diskutiert wird, weisen die eigenen Befunde daraufhin, dass die Funktion der c-Opsine innerhalb der Annelida variabler ist, als bisher angenommen wurde.

Im Gegensatz zu c-Opsinen sind r-Opsine seit Langem von Invertebraten bekannt (Yau & Hardie 2009) und als visuelle Photopigmente der Arthropoda und anderer Protostomia zum Teil intensiv bearbeitet worden. Bei Vertebraten hingegen wurde dieser Opsintyp erst spät in Form des Melanopsins entdeckt (Provencio *et al.* 1998). Dieses wird nicht von den visuellen Photorezeptorzellen der Retina, sondern in den retinalen Ganglienzellen exprimiert und dient der circadianen Rhythmik (Kumbalasisiri & Provencio 2005; Panda *et al.* 2005; Hankins *et al.* 2008). Innerhalb der Deuterostomia wurden r-Opsine dann auch bei Cephalochordata und Echinodermata gefunden (Koyanagi *et al.* 2005, Raible *et al.* 2006; Koyanagi & Terakita 2008b; Ullrich-Lüter *et al.* 2011). Diese Organismen besitzen jeweils nur einen Vertreter dieses

Opsintyps. Innerhalb der Protostomia besitzen Vertreter der Arthropoda in der Regel mehrere verschiedene r-Opsine, die im Zuge der Evolution des Farbensehens diversifizierten (Wakakuwa *et al.* 2005; Koyanagi *et al.* 2008a). Bei Lophotrochozoa sind r-Opsine bekannt aus Plathelminthes, Molluska und Anneliden (Arendt *et al.* 2002; Terakita 2005). In der Regel besitzen die Vertreter dieser Taxa jeweils immer nur ein solches Opsin. Selbst bei Cephalopoda mit ihren leistungsfähigen Augen gibt es nur wenige Hinweise auf die Existenz paraloger r-Opsine (Matsui *et al.* 1988). Im Rahmen dieser Arbeit wurde bei *C. teleta* nach intensiver Suche in den genomischen Ressourcen auch nur ein klares r-Opsin (*Cte-r-ops*) gefunden. Dieses gruppiert mit anderen r-Opsinen von Annelida und Lophotrochozoa zusammen und weist auch den für r-Opsine typischen Sequenzabschnitt zwischen der 7. und 8. Helix auf. Klare Hinweise auf die Existenz mehrere r-Opsine gibt es dagegen im Genom des Clitellaten *H. robusta*, aber auch bei *P. dumerilii* (pers. Kommunikation Gáspár Jékely). Während die evolutive Analyse der Opsine zeigt, dass die vier Opsine von *H. robusta* direkt zusammen gruppieren, sind die beiden r-Opsine von *P. dumerilii* offensichtlich älter. Da *Cte-r-ops* und die Opsine von *H. robusta* gut unterstützt mit dem erst seit kurzem bekannten *Pdu-r-ops3* von *P. dumerilii* gruppieren, gehen diese Opsine auf einen Vorläufer in der letzten gemeinsamen Stammart von *C. teleta*, *P. dumerilii* und *H. robusta* zurück. Aufgrund der entfernten phylogenetischen Stellung von *C. teleta* und *P. dumerilii* liegt es nahe, dass es sich hier um den Vorfahr der Annelida handelte. Da *Pdu-r-ops1* nicht in diese Gruppe von r-Opsinen fällt, waren hier also schon zwei verschiedene r-Opsine (r-ops1 und r-ops3) vorhanden. Offensichtlich sind beide Varianten bei *P. dumerilii* erhalten geblieben, wogegen r-ops1 in der Linie zu *C. teleta* und *H. robusta* verloren gegangen ist.

Die evolutive Herkunft der zwei weiteren Opsine von *C. teleta* (*Cte-ops2*, *Cte-ops3*), die sehr gut gestützt mit r-Opsinen gruppieren, ist schwer zu beurteilen. Aufgrund der relativ kurzen Astlängen, sind *Cte-ops2* und *Cte-ops3* erst vor kürzerer Zeit aus einem nur ihnen gemeinsamen Vorläufer hervorgegangen. Ihre Position an der Basis aller r-Opsine spricht gegen einen direkten Bezug zu anderen r-Opsinen von Lophotrochozoa. Aufgrund des langen Astes bis zur Aufspaltung kann long branch attraction als Ursache für die basale Einordnung aber nicht ausgeschlossen werden. Gegen eine Stellung innerhalb der bisher bekannten r-Opsine spricht aber auch die fehlende Übereinstimmung in dem in allen r-Opsinen hoch konservierten Sequenzabschnitt zwischen der 7. und 8. Helix. Eventuell können erst künftige Analysen, die weitere Opsinsequenzen integrieren, genaueren Aufschluss über die Evolution dieser Opsine geben. Aus Perspektive der Evolution von Photorezeptorzellen bleibt es jedoch außerordentlich

interessant, dass *Cte-ops2* nicht in rhabdomerischen, sondern in ciliären Photorezeptorzellen exprimiert wird, wie später noch diskutiert wird.

Von den Protostomia sind aber auch noch andere Opsine bekannt wie z. B. das Go-Opsin bei Molluska, welches in ciliären Photorezeptoren exprimiert wird (Kojima *et al.* 1997; Shichida & Matsuyama 2009). Diese Go-Opsine existieren auch in Cephalochordata (Koyanagi *et al.* 2002) und Echinodermata (Raible *et al.* 2006), weshalb auch dieser Opsintyp schon im letzten Vorfahren der Bilateria vorhanden gewesen sein muss. Allerdings gibt es für das Vorhandensein dieses Opsins innerhalb der Annelida keinerlei Hinweise und auch die Suche im Genom von *C. teleta* hat keine Hinweise darauf ergeben. Dafür wurde aber bei *C. teleta* mit *Cte-ops7* das erste Ortholog von Neuropsin (Opn5) bei einem Protostomier gefunden. Dieses gehört zu einer Gruppe von Opsinen über deren Funktion bisher nur sehr wenig bekannt ist, die offensichtlich näher mit den Go-Opsinen verwandt sind und die z. B. bei der Maus und bei dem Menschen beschrieben sind (Tartelin *et al.* 2003; Terakita 2005; Yau & Hardie 2009). Insgesamt fünf Gene (*Cte-ops4* – *Cte-ops8*) clustern in der eigenen Analyse gut unterstützt miteinander und gruppieren sich in die Neuropsine ein. In der Konsequenz kann die Existenz eines weiteren Opsintyps – Neuropsin (Opn5) – im letzten gemeinsamen Vorfahren der Bilateria angenommen werden. Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die Lophotrochozoa deutlich mehr unterschiedliche und evolutiv alte Opsintypen aufweisen als die Arthropoda. Auch wenn funktionelle Daten oft noch fehlen sind die Lophotrochozoa daher besonders interessant für die Rekonstruktion der Evolution von Photorezeptorzellen. Aus dem Vergleich von Photorezeptorzellen von Lophotrochozoa und Vertebrata lassen sich besser Hypothesen zum Grundmuster der Bilateria ableiten als bei einem Vergleich mit Arthropoda.

4.2 Larval- und Adultaugen von *C. teleta* und *P. dumerilii* im Vergleich

Die Homologie von Larval- und Adultaugen innerhalb der Annelida ist nicht klar und anhand rein struktureller Daten bisher nicht abschliessend zu bewerten. Es bietet sich ein integrativer Vergleich eines sedentären Polychaeten (*C. teleta*) mit einem erranten Polychaeten (*P. dumerilii*) auf der Grundlage von ultrastrukturellen Daten sowie den Opsinen und anderen molekularen Markern an, haben sich doch z. B. Opsine als probater Marker für Photorezeptorzellen erwiesen (Arendt 2003; Passamaneck *et al.* 2011; Ullrich-Lüter *et al.* 2011) Dafür spricht auch das bereits diskutierte Vorhandensein von zwei r-Opsinen (r-ops3, r-ops1) innerhalb der Annelida.

Sowohl auf molekularem als auch auf ultrastrukturellem Niveau gibt es jeweils deutliche Übereinstimmungen zwischen den Larval- bzw. Adultaugen von *C. teleta* und *P. dumerilii*, die Befunde decken sich aber nicht komplett.

Die Ultrastruktur der Larvalaugen von *C. teleta* ähnelt der von *P. dumerilii* stark. Es handelt sich in beiden Fällen um einfach aufgebaute, rhabdomerische, inverse Pigmentbecheraugen (Rhode 1992, 1993), wie sie auch bei Larven vieler anderer Anneliden zu finden sind (Purschke *et al.* 2006). Strukturell betrachtet gibt es Evidenzen für eine Homologie (Bartolomaeus 1992). Die Adultaugen wiederum sind klar von den Larvalaugen abgrenzbar und es gibt Übereinstimmungen zwischen beiden Taxa. Sowohl bei *P. dumerilii* als auch bei *C. teleta* handelt es sich um multizelluläre, rhabdomerische, everse Augen, die bei *C. teleta* aber kleiner sind. Im Fall von *P. dumerilii* enthält die Photorezeptorzelle des Adultauges zudem noch Pigmentgranula die weder in eigenen Untersuchungen noch durch Rhode (1993) bei *C. teleta* beobachtet wurden. Die Stützzellen formen bei *P. dumerilii* zusätzlich eine ausgeprägte Linse. Die Ontogenese der Adultaugen unterscheidet sich zwischen *C. teleta* und *P. dumerilii*. Während die Adultaugen von *C. teleta* sehr früh entstehen und nicht erst nach der Metamorphose der Larven wie von Rhode (1993) angenommen und lange unpigmentiert sind, entstehen die Adultaugen von *P. dumerilii* spät in der Ontogenese und weisen direkt eine Pigmentierung auf. Die verfügbaren strukturellen Daten liefern hier also keine deutlichen Hinweise auf Homologien, weshalb sie mit molekularen Daten kombiniert werden.

Unterschiede zwischen den Larval- und Adultaugen bei *C. teleta* spiegeln sich auch auf molekularer Ebene wieder. Von den untersuchten Genen werden nur drei überhaupt in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen exprimiert, *Cte-r-ops*, *Cte-spr* und *Cte-VACHT*, wobei *Cte-VACHT* exklusiv in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen exprimiert wird. Die Gene *Cte-chx10*, *Cte-dac*, *Cte-eya*, *Cte-FVRI*, *Cte-Gq α* , *Cte-lhx2/9*, *Cte-pax6*, *Cte-sim*, *Cte-six1/2* werden exklusiv in den Photorezeptorzellen der Adultaugen exprimiert. *Cte-r-ops* und *Cte-spr* werden sowohl in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen als auch in denen der Adultaugen exprimiert. *Cte-tdo2* wird zunächst nur in der Pigmentzelle und zu einem späteren Zeitpunkt in der Photorezeptorzelle des Adultauges exprimiert. Auch bei *P. dumerilii* unterscheiden sich die Larval- und Adultaugen deutlich auf molekularer Ebene (Guy 2008). Zum Teil decken sich diese Befunde, aber es gibt auch Unterschiede zwischen beiden Arten, weshalb eine differenzierte Betrachtung nötig ist.

4.2.1 Transmitter und Neuropeptide

In den untersuchten Stadien von *C. teleta* waren stets nur die Photorezeptorzellen der Larvalaugen *Cte-VACHT*-positiv, die der Adultaugen jedoch nie. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Daten von Jékely *et al.* (2008), welche die Photorezeptorzelle des Larvalauges von *P. dumerilii* u. a. durch *VACHT*-Expression als cholinerg und das Larvalauge der Phototaxis dienend identifiziert haben. Im Fall von *P. dumerilii* haben Jékely *et al.* (2008) gezeigt, dass ein axonaler Kontakt zwischen der Photorezeptorzelle des Larvalauges und einzelnen, multiciliären Zellen des Prototrochs besteht. Der Cilienschlag dieser Zellen ändert sich in Abhängigkeit von der Belichtung der Photorezeptorzelle und bestimmt die Schwimmrichtung der Larve und ist an Acetylcholin gekoppelt. Deshalb wurde mit einem einfachen Versuchsaufbau die Phototaxis früher Larvenstadien von *C. teleta* in Ab- und Anwesenheit des Acetylcholin-Antagonisten α -Bungarotoxin untersucht. Das Resultat dieser qualitativen Experimente ist, dass wie auch bei *P. dumerilii* die Phototaxis und das zielgerichtete Schwimmen der Larven von *C. teleta* durch α -Bungarotoxin gehemmt wird, allerdings erst bei etwa 10-fach höherer Konzentration des Blockers (500 nM). Da hier verschiedenste Faktoren wie z. B. Dicke der Kutikula oder Anzahl der entsprechenden Rezeptoren eine Rolle spielen können, bleibt eine Erklärung für die Unterschiede in der Konzentration spekulativ. Auch wenn die ultrastrukturellen Daten für einen Zellausläufer der Photorezeptorzelle des Larvalauges nicht ganz eindeutig sind, so zieht er doch in Richtung des Prototroch, was angesichts der Situation bei *P. dumerilii* eine direkte Innervation multiciliärer Zellen des Prototrochs auch bei *C. teleta* durchaus wahrscheinlich macht. Die Ergebnisse lassen grundsätzlich auf eine Regulierung der Phototaxis bei *C. teleta* durch die Photorezeptorzellen des Larvalauges unter Beteiligung von Acetylcholin schließen, wohingegen eine Beteiligung der in den untersuchten Stadien zudem unpigmentierten Adultaugen unwahrscheinlich ist. Anhand der vorliegenden Daten für *P. dumerilii* und *C. teleta* eine cholinerge Natur der Larvalaugen von Anneliden hypothetisieren. Für *P. dumerilii* gibt Guy (2008) auch Hinweise auf eine glutamerge Natur der Adultaugen durch den vesikulären Glutamat-Transporter, einen Neurotransmitter, der u. a. an der Einlagerung von Glutamat in synaptische Vesikel beteiligt ist und als Marker für glutamerge Neuronen genutzt werden kann (Bai *et al.* 2001). Bei der Überprüfung der Sequenzdaten von *C. teleta* konnte ein Kandidat ausgemacht werden ([jgi|Capca1|177109|estExt_Genewise1Plus.C_170134](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/jgi|Capca1|177109|estExt_Genewise1Plus.C_170134)), dessen Orthologie und Expression aber experimentell zu überprüfen sind.

Das FMFRamid ähnliche Neuropeptid *Cte-FVRI* wird bei *C. teleta* nur in der Photorezeptorzelle des Adultauges im Stadium 9 mit dem r-Opsin *Cte-r-ops* koexprimiert. Auch wenn die genaue Funktion von FVRIamid derzeit noch unbekannt ist, so findet es sich doch ebenfalls bei *P. dumerilii* (Guy 2008; Jékely *et al.* 2008) in den Photorezeptorzellen der Adultaugen, wodurch eine weitere Verbreitung innerhalb der Annelida und eine konservierte Funktion denkbar ist. Prinzipiell scheint FVRIamid weiter verbreitet zu sein, da sich z. B. ein adäquates Modell ([jgi|Lotgi1|228288|estExt_fggenes2_pg.C_sca_20198](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/228288)) auch im Genom des Mollusken *L. gigantea* findet.

4.2.2 Das RDGN-Netzwerk in der Augenentwicklung bei Annelida

Nach Jemc & Rebay (2007) zeichnen sich die Mitglieder des RDGN-Netzwerkes *Pax-Six-Eyes absent-Dachshund* bei *Drosophila* u. a. dadurch aus, dass das Resultat eines Verlustes der Genfunktion völlig fehlende oder defekte Augen sind und das ektopische Augen durch eine Fehlexpression induziert werden können. Allerdings greifen Kozmik *et al.* (2007) auf den Begriff *Pax-Six-Eyes absent-Dachshund*-Netzwerk (PSEDN) zurück, um zu verdeutlichen, dass diese Gene auch bei anderen Entwicklungsprozessen eine wichtige Rolle spielen.

Auch bei vielen anderen Organismen nehmen diese Gene eine bedeutende Funktion in der Augenentwicklung ein, auch wenn scheinbar nicht immer alle der Gene beteiligt sein müssen (Yang *et al.* 2009a, 2009b). Bei Annelida gibt es offensichtlich deutliche Unterschiede zwischen Larval- und Adultauge. Sowohl bei *C. teleta* als auch *P. dumerilii* unterscheidet sich die Expression von *Pax6*, *Six*, *Eyes absent* und *Dachshund* in Larval- und Adultaugen deutlich. Bei *C. teleta* werden diese Gene ausschließlich in den Photorezeptorzellen der Adultaugen exprimiert, jedoch nicht in denen der Larvalaugen. Drei der Gene (*Six*, *Eyes absent* und *Dachshund*) sind bei *P. dumerilli* ebenfalls adultaugenspezifisch, *Pax6* jedoch larvalaugenspezifisch (Guy 2008). Damit scheint die Entwicklung der Larvalaugen von *C. teleta* vollständig und bei *P. dumerilii* weitgehend nicht mehr auf die Aktivität der RDGN-Gene in den Zellen angewiesen zu sein. Vor dem Hintergrund, dass alle vier Gene bei *C. teleta* nicht in der larvalen Photorezeptorzelle selbst, aber in relativer Nähe dazu exprimiert werden, ist allerdings die Argumentation von Baker & Firth (2011) interessant. Dieser zufolge können Mitglieder des RDGN-Netzwerkes dynamisch durch Zell-Zell-Signale reguliert werden und die Ausprägung der Augen kann durch sekundäre Transkriptionsfaktoren bestimmt werden, die selbst keine RDGN-Gene sind, wohl aber ein primäres Ziel derselben. Dafür würde auch sprechen, dass Winchell

et al. (2010) für *Neanthes arenaceodentata* (Annelida) keine *Dachshund*-Expression in den sich entwickelnden Augen nachweisen konnten, wohl aber in peripheren Zellen davon.

4.2.2.1 Pax6

Durch seine scheinbar essentielle Funktion bei der Augenentwicklung in verschiedenen Organismen und der Fähigkeit ektopische Augenbildung zu induzieren wird *Pax6* häufig als Master-Regulator oder master control gene der Augenentwicklung der Bilateria bezeichnet und ist bei allen bisher untersuchten Bilateria mit der Augenentwicklung verknüpft (Gehring & Ikeo 1999; Ashery-Padan & Gruss 2001; Gehring & Seimiya 2010). Allerdings wird dieser Begriff von anderen Autoren abgelehnt, da er eine Stellung von *Pax6* an der Spitze einer Genkaskade impliziert (Fernald 2000; Vopalensky & Kozmik 2009) und eine exklusive Funktion von *Pax6* bei der Entwicklung von Photorezeptorzellen wird diskutiert (Simpson & Price 2002; Arendt 2003). Die Larvalaugen von *C. teleta* und die Adultauken von *P. dumerillii* sind nicht der einzige Fall, bei dem *Pax6* nicht exprimiert wird. So gibt es z. B. keine Expression von *Pax6* in den Hesse-Organen und den Joseph-Zellen von *Branchiostoma floridae* (Glardon *et al.* 1998), in sich regenerierenden Augen von Planarien (Pineda *et al.* 2002) oder in sich entwickelnden Augen von *Limulus polyphemus* (Blackburn *et al.* 2008). Zudem wird zumindest für *Lineus viridis* von Loosli *et al.* (1996) eine Expression von *Pax6* in den Augen zur Disposition gestellt, da sie nur durch eine Expression in der Augenregion allgemein begründet wäre. Angesichts einer *Pax6*-unabhängigen Entwicklung der Joseph-Zellen und Hesse-Organen von *Branchiostoma* hat Friedrich (2006) eine Beteiligung von *Pax6* bei der Differenzierung visueller Organe in Abhängigkeit von ihrer Komplexität diskutiert, dieses aber bedingt durch die Expression von *Pax6* im Larvalauge von *P. dumerilli* verworfen. Auch die Expression von *Pax6* im relativ einfach gebauten Auge von *C. teleta* spricht nicht für diese Hypothese. Die genannten Beispiele zusammen mit den Daten von *C. teleta* untermauern die Zweifel an einer master control gene-Funktion bzw. die Stellung von *Pax6* an der Spitze einer Kaskade. Kozmik (2005) geht davon aus, dass sich die heutigen *Pax2* und *Pax6* Gene von einem *PaxB* der Cnidaria ableiten und durch Veränderung bzw. Verlust einzelner Domänen Funktionen bei der Expression von Opsinen, der Augenmorphogenese und bei der Pigmentierung übernahmen, was z. B. durch die Expression eines *Pax2/5/8*-Orthologs exklusiv in der Pigmentzelle der Adultauken von *P. dumerillii* unterstrichen wird (Guy 2008). In den genomischen Daten von *C. teleta* konnte bei einer Überprüfung derselben ein Kandidat (jgi|Capca1|119889|e_gw1.819.21.1) für ein *Pax2/5/8*-Ortholog ausgemacht werden. Ob es sich dabei wirklich um ein *Pax2/5/8*-Ortholog handelt und

ob dieses eventuell sogar in der Pigmentzelle der Larvalaugen von *C. teleta* exprimiert wird, gilt es in weiteren Experimenten zu überprüfen. Hinsichtlich der Frage, wer anstelle von *Pax6* eine Rolle bei der Differenzierung der Augen spielen könnte, nennt Guy (2008) für *P. dumerilii* zwei mögliche Gene, nämlich *Otx* (jgi|Capca1|146865|e_gw1.151.68.1) als auch für *Prox* (jgi|Capca1|102014|e_gw1.120.5.1) finden sich in den genomischen Daten *C. teleta* Kandidaten, deren Orthologie und Expressionmuster in zukünftigen Arbeiten zu überprüfen sind.

4.2.3 Phototransduktion rhabdomerischer Photorezeptorzellen

Als wichtiger Bestandteil der Signaltransduktionskaskade stellen die Gq-alpha-Untereinheiten einen konservativen Marker für rhabdomerische Photorezeptorzellen dar (Shichida & Matsuyama 2009; Yau & Hardie 2009). Die Ergebnisse dieser Arbeit werfen allerdings die Frage auf, inwiefern bei dem Vorhandensein einer rhabdomerischen Photorezeptorzelle bzw. der Expression eines rhabdomerischen Opsins in einer solchen Photorezeptorzelle grundsätzlich auf eine, die Gq-alpha-Untereinheit involvierende Phototransduktionskaskade geschlossen werden kann. Wie auch bei *P. dumerilii* (pers. Kommunikation Detlev Arendt) und bei *Perinereis brevicirris* (Miyako-Shimazaki *et al.* 1999) wird bei *C. teleta* ein Gq- α -Homolog (*Cte-Gq α*) in allen untersuchten Entwicklungsstadien in den Photorezeptorzellen der Adultaugen exprimiert, jedoch nicht in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen. Dieses ist sehr erstaunlich, handelt es sich doch bei beiden um rhabdomerische Photorezeptorzellen, die das gleiche rhabdomerische Opsin (*Cte-r-ops*) exprimieren. Zudem besteht nach Plachetzki *et al.* (2007, 2010) eine signifikante Korrelation zwischen einzelnen Aminosäurepositionen in der vierten cytoplasmatischen Schleife des Opsins und dem Phentypen des bindenden G-Proteins. Kann in der Konsequenz ein Opsin also durchaus verschiedene alpha-Untereinheiten der G-Proteine ansprechen? Matsushita *et al.* (2000) haben das in ihren Untersuchungen zumindest in Form einer Kolo-kalisation von Pinopsin mit zwei verschiedenen Typen von G-Protein alpha-Untereinheiten, nämlich Gt1 α und Gq/11 α festgestellt und schließen auch auf eine funktionelle Kopplung. Aufgrund der Sequenzanalysen ist bekannt, dass bei *C. teleta* nur ein Gen (*Cte-Gq α*) vorliegt, welches ortholog zu den Gq-alpha-Untereinheiten anderer Organismen ist. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass z. B. eine alternative Splicevariante von *Cte-Gq α* in der Photorezeptorzelle des Larvalauges exprimiert wird. Im Rahmen der eigenen Sequenzanalysen wurden Genmodelle für weitere G-Protein alpha-Untereinheiten ausgemacht, die eine Verwandtschaft zu Go-, Gi/t- und Gs-alpha Untereinheiten nahelegen. Inwiefern diese

Gene tatsächlich exprimiert werden, in welchen Strukturen und ob sie an der Phototransduktion in der Photorezeptorzelle des Larvalauges beteiligt sind, kann hier nicht abschließend beurteilt werden. So werfen die vorliegenden Ergebnisse interessante Fragen nach der Funktionsweise, den beteiligten Kanälen und der Physiologie der Larvalaugen auf, die es experimentell zu beantworten gilt. Es ist aber festzuhalten, dass die Signaltransduktion in den rhabdomerischen Photorezeptorzellen der Adultaugen von *P. dumerilii* und *C. teleta* wie zu erwarten auf Gq-alpha-Untereinheiten zurückgreift, während dies bei den Larvalaugen unwahrscheinlich ist. Allenfalls kommt hier einer stark abgewandelte, mit den existierenden Sonden nicht detektierbare Splicevarinate zum Einsatz, vermutlich aber eher ein anderer G-Protein Typ. Die Befunde sind sehr wertvoll für die Charakterisierung der Larvalaugen von Annelida.

4.2.4 Pigmentzellen

Eine Sonderrolle im Vergleich der Larval- und Adultaugen von *C. teleta* mit denen von *P. dumerilii* im Speziellen und der Annelida allgemein nimmt die Pigmentzelle ein. Wie beschrieben liegt bei *C. teleta* das Rhabdom des Larvalauges zunächst in dem nach lateral geöffneten Pigmentbecher und das Rhabdom des Adultauges liegt anterio-lateral davon. Im Laufe der fortschreitenden Metamorphose ändert der Pigmentbecher seine Form und beide Rhabdome lagern sich ihm scheinbar an. Diese Situation unterscheidet sich von der bei *P. dumerilii*, wo beide Augentypen von Beginn an eigene Pigmentzellen aufweisen. Da Augen von Adulti von *C. teleta* mehrere Pigmentzellen besitzen (Rhode 1993), ist aber davon auszugehen, dass auch hier später in der Entwicklung adultaugenspezifische Pigmentzellen gebildet werden.

Interessant ist aber nun die Verteilung der Expression der Pigmentgene. Bei beiden Arten sind sie nicht auf die Pigmentzellen beschränkt, sondern werden teilweise auch von Photorezeptorzellen selbst exprimiert. *Sepiapterinreduktase* ist bei *C. teleta* in den Photorezeptorzellen von Larval- und Adultaugen nachzuweisen, aber nicht in der Pigmentzelle. *Tryptophan 2,3-dioxygenase* hingegen wird nur in der Pigmentzelle und zu einem späten Zeitpunkt der Metamorphose in der Photorezeptorzelle des Adultauges exprimiert. Letztere exprimiert also beide Pigmentgene, die Photorezeptorzelle des Larvalauges nur eines und zwar ein anderes als die Pigmentzelle. Bei *P. dumerilii* exprimieren die Photorezeptorzellen der Adultaugen ebenfalls beide Pigmentgene, die Pigmentzelle des Adultauges nur *Sepiapterinreduktase* und die Pigmentzelle des Larvalauges nur *Tryptophan 2,3-dioxygenase*. Nach Vopalensky & Kozmik (2009) folgt die Verteilung von abschirmenden Pigmenten im Tierreich weder einer bestimmten Regel noch ist sie mit einem

bestimmten Photorezeptorzelltyp verknüpft. Der Fakt, dass die Pigmentzelle des Larvalauges eines sedentären und eines erranten Polychaeten eindeutig durch die Expression von *Tryptophan 2,3-dioxygenase* angesprochen werden kann und das die Photorezeptorzellen der Adultraugen sowohl *Tryptophan 2,3-dioxygenase* als auch *Sepiapterinreduktase* exprimieren, lässt zumindest für die Anneliden Zweifel daran aufkommen und zeigt, dass die Expression von Pigmentgenen bei diesen Arten doch spezifisch für bestimmte Zelltypen ist. Zudem liegt es nahe für *C. teleta* anzunehmen, dass Ommochrom als abschattendes Pigment Verwendung findet, bedingt durch die Expression des für die Ommochrom-Biosynthese wichtigen Gens *Tryptophan 2,3-dioxygenase*. Die Expression von Pigmentgenen in den Photorezeptorzellen deckt sich zumindest bei den Adultraugen von *P. dumerilii* mit ultrastrukturellen Befunden. Die Photorezeptorzellen weisen hier wie auch bei vielen anderen erranten Polychaeten Pigmentvesikel auf (Rhode 1992; Purschke *et al.* 2006). Die Expression in den Photorezeptorzellen der Larvalaugen und der Adultraugen von *C. teleta* führt offensichtlich nicht zur Bildung von Pigmentvesikeln. Dies kann bedeuten, dass diese Fähigkeit sekundär verloren gegangen ist.

4.3 Evolution der Larval- und Adultraugen der Annelida

Argumente für eine Homologie der Larvalaugen der Annelida sind (i) ihre einheitliche Morphologie als einfach aufgebautes, rhabdomerisches, inverses Pigmentbecherauge, (ii) die exklusive Expression des vesikulären Acetylcholin-Transporters *VACHT* in ihrer Photorezeptorzelle und ihre cholinerge Natur, (iii) die Expression des Pigmentgens *Tryptophan 2,3-dioxygenase* in ihrer Pigmentzelle, (iv) die Abkehr von Gq-alpha-Untereinheiten als Teil der Phototransduktionskaskade in ihrer Photorezeptorzelle sowie (v) die bei *P. dumerilii* bestätigte und bei *C. teleta* wahrscheinliche Funktion bei der Steuerung der Phototaxis.

Argumente für eine Homologie der Adultraugen der Annelida sind (i) ihre grundsätzlich einheitliche Morphologie als multizelluläres, rhabdomerisches everses Auge und ihre Lagebeziehung zum Larvalauge, (ii) die exklusive Expression von Gq-alpha sowie (iii) die bei *C. teleta* vollständige und bei *P. dumerilii* weitestgehend vollständige Expression der Schlüsselmitglieder des RDGN in ihren Photorezeptorzellen.

Widersprüchliche molekulare Marker sind im Vergleich zunächst *Chx10*, *Single-minded* und *Lhx*. Alle drei Gene sind bei *P. dumerilii* larvalaugenspezifisch, bei *C. teleta* jedoch adultraugenspezifisch.

Für die Erklärung der Evolution der unterschiedlichen Zelltypen, welche die Larval- bzw. Adultaugen bilden, gibt es verschiedene Möglichkeiten. Zum einen wäre eine, von den Adultaugen unabhängige (de novo) Entstehung der Larvalaugen denkbar. Allerdings erscheint selbige eher unwahrscheinlich. Die Larval- und Adultaugen liegen bei beiden Arten dicht beieinander und entstehen bei *P. dumerilii* in einem Areal, das die für die Augenentwicklung wichtigen Gene *Otx* und *Prox* exprimiert (Guy 2008), was für eine Duplikation der Augenanlage spricht. Außerdem exprimiert bei *P. dumerilii* nicht nur die Photorezeptorzelle ein Opsin (*Pdu-r-ops3*), sondern auch die Pigmentzelle (*Pdu-r-ops1*). Es müssten also zweimal unabhängig voneinander Opsine in direkt benachbarten Zellen aktiviert worden sein. Die Präsenz von Opsin in der Pigmentzelle ist schwer zu erklären. Einen anderen Erklärungsansatz liefert die Hypothese, dass neue Zelltypen in der Evolution häufig durch Duplikation vorhandener Zelltypen mit anschließender Diversifikation der neuen Schwesterzelltypen entstehen (Arendt 2003, 2008). Dieser Ansatz wurde auch von anderen Autoren aufgegriffen und mit seiner Hilfe kann die Evolution verschiedener Zelltypen gut erklärt werden (Tessmar-Raible *et al.* 2008; Jékely 2011; Richter *et al.* 2011). Während der Diversifikation von Zelltypen gibt es einerseits die Möglichkeit, dass Zellen immer komplexer werden und ihren Funktionsumfang ausweiten, was sich auch auf ihren molekularen Fingerabdruck auswirkt. Andererseits besteht die Möglichkeit, dass die Zellen ursprünglich viele Funktionen ausgeübt haben, einige davon im Zuge einer Spezialisierung verlieren und ihr ursprünglich breiter molekularer Fingerabdruck eingeschränkt wird. Mit diesem Ansatz lassen sich die erhobenen Daten gut erklären. Indizien für eine Multifunktionalität der Zellen in einem gemeinsamen Vorfahren von *P. dumerilii* und *C. teleta* liefern heute die Expression eines r-Opsins (*Pdu-r-ops1*) in der Pigmentzelle des Larvalauges von *P. dumerilii*, die sogar ein Axon besitzt (pers. Kommunikation Detlev Arendt) sowie die Expression der Pigmentgene *Sepiapterinreduktase* und *Tryptophan 2,3-dioxygenase* in den Photorezeptorzellen der Adultaugen von *C. teleta* und *P. dumerilii*. Bei letzterem enthält die Photorezeptorzelle des Adultauges sogar noch Pigmentgranula, die bei *C. teleta* offensichtlich nicht mehr gebildet werden.

Folgendes Szenario bietet sich an. Ursprünglich lag ein – mindestens zweizelliges – Auge vor, dessen multifunktionale Zellen Opsine und Pigmentgene exprimierten und sowohl über die sensorischen Eigenschaften einer rhabdomerischen Photorezeptorzelle als auch über die abschattenden Eigenschaften einer Pigmentzelle verfügten. Dieses Auge wird in der Stammlinie der Annelida früh in der Ontogenese angelegt, überdauert die Metamorphose und persistiert im Adultus. Ein solches zweizelliges Auge wird dann in der Stammlinie der Annelida dupliziert, was

die Grundlage für die späteren Larval- und Adultaugen bildet. Die Analyse der Opsinevolution hat gezeigt, dass die beiden r-Opisin-Varianten *r-ops1* und *r-ops3* erst innerhalb der Stammlinie der Annelida aus einem gemeinsamen Vorläufer, im Folgenden *r-ops1/3* genannt, hervorgegangen sind. Die noch multifunktionalen Zellen exprimieren in der Stammlinie der Annelida noch dieses gemeinsame Vorläuferopsin. Selbiges hat sich mit einsetzender Spezialisierung der Zellen zu rhabdomerischen Photorezeptor- und Pigmentzellen dupliziert. Es ist gut denkbar, dass *r-ops1* und *r-ops3* in einigen Zellen über einen gewissen Zeitraum koexprimiert waren. Dafür sprechen neue Daten von G. Jékely, wonach genau das in den Photorezeptorzellen der Adultaugen von *P. dumerilii* geschieht (pers. Kommunikation). In der Photorezeptorzelle der Larvalaugen blieb dann nur *r-ops3* präsent und in der Pigmentzelle *r-ops1*. Bei *C. teleta* fehlt jeweils *r-ops1*, weil dieses Opsin, wie aus der Analyse der Opsinevolution ersichtlich, in der Linie zu Capitellidae und Clitellata verloren ging und nur das Ortholog *Cte-r-ops* zu *Pdu-r-ops3* ist präsent.

Hinsichtlich der genetischen Ausstattung des gemeinsamen Vorläufers der Larval- bzw. Adultaugen von *P. dumerilii* und *C. teleta* neben den Opsinen und den Pigmentgenen wird davon ausgegangen, dass die in dieser Arbeit untersuchten Gene *Chx10*, *Dachshund*, *Eyes absent*, *FVRIamid*, *Gq-alpha*, *Lhx*, *Pax6*, *Single-minded*, *Six* und *VACHT* aktiv waren. Bis auf *VACHT* werden sie alle in den Photorezeptorzellen der Adultaugen von *C. teleta* exprimiert. Dieser Zustand entspricht bis auf die bereits erwähnten Unterschiede (*FVRI*, *Chx10*, *Single-minded*, *Lhx*, *Pax6*) der Situation bei *P. dumerilii*.

Es sollte in diesem Zusammenhang auch festgehalten werden, dass die Definitionen von Larval- bzw. Adultaugen evtl. einer Überarbeitung bedürfen. Wie sich am Beispiel von *C. teleta* gezeigt hat – sowohl das Larval- als auch das Adultauge werden hier früh im Larvenstadium angelegt – ist z. B. der Zeitpunkt der Entstehung als Kriterium durchaus fragwürdig. Anhand der in dieser Arbeit vorgelegten Daten ist es vorstellbar, dass z. B. für die Definition eines Larvalauges neben der Morphologie Kriterien wie (i) die Expression des vesikulären Acetylcholin-Transporters *VACHT* in der Photorezeptorzelle, (ii) die Expression des Pigmentgens *Tryptophan 2,3-dioxygenase* in der Pigmentzelle oder (iii) die Abkehr von Gq-alpha-Untereinheiten als Teil der Phototransduktionskaskade in der Photorezeptorzelle berücksichtigt werden sollten.

Den zusammengetragenen Argumenten zufolge kann eine Homologie der Larvalaugen der Anneliden sowie der Photorezeptorzellen der Adultaugen der Anneliden angenommen werden. Zudem gehen die Larval- und Adultaugen der Anneliden auf einen gemeinsamen Vorläufer

zurück. Die Annahme, dass es in der Stammlinie der Annelida nur ein Auge gab, welches früh in der Ontogenese entsteht und in die Adultorganisation eingeht wird auch dadurch gestützt, dass dies bei den Molluska der Fall ist (Land 1984; Messenger 1981; Rosen *et al.* 1978; Rosen *et al.* 1979). Die Frage, welcher Augentyp der Annelida mit dem der Molluska homolog ist, stellt sich demnach nicht mehr. Vielmehr sprechen die vorliegenden Daten dafür, dass der gemeinsame Vorläufer der Larval- und Adultaugen dem Auge der Mollusken homolog ist. Vergleichende molekulare Daten von Mollusken werden wertvoll sein, um diese These weiter zu testen.

Zusätzlich ist es außerordentlich interessant, dass mikrovilläre Phaosomen des Clitellaten *H. robusta* sowohl ein r-Opisin, welches eng mit dem Opisin von *C. teleta* (*Cte-r-ops*) verwandt ist als auch eine Gq-alpha-Untereinheit exprimieren (pers. Kommunikation Günter Purschke und Carmen Döring). Die Struktur der Phaosomen ähnelt derjenigen der Photorezeptorzelle des Adultauges von *C. teleta*. Seit Langem wird darüber diskutiert, ob es sich bei den rhabdomerischen Phaosomen der Clitellaten um eine unabhängig evolvierte Form von Photorezeptorzelltypen handelt (Purschke 2003) oder ob sie sich auf einen, in den Polychaeten vorhandenen Zelltyp zurückführen lassen. Angesichts der hier gezeigten nahen Verwandtschaft der r-Opsine ist eine enge Verwandtschaft der rhabdomerischen Phaosomen der Clitellaten mit den rhabdomerischen Photorezeptorzellen der Adultaugen der Anneliden sehr wahrscheinlich.

4.4 Ciliäre Photorezeptorzellen der Annelida

Im Gegensatz zu cerebralen Augen mit vornehmlich rhabdomerischen Photorezeptorzellen sind ciliäre Photorezeptorzellen innerhalb der Annelida nicht so weit verbreitet und finden sich z. T. in ektopischen Augen und sind häufig durch die nicht vorhandene Pigmentierung schwerer als solche auszumachen (Purschke *et al.* 2006).

4.4.1 Ciliäre Phaosomen bei *C. teleta*

Die festgestellte enge Kopplung des *Cte-ops2*- und des Tubulin-Signals deckt sich gut mit der Beobachtung, dass beide Signale im Verlauf der Ontogenese von einer anterioren mittigen Position posterior und dorsal verlagert werden. Auch wenn nur zwei *Cte-ops2* positive Zellen nachzuweisen sind, sprechen die Daten für eine Expression von *Cte-ops2* durch einen Teil der ciliären Sinneszellen. Eine direkte Überlappung der *Cte-ops2*- und Tubulin-Signale ist nicht zu erwarten, denn die für den Nachweise der Expression von *Cte-ops2* erforderliche mRNA ist nicht

in den Cilien selbst, sondern im zugehörigen Zellkörper und in der dünnen Zellschicht, welche die Vakuole umgibt anzunehmen, die beide raues Endoplasmatisches Reticulum enthalten, an dem die Translation von mRNA stattfindet. Die Umhüllung des Tubulin-Signals durch das *Cteops2*-Signal ist daher kongruent zur beobachteten Lage der Cilien in einer intrazellulären Vakuole. Die Expression eines Opsins weist diese Zellen als Photorezeptorzellen aus und die hohe Anzahl an Cilien liefert die strukturelle Voraussetzung für eine effiziente Detektion von Licht. Da die Zellen ihre Cilien in intrazelluläre Vakuolen entsenden, handelt es sich um ciliäre Phaosomen. Damit ist einerseits nachgewiesen, dass die auf Antikörperfärbungen basierende Vermutung von Müller (1999), dass es sich bei diesen Strukturen um ciliäre Sinnesorgane handelt, richtig war und dass es sich dabei um ciliäre Phaosomen handelt. Andererseits sind die Daten auch für phylogenetische Fragen interessant. Phaosomen sind generell bei Polychaeten sehr selten (Purschke *et al.* 2006) und zuletzt z. B. bei dem Polychaeten *Scoloplos armiger* (Wilkins & Purschke 2009) nachgewiesen, die denen von *C. teleta* sehr ähneln. Die Orbiniidae und damit auch *S. armiger* wurden lange den sedentären Polychaeten zugeordnet und erst neue phylogenomische Analysen platzieren sie innerhalb der erranten Polychaeten (Struck *et al.* 2011). Hier wird nun das erste Beispiel für die Expression eines Opsins in einem Phaosom erbracht und ein Nachweis für ciliäre Phaosomen bei einem sedentären Polychaeten. Es ist also durchaus denkbar, dass derartige Strukturen innerhalb der Anneliden weiter verbreitet sind, als bisher bekannt ist, zumal eine nicht vorhandene Pigmentierung die Suche danach erschwert. Eine engere Verwandtschaft der ciliären Phaosomen von *C. teleta* mit den ciliären Photorezeptorzellen von *P. dumerilii* wirkt aufgrund der Ultrastruktur und der Expression unterschiedlicher Opsine sehr unwahrscheinlich. Bemerkenswert bleibt in diesem Zusammenhang, dass das in den ciliären Phaosomen von *C. teleta* exprimierte Opsin (*Cteops2*) in der Analyse mit anderen r-Opsinen clustert und definitiv kein c-Opsin ist. Allerdings ist das Opsin abgeleitet und seine basale Position könnte auf dem Effekt der long branch attraction beruhen. Für *S. armiger* fehlen Genexpressionsdaten für die Phaosomen. Mit einer Aufklärung der Expressionsmuster phaosomaler Organe könnte die Homologie dieser Organe innerhalb der unterschiedlichen Annelidentaxa geprüft werden.

4.4.2 Ciliäre Photorezeptorzellen bei *M. vesiculosum*

Arendt *et al.* (2004) haben mit ihren Experimenten und dem Fund eines c-Opsins bei *P. dumerilii* (*Pdu-c-ops*) erstmals Hinweise darauf erhalten, dass die ciliären Photorezeptorzellen eines Anneliden homolog zu den ciliären Photorezeptorzellen der Vertebraten sind. Im Rahmen der

vorliegenden Arbeit ist es nun gelungen, ein Ortholog des c-Opsins von *P. dumerilii* bei *M. vesiculosum* (*Mve-c-ops*) und damit von einem weiteren Anneliden zu erhalten. Dieses wird eindeutig in den ektopischen Augen der Branchialkrone bei Adulti von *M. vesiculosum* exprimiert. In der Analyse clustert das Opsin mit dem c-Opsin von *P. dumerilii*, was die evolutive Konservierung von c-Opsin sowohl in erranten als auch in sedentären Polychaeten nachweist. Die Versuche, WMISH-Signale auch bei Larven von *M. vesiculosum* zu erhalten waren nicht eindeutig. In einem Versuch konnten in der Episphäre einer Larve zwei *Mve-c-ops*-exprimierende Zellen identifiziert werden, bei denen es sich möglicherweise um ciliäre Photorezeptorzellen handeln kann, allerdings ließ sich das Ergebnis nicht reproduzieren. Spekulativ bleibt deshalb der Zusammenhang zwischen solchen larvalen Strukturen und den Augen der Branchialkrone.

Die vorliegenden Daten weisen darauf hin, dass innerhalb der Annelida einerseits verschiedene, evolutiv weiter voneinander entfernte Typen von ciliären Photorezeptorzellen existieren. Andererseits kann c-Opsin offensichtlich auch in verschiedenen Funktionszusammenhängen stehen. Bei *P. dumerilii* sind die ciliären Photorezeptorzellen unpigmentiert und ein Zusammenhang mit der circadianen Rhythmik ist durch die Expression von dafür relevanten Genen wie *bmal* wahrscheinlich (Arendt *et al.* 2004). Dieser Funktionszusammenhang ist bei *M. vesiculosum* hingegen fraglich, zumal der Rückzugsreflex wohl unter Beteiligung der Photorezeptorzellen in der Branchialkrone abläuft (Nicol 1950; Krasne & Lawrence 1966). Eine andere schnelle Schutzreaktion wie der Rückzug in die Röhre bei *M. vesiculosum* ist der Schalenschluss von *Pecten* (Molluska). Dort werden Go-Opsin-positive, ciliäre Photorezeptorzellen, die bei Anregung hyperpolarisieren, dafür verantwortlich gemacht (Nasi *et al.* 2000). Eine Hyperpolarisation ist auch für *M. vesiculosum* bekannt (Nilsson 1994). Allerdings wird diese Reaktion bei *M. vesiculosum* offenbar nicht durch ein Go-Opsin ausgelöst, sondern vermutlich durch das hier nachgewiesene c-Opsin. Somit ergibt sich nach den Daten für Brachiopoden von Passamaneck *et al.* (2011) der zweite Hinweis innerhalb der Lophotrochozoa, dass c-Opsin-positive Zellen nicht zwangsläufig in die circadiane Rhythmik involviert sind. Die vorliegenden Daten könnten also als Hinweis auf eine Homologie der ciliären Photorezeptorzellen von *P. dumerilii* und *M. vesiculosum* dienen.

5 Zusammenfassung

Die Wahrnehmung von Licht spielt für viele Tiere eine herausragende Rolle, wobei die zum Einsatz kommenden, lichtsensitiven Strukturen unterschiedlich komplex sein können. Innerhalb der Metazoa können die zentralen Komponenten, die Photorezeptorzellen, in Abhängigkeit von ihrem Aufbau in einen ciliären und einen rhabdomerischen Typ unterschieden werden. Die Entstehung dieser morphologisch unterschiedlichen Typen wurde kontrovers diskutiert und die Interpretationen basierten maßgeblich auf ultrastrukturellen Befunden. Mit dem Aufkommen molekularer Methoden können die Photorezeptorzellen zusätzlich anhand der zelltypspezifischen Expression von Genen charakterisiert werden. So wurde gezeigt, dass sich ciliäre bzw. rhabdomerische Photorezeptorzellen signifikant in ihrem molekularen Fingerabdruck unterscheiden und z. B. verschiedene Typen von Opsinen (c- bzw. r-Opsine) exprimieren. Molekulare Daten können so einen weiterführenden Vergleich von Photorezeptorzellen auch aus entfernt stehenden Organismen ermöglichen. Bei Annelida sind verschiedene Typen von ciliären und rhabdomerischen Photorezeptorzellen beschrieben und ultrastrukturell untersucht. Des Weiteren besitzen Annelida im Unterschied zu anderen Gruppen der Lophotrochozoa distinkte Larval- und Adultaugen, was sie für evolutive Fragestellungen interessant macht. Auf molekularem Niveau wurden Photorezeptorzellen und Augen bisher nur von einem einzigen Vertreter der Annelida untersucht, dem erranten Polychaeten *Platynereis dumerilii*. Das Ziel dieser Arbeit ist deshalb die integrative Charakterisierung von Zelltypen verschiedener lichtsensitiver Organe bei den sedentären Polychaeten *Capitella teleta* und *Megalomma vesiculosum* mit molekularen, ultrastrukturellen und immunohistochemischen Methoden, um Aussagen bezüglich der Existenz von Larval- und Adultaugen in der Stammlinie der Annelida zu ermöglichen. Darüber hinaus soll bei *C. teleta* Hinweisen auf potentiell lichtensitive Strukturen nachgegangen werden, die bisher nur auf Antikörperfärbungen beruhen. Untersuchungen an *M. vesiculosum* sollen zeigen, welcher Bezug zwischen dessen ciliären Photorezeptorzellen und denen anderer Annelida besteht. Da Opsine spezifische Marker für Photorezeptorzellen in unterschiedlichen Taxa darstellen, ist ihre Klonierung die Grundlage für alle weiteren Untersuchungen. Für *C. teleta* können Daten für insgesamt acht Opsine generiert werden. Sieben davon können kloniert werden, wobei mit der Klonierung der Opsine *Cte-ops4* – *Cte-ops8* die ersten Orthologe von Neuropsin bei Protostomia nachgewiesen werden. Für die beiden anderen klonierten Opsine werden im Rahmen dieser Arbeit Expressionsdaten erhoben. Bei dem ersten (*Cte-r-ops*) handelt es sich um ein klares r-Opsin, welches in den rhabdomerischen Photorezeptorzellen der Larval-

und Adultaugen von *C. teleta* exprimiert wird. Diese Photorezeptorzellen von *C. teleta* stehen zunächst im Fokus. Für sie wird ein molekularer Fingerabdruck anhand der Expressionsanalyse von Genen erhoben, welche für die Entwicklung und Funktion von Photorezeptorzellen bedeutend sind. Damit ist die Grundlage für Kolokalisationsanalysen dieses Opsins mit anderen Genen und damit deren Expression in den entsprechenden Photorezeptorzellen gegeben. Durch Übereinstimmungen im Vergleich der erhobenen Daten für *C. teleta* mit denen von *P. dumerilii* wird deutlich, dass die Photorezeptorzellen der Larval- und Adultaugen anhand der Expression von ausgesuchten Genen, ihrer Projektion und Funktion charakterisiert werden können. Daraus ergibt sich für das Larvalauge der Annelida zunächst, dass seine Entwicklung ohne die Aktivität wichtiger Gene (*Six*, *Eyes absent*, *Dachshund*) des konservierten RDGN-Netzwerkes in den Zellen verläuft und es die Phototaxis der Larven steuert. Zusätzlich ist das Larvalauge acetylcholinergischer Natur und seine Pigmentzelle besitzt nur Ommochrom, aber keine Pterine als abschirmende Pigmente. Darüber hinaus greifen die rhabdomerischen Photorezeptorzellen der Larvalaugen im Unterschied zu denen der Adultaugen und zu allen anderen darauf untersuchten r-Opsin exprimierenden Photorezeptorzellen im Tierreich für die Phototransduktion nicht auf Gq-alpha-Untereinheiten zurück. Der molekulare Fingerabdruck der rhabdomerischen Photorezeptorzellen der Adultaugen der Annelida ist ursprünglicher, beinhaltet er doch u. a. alle untersuchten Gene des RDGN-Netzwerkes sowie Gq-alpha. Eine Verwandtschaft dieser Zellen mit den rhabdomerischen Phaosomen der Clitellata ist wahrscheinlich, bedingt durch die ihnen gemeine Expression von r-Opsin und Gq-alpha neben spezifischen morphologischen Ähnlichkeiten. Dies unterstützt auch neueste phylogenomische Analysen, die für eine nahe Verwandtschaft von Clitellata und Capitellidae sprechen. Die zusammengetragenen Befunde weisen auf eine Homologie der Larvalaugen der Annelida sowie der Photorezeptorzellen der Adultaugen der Annelida hin. Die Larval- und Adultaugen gehen in dieser Interpretation auf einen multifunktionalen Vorläufer zurück, dessen Zellen sowohl Opsin als auch abschirmendes Pigment aufweisen. Die vorliegenden Daten sprechen dafür, dass dieser gemeinsame Vorläufer der Larval- und Adultaugen der Annelida dem Auge der Mollusken homolog ist. Durch den integrativen Ansatz wird außerdem gezeigt, dass *C. teleta* ciliäre Phaosomen besitzt. Die vorliegende Arbeit liefert dabei mit *Cte-ops2* die ersten Opsinexpressionsdaten für solche Strukturen und weist sie als Photorezeptorzellen aus. In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass es sich bei dem betreffenden Opsin nicht um ein c-Opsin handelt, auch wenn die evolutive Herkunft von *Cte-ops2* nicht abschließend zu beurteilen ist. Bedingt durch den Fund eines klaren c-Opsins und dessen Expression in den Augen der Branchialkrone von *M. vesiculosum*

wiederum wird die evolutive Konservierung von c-Opsin in erranten und sedentären Polychaeten nachgewiesen. Die Daten machen dabei deutlich, dass es innerhalb der Annelida verschiedene Typen ciliärer Photorezeptorzellen gibt, diese aber nicht zwangsläufig ein c-Opsin exprimieren und dass c-Opsine in unterschiedlichen Funktionszusammenhängen stehen können.

6 Summary

The perception of light plays an outstanding role for many animals and the underlying light-sensitive structures vary in their complexity. In Metazoa the photoreceptor cells as central components can be distinguished based on their composition in a ciliary and a rhabdomeric type. The origin of those morphologically different types has been the matter of controversial debates and the interpretations were mainly based on ultrastructural data. With the advent of molecular methods an additional characterization of the photoreceptor cells is possible, using the cell-type-specific expression of genes. It was shown that ciliary and rhabdomeric photoreceptor cells differ significantly in their molecular fingerprint and employ different opsins (c- and r-opsins respectively) for instance. In consequence molecular data can facilitate a comparison of photoreceptor cells from distant organisms. Different types of ciliary and rhabdomeric photoreceptor cells have been described and investigated at ultrastructural level in Annelida. Furthermore Annelida possess distinct larval and adult eyes in contrast to other Lophotrochozoa, what makes them interesting for evolutionary questions. So far investigations of photoreceptor cells and eyes on a molecular level in Annelida have only been conducted for one representative, namely the errant polychaete *Platynereis dumerilii*. Hence the aim of this study is the integrative characterization of cell types from different light-sensitive organs in the sedentary polychaetes *Capitella teleta* and *Megalomma vesiculosum* with molecular, ultrastructural and immunohistochemical methods to allow statements regarding larval and adult eyes in the annelid stem-lineage. Beyond that indications for potentially light-sensitive structures in *C. teleta* which so far are only based on antibody stainings are being looked into. Investigations in *M. vesiculosum* deal with the question, which relation there is between its ciliary photoreceptor cells and those of other annelids. Cloning opsins is the groundwork for all further investigations since they have proven to represent specific markers for photoreceptor cells in different taxa. Data for eight opsins can be generated for *C. teleta*. Seven of them can be cloned, in which cloning the opsins *Cte-ops4* – *Cte-ops8* accounts for the first orthologs of Neuropsin in Protostomia. Concerning the two other cloned opsins expression data is collected in this study. The first opsin (*Cte-r-ops*) is a clear r-opsin which is expressed in the rhabdomeric photoreceptor cells of the larval and adult eyes in *C. teleta*. Those photoreceptor cells in *C. teleta* will be focused on initially. A molecular fingerprint is being compiled based on the expression analysis of genes which are important for the development and function of photoreceptor cells. On this basis colocalization analysis of opsins with other genes can be carried out and expression of the latter in the corresponding photoreceptor cells can be validated. Due to congruences in the

comparison of the collected data from *C. teleta* with data from *P. dumerilii* it becomes obvious, that the photoreceptor cells of the larval and adult eyes can be characterized based on the expression patterns of certain genes, their projection and function. The outcome of this concerning the larval eye of the Annelida is, that its development proceeds without the activity of important genes (*Six*, *Eyes absent*, *Dachshund*) belonging to the conserved RDGN-network in the cells themselves and that it mediates larval phototaxis. Moreover the larval eye is of acetylcholinergic nature and its pigment cell features only Ommochrome, but not Pterins as shading pigments. The rhabdomeric photoreceptor cells of the larval eyes furthermore don't deploy Gq-alpha subunits for their phototransduction cascade which is in contrast to the photoreceptor cells of the adult eyes and to those of all investigated and r-opsin expressing photoreceptor cells in the animal kingdom. The molecular fingerprint of the rhabdomeric photoreceptor cells of adult eyes in Annelida is pristine, since it contains all investigated genes of the RDGN-network and Gq-alpha for instance. A closer relationship of those cells with the rhabdomeric phaosomes of the Clitellata is likely due to the common expression of r-opsin and Gq-alpha besides specific morphological similarities. This supports newest phylogenomic analysis which argue for a closer relationship of Clitellata and Capitellidae. The compiled data suggests a homology of the larval eyes of the Annelida as well as the photoreceptor cells of the adult eyes of the Annelida. In this interpretation larval and adult eyes trace back to a multifunctional ancestor, whose cells possess opsin as well as shading pigment. The data suggests a homology of this common ancestor of larval and adult eyes of Annelida and the eye of the Mollusca. Using the integrative approach it is also shown, that *C. teleta* possesses ciliary phaosomes. In this study the first expression data for an opsin (*Cte-ops2*) in these structures is presented and accounts for them being photoreceptor cells. Noteworthy the corresponding opsin is not a c-opsin, though a final judgement on its evolutionary roots is not possible yet. It is obvious that c-opsins have been conserved among errant and sedentary polychaetes due to the discovery of a clear c-opsin and its expression in the eyes of the branchial crown of *M. vesiculosum*. In consequence the provided data shows that different types of ciliary photoreceptor cells exist in Annelida, that they don't necessarily express a c-opsin and that c-opsins can be employed in different functional contexts.

7 Literatur

- Alfonso, A., Grundahl, K., Duerr, J. S., Han, H.-P. & Rand, J. B. (1993) The *Caenorhabditis elegans* unc-17 gene: A putative vesicular acetylcholine transporter. *Science* 261: 617-619
- Arendt, D. & Wittbrodt, J. (2001) Reconstructing the eyes of Urbilateria. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356: 1545-1563
- Arendt, D., Tessmar, K., de Campos-Baptista, M.-I. M., Dorresteijn, A. & Wittbrodt, J. (2002) Development of pigment-cup eyes in the polychaete *Platynereis dumerilii* and evolutionary conservation of larval eyes in Bilateria. *Development* 129: 1143-1154
- Arendt, D. (2003) Evolution of eyes and photoreceptor cell types. *Int J Dev Biol* 47: 563-571
- Arendt, D., Tessmar-Raible, K., Snyman, H., Dorresteijn, A. W. & Wittbrodt, J. (2004) Ciliary photoreceptors with a vertebrate-type opsin in an invertebrate brain. *Science* 306: 869-871
- Arendt, D. (2008) The evolution of cell types in animals: emerging principles from molecular studies. *Nat Rev Genet* 9: 868-882
- Arendt, D., Hausen, H. & Purschke, G. (2009) The “division of labor” model of eye evolution. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 2809-2817
- Arvidsson, U., Riedl, M., Elde, R. & Meister, B. (1997) Vesicular acetylcholine transporter (VACHT) protein: A novel and unique marker for cholinergic neurons in the central and peripheral nervous systems. *J Comp Neurol* 378: 454-467
- Ashery-Padan, R. & Gruss, P. (2001) Pax6 lights-up the way for eye development. *Curr Opin Cell Biol* 13: 706-714
- Bach, I. (2000) The LIM domain: regulation by association. *Mech Dev* 91: 5-17
- Bai, L., Xu, H., Collins, J. F. & Ghishan, F. K. (2001) Molecular and functional analysis of a novel neuronal vesicular glutamate transporter. *J Biol Chem* 276: 36764-36769
- Baker, N. E. & Firth, L. C. (2011) Retinal determination genes function along with cell-cell signals to regulate *Drosophila* eye development. *Bioessays* 33: 538-546
- Bartolomaeus, T. (1992) Ultrastructure of the photoreceptor in the larvae of *Lepidochiton cinereus* (Mollusca, Polyplacophora) and *Lacuna divaricata* (Mollusca, Gastropoda). *Microfauna Mar* 7: 215-236
- Berbari, N. F., O'Connor, A. K., Haycraft, C. J. & Yoder, B. K. (2009) The primary cilium as a complex signaling center. *Curr Biol* 19: R526-R535
- Blackburn, D. C., Conley, K. W., Plachetzki, D. C., Kempler, K., Battelle, B.-A. & Brown, N. L. (2008) Isolation and expression of *Pax6* and *atonal* homologues in the american horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Dev Dyn* 237: 2209-2219

- Bleidorn, C., Podsiadlowski, L. & Bartolomaeus, T. (2006) The complete mitochondrial genome of the orbiniid polychaete *Orbinia latreillii* (Annelida, Orbiniidae) – A novel gene order for Annelida and implications for annelid phylogeny. *Gene* 370: 96-103
- Bleidorn, C., Eeckhaut, I., Podsiadlowski, L., Schult, N., McHugh, D., Halanych, K. M., Milinkovitch, M. C. & Tiedemann, R. (2007) Mitochondrial genome and nuclear sequence data support Myzostomida as part of the annelid radiation. *Mol Biol Evol* 24: 1690-1701
- Bleidorn, C., Podsiadlowski, L., Zhong, M., Eeckhaut, I., Hartmann, S., Halanych, K. M. & Tiedemann, R. (2009) On the phylogenetic position of Myzostomida: can 77 genes get it wrong? *BMC Evol Biol* 9: 150
- Brandenburger, J. L. & Eakin, R. M. (1981) Fine structure of ocelli in larvae of an Archiannelid, *Polygordius cf. appendiculatus*. *Zoomorphology* 99: 23-36
- Callaerts, P., Munoz-Marmol, A. M., Glardon, S., Castillo, E., Sun, H., Li, W.-H., Gehring, W. J. & Salo, E. (1999) Isolation and expression of a *Pax-6* gene in the regenerating and intact Planarian *Dugesia (G) tigrina*. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 558-563
- Chen, R., Amoui, M., Zhang, Z. & Mardon, G. (1997) Dachshund and eyes absent proteins form a complex and function synergistically to induce ectopic eye development in *Drosophila*. *Cell* 91: 893-903
- Chen, C.-M. A. & Cepko C. L. (2000) Expression of *Chx10* and *Chx10-1* in the developing chicken retina. *Mech Dev* 90: 293-297
- Cheyette, B. N. R., Green, P. J., Martin, K., Garren, H., Hartenstein, V. & Zipursky, S. L. (1994) The *Drosophila sine oculis* locus encodes a homeodomain-containing protein required for the development of the entire visual system. *Neuron* 12: 977-996
- Choe, H.-W., Park, J. H., Kim, Y. J. & Ernst, O. P. (2011) Transmembrane signaling by GPCRs: insight from rhodopsin and opsin structures. *Neuropharmacology* 60: 52-57
- Clark, A. M., Yun, S., Veien, E. S., Wu, Y. Y., Chow, R. L., Dorsky, R. I. & Levine E. M. (2008) Negative regulations of *Vsx1* by its paralog *Chx10/Vsx2* is conserved in the vertebrate retina. *Brain Res* 1192: 99-113
- Crews, S. T. (1998) Control of cell lineage-specific development and transcription by bHLH-PAS proteins. *Genes Dev* 12: 607-620
- Crews, S. T. & Fan, C.-M. (1999) Remembrance of things PAS: regulation of development by bHLH-PAS proteins. *Curr Opin Genet Dev* 9: 580-587
- Coumailleau, P., Bollérot, K., Lecomte, C. & Angelier, N. (2003) *Xenopus* single-minded (xSim) is a nuclear factor allowing nuclear translocation of its cytoplasmic partner xArnt. *Exp Cell Res* 287: 237-248
- Coumailleau, P. & Duprez, D. (2009) Sim1 and Sim2 expression during chick and mouse limb development. *Int J Dev Biol* 53: 149-157

- Davis, R. J., Shen, W., Heanue, T. A. & Mardon, G. (1999) Mouse *Dach*, a homologue of *Drosophila dachshund*, is expressed in the developing retina, brain and limbs. *Dev Genes Evol* 209: 526-536
- Diaz, N. N. & Sprecher, S. G. (2011) Photoreceptors: unconventional ways of seeing. *Curr Biol* 21: R25-R27
- Diaz-Miranda, L., de Motta, G. E. & Garcia-Arrarás, J. E. (1991) Localization of neuropeptides in the nervous system of the marine annelid *Sabellastarte magnifica*. *Cell Tissue Res* 266: 209-217
- Eakin, R. M. (1963) Lines of evolution of photoreceptors. In: Mazia, D. & Tyler, A. (eds.): *General physiology of cell specialization*. McGraw-Hill, New York, pp. 393-425
- Eakin, R. M. (1968) Evolution of photoreceptors. In: Dobzhansky, T., Knecht, M. K. & Steere, W. C. (eds.): *Evolutionary biology*. Appleton-Century-Crofts, New York, pp. 194-242
- Eakin, R. M. (1979) Evolutionary significance of photoreceptors: in retrospect. *Amer Zool* 19: 647-653
- Eakin, R. M. (1982) Continuity and diversity in photoreceptors. In: Westfall, J. (ed.): *Visual cells in evolution*. Raven Press, New York, pp. 91-105
- Eakin, R. M. & Hermans, C. O. (1988) Eyes. *Microfauna Mar* 4: 135-156
- Fain, G. L., Hardie, R. & Laughlin, S. B. (2010) Phototransduction and the evolution of photoreceptors. *Curr Biol* 20: R114-R124
- Farfán, C., Shigeno, S., Nödl, M.-T. & de Couet, H. G. (2009) Developmental expression of *apterous/Lhx2/9* in the sepiolid squid *Euprymna scolopes* supports an ancestral role in neural development. *Evol Dev* 11: 354-362
- Fernald, R. D. (2000) Evolution of eyes. *Curr Opin Neurobiol* 10: 444-450
- Fernald, R. D. (2004) Evolving eyes. *Int J Dev Biol* 48: 701-705
- Fernald, R. D. (2006) Casting a genetic light on the evolution of eyes. *Science* 313: 1914-1918
- Firth, L. C. & Baker, N. E. (2009) Retinal determination genes as targets and possible effectors of extracellular signals. *Dev Biol* 327: 366-375
- Forouhar, F., Anderson, J. L. R., Mowat, C. G., Vorobiev, S. M., Hussain, A., Abashidze, M., Bruckmann, C., Thackray, S. J., Seetharaman, J., Tucker, T., Xiao, R., Ma, L.-C., Zhao, L., Acton, T. B., Montelione, G. T., Chapman, S. K. & Tong, L. (2007) Molecular insights into substrate recognition and catalysis by tryptophane 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 473-478
- Friedrich, M. (2006) Ancient mechanisms of visual sense organ development based on comparison of the gene network controlling larval eye, ocellus and compound eye specification in *Drosophila*. *Arthropod Struct Dev* 35: 357-378

- Fuzeau-Braesch, S. (1972) Pigments and color changes. *Annu Rev Entomol* 17: 403-424
- Galliot, B., de Vargas, C. & Miller, D. (1999) Evolution of homeobox genes: Q₅₀ Paired-like genes founded the Paired class. *Dev Genes Evol* 209: 186-197
- Grassle, J. P. & Grassle, J. F. (1976) Sibling species in the marine pollution indicator *Capitella* (Polychaeta). *Science* 192: 567-569.
- Gehring, W. J. & Ikeo, K. (1999) Pax 6: mastering eye morphogenesis and eye evolution. *Trends Genet* 15: 371-377
- Gehring, W. J. & Seimiya, M. (2010) Eye evolution and the origin of Darwin's eye prototype. *Ital J Zool* 77: 124-136
- Glardon, S., Holland, L. Z., Gehring, W. J. & Holland N. D. (1998) Isolation and developmental expression of the amphioxus *Pax6*-gene (*AmphiPax-6*): insights into eye and photoreceptor evolution. *Development* 125: 2701-2710
- Gu, Y.-Z., Hogenesch, J. B. & Bradfield, C. A. (2000) The PAS superfamily: sensors of environmental and developmental signals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40: 519-561
- Guy, K. (2008) Development and molecular characterization of adult and larval eyes in *Platynereis dumerilii* (Polychaeta, Annelida, Lophotrochozoa). Diss. Univ. Heidelberg, 133pp
- Hafner, G. S., Tokarski, T. R. & Kipp, J. (1992) Localization of actin in the retina of the crayfish *Procambarus clarkii*. *J Neurocytol* 21: 94-104
- Han, Q., Calvo, E., Marinotti, O., Fang, J., Rizzi, M., James, A. A. & Li, J. (2003) Analysis of the wild-type and mutant genes encoding the enzyme kynurenine monooxygenase of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol* 12: 483-490
- Hankins, M. W., Peirson, S. N. & Foster, R. G. (2008) Melanopsin: an exciting photopigment. *Trends Neurosci* 31: 27-36
- Hausen, H. (2007) Ultrastructure of presumptive light sensitive ciliary organs in larvae of Poecilochaetidae, Trochochaetidae, Spionidae, Magelonidae (Annelida) and its phylogenetic significance. *Zoomorphology* 126: 185-201
- Hay-Schmidt, A. (2000) The evolution of the serotonergic nervous system. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 267: 1071-1079
- Herbert, Z., Pollák, E., Zougman, A., Boros, A., Kapan, N. & Molnár, L. (2009) Identification of novel neuropeptides in the ventral nerve cord ganglia and their targets in an annelid worm, *Eisenia fetida*. *J Comp Neurol* 514: 415-432
- Hill, A., Boll, W., Ries, C., Warner, L., Osswald, M., Hill, M. & Noll, M. (2010) Origin of Pax and Six gene families in sponges: Single *PaxB* and *Six1/2* orthologs in *Chalinula loosanoffi*. *Dev Biol* 343: 106-123
- Hobert, O. & Westphal, H. (2000) Functions of LIM-homeobox genes. *Trends Genet* 16: 75-83

- Holland, P. W. H., Booth, H. A. F. & Bruford, E. A. (2007) Classification and nomenclature of all human homeobox genes. *BMC Biol* 5: 47
- Jékely, G. & Arendt, D. (2007) Cellular resolution expression profiling using confocal detection of NBT/BCIP precipitate by reflection microscopy. *Biotechniques* 42: 751-755
- Jékely, G., Colombelli, J., Hausen, H., Guy, K., Stelzer, E., Nédélec, F. & Arendt, D. (2008) Mechanism of phototaxis in marine zooplankton. *Nature* 456: 395-399
- Jékely, G. (2011) Origin and early evolution of neural circuits for the control of ciliary locomotion. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 278: 914-922
- Jemc, J. & Rebay, I. (2006) Targeting *Drosophila* eye development. *Genome Biol* 7: 226
- Jemc, J. & Rebay, I. (2007) The eyes absent family of phosphotyrosine phosphatases: properties and roles in developmental regulation of transcription. *Annu Rev Biochem* 76: 513-538
- Kawakami, K., Sato, S., Ozaki, H. & Ikeda, K. (2000) *Six* family genes – structure and function as transcription factors and their role in development. *Bioessays* 22: 616-626
- Kerneis, A. (1975) Etude comparée d'organes photorécepteurs de Sabellidae (Annélides Polychètes). *J Ultrastruct Res* 53: 164-179
- Kiss, T. (2011) Diversity and abundance: The basic properties of neuropeptide action in molluscs. *Gen Comp Endocrinol* 172: 10-14
- Kojima, D., Terakita, A., Ishikawa, T., Tsukahara, Y., Maeda, A. & Shichida, Y. (1997) A novel G_o-mediated phototransduction cascade in scallop visual cells. *J Biol Chem* 272: 22979-22982
- Koyanagi, M., Terakita, A., Kubokawa, K. & Shichida, Y. (2002) Amphioxus homologs of Go-coupled rhodopsin and peropsin having 11-cis- and all-trans-retinals as their chromophores. *FEBS Lett* 531: 525-528
- Koyanagi, M., Kubokawa, K., Tsukamoto, H., Shichida, Y. & Terakita, A. (2005) Cephalochordate melanopsin: evolutionary linkage between invertebrate visual cells and vertebrate photosensitive retinal ganglion cells. *Curr Biol* 15: 1065-1069
- Koyanagi, M., Nagata, T., Katoh, K., Yamashita, S. & Tokunaga, F. (2008a) Molecular evolution of arthropod color vision deduced from multiple opsin genes of jumping spiders. *J Mol Evol* 66: 130-137
- Koyanagi, M. and A. Terakita (2008b). Gq-coupled Rhodopsin subfamily composed of Invertebrate visual pigment and Melanopsin. *Photochem Photobio* 84: 1024-1030.
- Koyanagi, M., Takano, K., Tsukamoto, H., Ohtsu, K., Tokunaga, F. & Terakita, A. (2008c) Jellyfish vision starts with cAMP signaling mediated by opsin-G_s cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 15576-15580
- Kozmik, Z. (2005) Pax genes in eye development and evolution. *Curr Opin Genet Dev* 15: 430-438

- Kozmik, Z. (2008) The role of Pax genes in eye evolution. *Brain Res Bull* 75: 335-339
- Kozmik, Z., Ruzickova, J., Jonasova, K., Matsumoto, Y., Vopalensky, P., Kozmikova, I., Strnad, H., Kawamura, S., Piatigorsky, J., Paces, V. & Vlcek, C. (2008) Assembly of the cnidarian camera-type eye from vertebrate-like components. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 8989-8993
- Krasne, F. B. & Lawrence, P. A. (1966) Structure of the photoreceptors in the compound eyespots of *Branchiomma vesiculosum*. *J Cell Sci* 1: 239-248
- Kumar, J. P. (2009) The molecular circuitry governing retinal determination. *Biochim Biophys Acta* 1789: 306-314
- Kumbalasisiri, T. & Provencio, I. (2005) Melanopsin and other novel mammalian opsins. *Exp Eye Res* 81: 368-375
- Kusakabe, T., Kusakabe, R., Kawakami, I., Satou, Y., Satoh, N. & Tsuda, M. (2001) *Ci-opsin1*, a vertebrate-type opsin gene, expressed in the larval ocellus of the ascidian *Ciona intestinalis*. *FEBS Lett* 506: 69-72
- Kusakabe, T. & Tsuda, M. (2007) Photoreceptive Systems in Ascidians. *Photochem Photobiol* 83: 248-252
- Lacalli, T. (2004) Light on ancient photoreceptors. *Nature* 432: 454-455
- Lamb, T. D., Arendt, D. & Collin, S. P. (2009) The evolution of phototransduction and eyes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 2791-2793
- Land, M. F. (1984) Molluscs. In Ali, M. A. (ed.): *Photoreception and vision in invertebrates*, pp. 699-725. New York, Plenum Press
- Land, M. F. (2005) The optical structures of animal eyes. *Curr Biol* R319-R323
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J. & Higgins, D. G. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948
- Lefebvre, C. & Salzet, M. (2003) Annelid neuroimmune system. *Curr Pharm Design* 9: 149-158
- Liang, L. & Sandell, H. (2008) Focus on molecules: Homeobox protein Chx10. *Exp Eye Res* 86: 541-542
- Linzen, Bernt (1967) Zur Biochemie der Ommochrome. *Naturwissenschaften* 11: 259-267
- Lodish, H. F., Baltimore, D., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Darnell, J. (1995) *Molecular Cell Biology*. New York: W. H. Freeman and Company
- Loosli, F., Kmita-Cunisse, M. & Gehring, W. J. (1996) Isolation of a *Pax-6* homolog from the ribbonworm *Lineus sanguineus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 2658-2663

- Ma, Y., Certel, K., Gao, Y., Niemitz, E., Mosher, J., Mukherjee, A., Mutsuddi, M., Huseinovic, N., Crews, S. T., Johnson, W. A. & Nambu, J. R. (2000) Functional interactions between *Drosophila* bHLH/PAS, Sox, and POU transcription factors regulate CNS midline expression of the *slit* gene. *J Neurosci* 20: 4596-4605
- Mardon, G., Solomon, N. M. & Rubin, G. M. (1994) *dachshund* encodes a nuclear protein required for normal eye and leg development in *Drosophila*. *Development* 120: 3473-3486
- Marquardt, T., Ashery-Padan, R., Andrejewski, N., Scardigli, R., Guillemot, F. & Gruss, P. (2001) Pax6 is required for the multipotent state of retinal progenitor cells. *Cell* 105: 43-55
- Matsui, S., Seidou, M., Uchiyama, I., Sekiya, N., Hiraki, K., Yoshihara, K. & Kito, Y. (1988) 4-Hydroxyretinal, a new visual pigment chromophore found in the bioluminescent squid, *Watasenia scintillans*. *Biochim Biophys Acta* 966: 370-374
- Matsushita, A., Yoshikawa, T., Okano, T., Kasahara, T. & Fukada, Y. (2000) Colocalization of pinopsin with two types of G-protein α -subunits in the chicken pineal gland. *Cell Tissue Res* 299: 245-251
- Messenger, J. B. (1981) Comparative physiology of vision in mollusks. In Autrum, H. (ed.): *Handbook of sensory physiology*. Vol. 7. New York, Springer Verlag
- Milligan, G. & Kostenis (2006) Heterotrimeric G-proteins: a short history. *Br J Pharmacol* 147: S46-S55
- Miyako-Shimazaki, Y., Shimazaki, Y., Ohtsu, K. & Yamamoto, M. (1999) Localization of a visual Gq protein in the photoreceptors of a polychaete, *Perinereis brevicirris* (Annelida). *Cell Tissue Res* 296: 427-431
- Müller, M. C. M (1999): *Das Nervensystem der Polychaeten: Immunhistochemische Untersuchungen an ausgewählten Taxa*. Diss. Univ. Osnabrück, 402pp.
- Müller, M. C. M (2006) Polychaete nervous systems: ground pattern and variations – cLS microscopy and the importance of novel characteristics in phylogenetic analysis. *Integr Comp Biol* 46: 125-133
- Nambu, J. R., Lewis, J. O., Wharton Jr., K. A. & Crews, S. T. (1991) The *Drosophila single-minded* gene encodes a helix-loop-helix protein that acts as a master regulator of CNS midline development. *Cell* 67: 1157-1167
- Nasi, E., del Pilar Gomez, M. & Payne, R. (2000). Phototransduction mechanisms in microvillar and ciliary photoreceptors of invertebrates. In: Stavenga, D. G., DeGrip, W. J. & Pugh Jr, E. N. (eds.): *Molecular mechanisms in visual transduction*. *Handbook of Biological Physics*, vol. 3, pp. 389-448. Amsterdam, Elsevier.
- Nicol, J. A. C. (1950) Responses of *Branchiommata vesiculosum* (Montagu) to photic stimulation. *J Mar Biol Assoc UK* 29: 303-320
- Nilsson, D.-E. (1994) Eyes as optical alarm systems in fan worms and ark clams. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 346: 195-212

- Nilsson, D.-E. (2004) Eye evolution: a question of genetic promiscuity. *Curr Opin Neurobiol* 14: 407-414
- Nilsson, D.-E. (2009) The evolution of eyes and visually guided behaviour. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 2833-2847
- Oka, Y. & Korsching, S. I. (2009) The fifth element in animal G α protein evolution. *Commun Integr Biol* 2: 227-229
- Panda, S., Nayak, S. K., Campo, B., Walker, J. R., Hogenesch, J. B. & Jegla, T. (2005) Illumination of the Melanopsin signaling pathway. *Science* 307: 600-604
- Pappu, K. S. & Mardon, G. (2004) Genetic control of retinal specification and determination in *Drosophila*. *Int J Dev Biol* 48: 913-924
- Pappu, K. S., Ostrin, E. J., Middlebrooks, B. W., Sili, B. T., Chen, R., Atkins, M. R., Gibbs, R. & Mardon, G. (2005) Dual regulation and redundant function of two eye-specific enhancers of the *Drosophila* retinal determination gene *dachshund*. *Development* 132: 2895-2905
- Passamaneck, Y. J., Furchheim, N., Hejzol, A., Martindale, M. Q. & Lüter, C. (2011) Ciliary photoreceptors in the cerebral eyes of a protostome larva. *EvoDevo* 2: 6
- Pichaud, F. & Desplan, C. (2002) Pax genes and eye organogenesis. *Curr Opin Genet Dev* 12: 430-434
- Pielage, J., Steffes, G., Lau, D. C., Parente, B. A., Crews, S. T., Strauss, R. & Klämbt, C. (2002) Novel behavioral and developmental defects associated with *Drosophila single-minded*. *Dev Biol* 249: 283-299
- Pineda, D., Rossi, L., Batistoni, R., Salvetti, A., Marsal, M., Gremigni, V., Falleni, A., Gonzalez-Linares, J., Deri, P. & Saló, E. (2002) The genetic network of prototypic planarian eye regeneration is Pax6 independent. *Development* 129: 1423-1434
- Plachetzki, D. C., Serb, J. M. & Oakley, T. H. (2005) New insights into the evolutionary history of photoreceptor cells. *Trends Ecol Evol* 20: 465-467
- Plachetzki, D. C., Degnan, B. M. & Oakley, T. H. (2007) The origins of novel protein interactions during animal opsin evolution. *PLoS ONE* 2: e1054
- Plachetzki, D. C., Fong, C. R. & Oakley, T. H. (2010) The evolution of phototransduction from an ancestral cyclic nucleotide gated pathway. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 277: 1963-1969
- Porter, F. D., Drago, J., Xu, Y., Cheema, S. S., Wassif, C., Huang, S.-P., Lee, E., Grinberg, A., Massalas, J. S., Bodine, D., Alt, F. & Westphal, H. (1997) *Lhx2*, a LIM homeobox gene, is required for eye, forebrain, and definitive erythrocyte development. *Development* 124: 2935-2944
- Provencio, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P. & Rollag, M. D. (1998) Melanopsin: An opsin in melanophores, brain and eye. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 340-345

- Purschke, G. & Müller, M. C. (1996) Structure of prostomial photoreceptor-like sense organs in *Protodriloides* species (Polychaeta, Protodrilida). *Cah Biol Mar* 37: 205-219
- Purschke, G. & Hessling, R. (2002) Analysis of the central nervous system and sense organs in *Potamodrilus fluviatilis* (Annelida: Potamodrilidae). *Zool Anz* 241: 19-35
- Purschke, G. (2003) Ultrastructure of phaesomous photoreceptors in *Stylaria lacustris* (Naididae, 'Ologochaeta', Clitellata) and their importance for the position of the Clitellata in the phylogenetic system of the Annelida. *J Zool Syst Evol Res* 41: 100-108
- Purschke, G. (2005) Sense organs in polychaetes (Annelida). *Hydrobiologia* 535/536: 53-78
- Purschke, G., Arendt, D., Hausen, H. & Müller, M. C. M. (2006) Photoreceptor cells and eyes in Annelida. *Arthropod Struct Dev* 35: 211-230
- Quigley, I. K., Schmerer, M. W. & Shankland, M. (2010) A member of the Six gene family promotes the specification of P cell fates in the O/P equivalence group of the leech *Helobdella*. *Dev Biol* 344: 319-330
- Raible, F., Tessmar-Raible, K., Arboleda, E., Kaller, T., Bork, P., Arendt, D. & Arnone M. I. (2006) Opsins and clusters of sensory G-protein-coupled receptors in the sea urchin genome. *Dev Biol* 300: 461-475
- Rhode, B. (1992) Development and differentiation of the eye in *Platynereis dumerilii* (Annelida, Polychaeta). *J Morphol* 212: 71-85
- Rhode, B. (1993) Larval and adult eyes in *Capitella spec. I* (Annelida, Polychaeta). *J Morphol* 217: 327-335
- Richter, S., Loesel, R., Purschke, G., Schmidt-Rhaesa, A., Scholtz, G., Stach, T., Vogt, L., Wanninger, A., Brenneis, G., Doering, C., Faller, S., Fritsch, M., Grobe, P., Heuer, C. M., Kaul, S., Möller, O. S., Müller, C. H. G., Rieger, V., Rothe, B. H., Stegner, M. E. J. & Harzsch, S. (2010) Invertebrate neurophylogeny: suggested terms and definitions for a neuroanatomical glossary. *Front Zool* 7: 29
- Rogan, S. C. & Roth, B. L. (2011) Remote control of neuronal signaling. *Pharmacol Rev* 63: 291-315
- Rosen, M. D., Stasek, C. R. & Hermans, C. O. (1978) The ultrastructure and evolutionary significance of the cerebral ocelli of *Mytilus edulis*, the bay mussel. *The Veliger* 21: 10-18
- Rosen, M. D., Stasek, C. R. & Hermans, C. O. (1979) The ultrastructure and evolutionary significance of the ocelli in the larva of *Katharina tunicata* (Mollusca: Polyplacophora). *The Veliger* 22: 173-178
- Rouse, G. W. & Fauchald, K. (1997) Cladistics and polychaetes. *Zool Scr* 26: 139-204
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Sawada, H., Nakagoshi, M., Mase, K. & Yamamoto, T. (2000) Occurrence of ommochrome-containing pigment granules in the central nervous system of the silkworm, *Bombyx mori*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 125: 421-428
- Scheerer, P., Park, J. H., Hildebrand, P. W., Kim, Y. J., Krauß, N., Choe, H.-W., Hofmann, K. P. & Ernst, O. P. (2008) Crystal structure of opsin in its G-protein-interacting conformation. *Nature* 455: 497-502
- Schlosser, G., Awtry, T., Brugmann, S. A., Jensen, E. D., Neilson, K., Ruan, G., Stammer, A., Voelker, D., Yan, B., Zhang, C., Klymkowsky, M. W. & Moody, S. A. (2008) *Eyal* and *Six1* promote neurogenesis in the cranial placodes in a *SoxB1*-dependent fashion. *Dev Biol* 320: 199-214
- Schneitz, K., Spielmann, P. & Noll, M. (1993) Molecular genetics of *aristaless*, a *prd*-type homeo box gene involved in the morphogenesis of proximal and distal pattern elements in a subset of appendages in *Drosophila*. *Genes Dev* 7: 114-129
- Seaver, E. C., Thamm, K. & Hill, S. D. (2005). Growth patterns during segmentation in the two polychaete annelids, *Capitella* sp. I and *Hydroides elegans*: comparisons at distinct life history stages. *Evol Dev* 7: 312-326
- Shichida, Y. & Matsuyama, T. (2009) Evolution of opsins and phototransduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 2881-2895
- Shubin, N., Tabin, C. & Carroll, S. (2009) Deep homology and the origins of evolutionary novelty. *Nature* 457: 818-823
- Silver, S. J., Davies, E. L., Doyon, L. & Rebay, I. (2003) Functional dissection of Eyes absent reveals new modes of regulation within the retinal determination gene network. *Mol Cell Biol* 23: 5989-5999
- Silver, S. J. & Rebay, I. (2005) Signaling circuitries in development: insights from the retinal determination gene network. *Development* 132: 3-13
- Simpson, T. I. & Price, D. J. (2002) Pax6; a pleiotropic player in development. *Bioessays* 24: 1041-1051
- Smith, R. S. (1984) Novel organelle associations in photoreceptors of a serpulid worm. *Tissue Cell* 16: 951-956
- Sopott-Ehlers, B. (1991) Comparative morphology of photoreceptors in free-living plathelminths – a survey. *Hydrobiologia* 227: 231-239
- Sopott-Ehlers, B., Salvenmoser, W., Reiter, D., Rieger, R. M. & Ehlers, U. (2001) Photoreceptors in species of the Macrostomida (Plathelminthes): ultrastructural findings and phylogenetic implications. *Zoomorphology* 121: 1-12
- Srivasta, M., Larroux, C., Lu, D. R., Mohanty, K., Chapman, J., Degnan, B. M. & Rokhsar, D. S. (2010) Early evolution of the LIM homeobox gene family. *BMC Biol* 8: 4

- Struck, T. H., Schult, N., Kusen, T., Hickman, E., Bleidorn, C., McHugh, D. & Halanych, K. M. (2007) Annelid phylogeny and the status of Sipuncula and Echiura. *BMC Evol Biol* 7: 57
- Struck, T. H., Paul, C., Hill, N., Hartmann, S., Hösel, C., Kube, M., Lieb, B., Meyer, A., Tiedemann, R., Purschke, G. & Bleidorn, C. (2011) Phylogenomic analyses unravel annelid evolution. *Nature* 471: 95-98
- Suga, H., Schmid, V. & Gehring, W. J. (2008) Evolution and functional diversity of jellyfish opsins. *Curr Biol* 18: 51-55
- Suschenko, D. & Purschke, G. (2009) Ultrastructure of pigmented adult eyes in errant polychaetes (Annelida): implications for annelid evolution. *Zoomorphology* 128: 75-96
- Takeuchi, K., Satou, Y., Yamamoto, H. & Satoh, N. (2005) A genome-wide survey of genes for enzymes involved in pigment synthesis in an ascidian, *Ciona intestinalis*. *Zool Sci* 22: 723-734
- Tarttelin, E. A., Bellingham, J., Hankins, M. W., Foster, R. G. & Lucas, R. J. (2003) Neuropsin (Opn5): a novel opsin identified in mammalian neural tissue. *FEBS Lett* 554: 410-416
- Terakita, A. (2005) The opsins. *Genome Biol* 6: 213
- Tessmar-Raible, K., Steinmetz, P. R. H., Snyman, H., Hassel, M. & Arendt, D. (2005) Fluorescent two-color whole mount in situ hybridization in *Platynereis dumerilii* (Polychaeta, Annelida), an emerging marine molecular model for evolution and development. *Biotechniques* 39: 460-464
- Tessmar-Raible, K., Raible, F., Christodoulou, F., Guy, K., Rembold, M., Hausen, H. & Arendt, D. (2008) Conserved sensory-neurosecretory cell types in annelid and fish forebrain: insights into hypothalamus evolution. *Cell* 129: 1389-1400
- Théry, C. & Casas, J. (2009) The multiple disguises of spiders: web colour and decorations, body colour and movement. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 471-480
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. (1997) The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25: 4876-4882
- Tsukamoto, H. & Terakita, A. (2010) Diversity and functional properties of bistable pigments. *Photochem Photobiol* 86: 1435-1443
- Umetsu, D., Murakami, S., Sato, M. & Tabata, T. (2006) The highly ordered assembly of retinal axons and their synaptic partners is regulated by Hedgehog/Single-minded in the *Drosophila* visual system. *Development* 133: 791-800
- Ullrich-Lüter, E. M., Dupont, E., Arboleda, E., Hausen, H. & Arnone M. I. (2011) Unique system of photoreceptors in sea urchin tube feet. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 8367-8372
- Usdin, T. B., Eiden, L. E., Bonner, T. I. & Erickson, J. D. (1995) Molecular biology of the vesicular ACh transporter. *Trends Neurosci* 18: 218-224

- Veenstra, Jan. A. (2011) Neuropeptide evolution: Neurohormones and neuropeptides predicted from the genomes of *Capitella teleta* and *Helobdella robusta*. *Gen Comp Endocrinol* 171: 160-175
- Velarde, R. A., Sauer, C. D., Walden, K. K. O., Fahrbach, S. E. & Robertson H. M. (2005) Pteropsin: A vertebrate-like non-visual opsin expressed in the honey bee brain. *Insect Biochem Molec* 35: 1367-1377
- Viscontini, M., Hummel, W. & Fischer, A. (1970) Pigmente von Nereiden (Annelida, Polychaeten). Isolierung von Pterindimeren aus den Augen von *Platynereis dumerilii* (Audouin & Milne Edwards) 1833. *Helv Chim Acta* 53: 1207-1209.
- von Salvini-Plawen, L. & Mayr, E. (1977) On the evolution of photoreceptors and eyes. *Evol Biol* 10: 207-263
- von Salvini-Plawen, L. (1982) On the polyphyletic origin of photoreceptors. In: Westfall, J. A. (ed.) *Visual cells in evolution*. Raven Press, New York, pp. 137-154
- Vopalensky, P. & Kozmik, Z. (2009) Eye evolution: common use and independent recruitment of genetic components. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364: 2819-2832
- Wakakuwa, M., Kurasawa, M., Giurfa, M. & Arikawa, K. (2005) Spectral heterogeneity of honeybee ommatidia. *Naturwissenschaften* 92: 464-467
- Walker, R. J., Papaioannou, S. & Holden-Dye, L. (2009) A review of FMRFamide- and RFamide-like peptides in metazoa. *Invert Neurosci* 9:111-153
- Weihe, E., Tao-Cheng, J.-H., Schäfer, M. K.-H., Erickson, J. D. & Eiden, L. E. (1996) Visualization of the vesicular acetylcholine transporter in cholinergic nerve terminals and its targeting to a specific population of small synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3547-3552
- Wen, H.-J., Wang, Y., Chen, S.-H. & Hu, C.-W. (2002) Expression pattern of the *single-minded* gene in zebrafish embryos. *Mech Dev* 110: 231-235
- Wilkens, V. & Purschke, G. (2009) Pigmented eyes, photoreceptor-like sense organs and central nervous system in the polychaete *Scoloplos armiger* (Orbiniidae, Annelidae) and their phylogenetic importance. *J Morphol* 270: 1296-1310
- Wilson, D. P. (1932) On the Mitraria larva of *Owenia fusiformis* delle Chiaje. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 221: 231-334
- Wilson, D. P. (1936a) The development of *Audouinia tentaculata* (Montagu). *J Mar Biol Assoc UK* 20: 567-579
- Wilson, D. P. (1936b) The development of the sabellid *Branchiomma vesiculosum*. *Q J Microsc Sci* 78: 543-603
- Wilson, D. P. (1948) The larval development of *Ophelia bicornis* Savigny. *J Mar Biol Assoc UK* 27: 540-553

- Winchell, C. J., Valencia, J. E. & Jacobs, D. K. (2010) Expression of *Distal-less*, *dachshund* and *optomotor blind* in *Neanthes arenaceodentata* (Annelida, Nereididae) does not support homology of appendage-forming mechanisms across the Bilateria. *Dev Genes Evol* 220: 275-295
- Wollesen, T., Cummins, S. F., Degnan, B. M. & Wanninger, A. (2010) FMRFamide gene and peptide expression during central nervous system development of the cephalopod mollusk, *Idiosepius notoides*. *Evol Dev* 12: 113-130
- Yau, K.W. & Hardie, R. C. (2009) Phototransduction motifs and variations. *Cell* 139: 246-264
- Yang, X., ZarinKamar, N., Bao, R. & Friedrich, M. (2009a) Probing the *Drosophila* retinal determination network in *Tribolium* (I): The early retinal genes *dachshund*, *eyes absent* and *sine oculis*. *Dev Biol* 333: 202-214
- Yang, X., Weber, M., ZarinKamar, N., Posnien, N., Friedrich, F., Wigand, B., Beutel, R., Damen, W. G. M., Bucher, G., Klingler, M. & Friedrich, M. (2009b) Probing the *Drosophila* retinal determination gene network in *Tribolium* (II): The *Pax6* genes *eyeless* and *twin of eyeless*. *Dev Biol* 333: 215-227
- Zrzavý, J., Říha, P., Piálek, L. & Janouškovec, J. (2009) Phylogeny of Annelida (Lophotrochozoa): total-evidence analysis of morphology and six genes. *BMC Evol Biol* 9: 189

Table with multiple columns containing gene names (e.g., Dromel-somrc, Musmu-somrc), accession numbers (e.g., ANNSVLLMIPVLPSTVYQ), and sequence data. The table lists 121 different gene entries with their corresponding sequences and identifiers.

Dromel-somrc	NCT	314
Musmu-somrc	VLC	313
Nemve-op209	IYF	301
Nemve-op273	LFI	289
Strpu-new	LIC	312
Strpu-op1	LFC	315
Cioni-op1	MIF	315
Xent-r-paragin	PLP	308
Petma-pineal	VLF	315
Dandre-val	LIS	309
Habur-va	---	308
Utast-pariet	---	305
Petma-rhod	ELC	315
Xenla-rhod	ELC	315
Dandre-green	ELF	315
Dandre-ssava	IYF	308
Petma-red	LFG	315
Brabe-op5	LIC	315
Brabe-op4	RER	313
Fugru-tmt	LIC	315
Dandre-tmt	LLN	315
Homsa-opn3	LIC	312
Dandre-encephal	LIC	301
Pdu-c-ops	LLG	314
Mve-c-ops	KFF	297
Apime-pter	FFD	297
Anoga-op11	IRR	301
Anoga-op12	VRN	302
Brabe-op3	MRK	315
Homsa-perop	MFX	304
Musmu-perop	MFX	304
Lotgi-cand01	MCG	245
Cte-ops7	EFB	257
Cte-ops5	ELF	255
Cte-ops4	LML	305
Cte-ops8	LMP	270
Cte-ops6	VT	210
Homsa-opn5	GLK	312
Musmu-opn5	GLR	312
Dandre-opn5	CFD	310
Lotgi-cand03	CCR	272
Lotgi-cand04	MVR	261
Strpu-op31	LWN	309
Strpu-op32	LWS	313
Brabe-op1	SFR	314
Lotgi-cand07	LIC	311
Lotgi-cand09	VFX	275
Lotgi-cand10a	VFX	309
Lotgi-cand10b	VFX	277
Lotgi-cand08	LIC	297
Lotgi-cand02	VVC	272
Lotgi-cand05	LVG	299
Patye-GO	IMA	296
Lotgi-cand06	LVP	315
Strpu-op5	ELS	298
Strdr-Q0ZPT9	ELS	298
Strpu-op4	KLM	272
Dandre-melan	HTF	297
Homsa-melan	HLF	314
Musmu-melan	HLF	310
Limpo-lateral	RFP	311
Limpo-ocell	RFP	311
Plepa-op2	KFP	311
Plepa-op1	KFP	311
Apime-long1	KFP	310
Apime-long2	KLP	310
Apime-blue	RCK	309
Apime-uv	RFP	309
Plepa-op3	RMB	310
Patye-Gq	RVP	310
Lotgi-cand11	LMP	297
Schma-rhod	RFP	310
Dusja-rhod	---	143
Schme-cand04	KFP	204
Pdu-r-ops1	KFP	313
Euroco-ops	HFB	125
Lolfo-rhod	NFP	310
Sepor-rhod	NFP	310
Toopa-rhod	NFP	310
Octo-rhod	EFB	310
Cte-r-ops	---	309
Pdu-r-ops3	KMP	314
HELRO-129809	---	294
Helro-132379	---	293
Helro-85596	LFI	307
Helro-84106	EVS	256
Schja-op4	RFG	310
Schma-op2	RKT	309
Lotgi-cand13	SCF	311
Lotgi-cand12	RER	282
Cte-ops2	LFO	311
Cte-ops3	LLQ	207
Brabe-op2	EMC	294
Brabe-op6	QER	301
Homsa-rgr	CLS	279
Bosta-rgr	CLS	279
Musmu-rgr	CLS	279
Podca-opC	MFQ	278
Clara-opK1	MVC	279
Clara-opC	MLP	273
Clara-opF	KVP	276
Clara-opM	VVA	280
Dromel-carrc	FPP	312
Musmu-vasrc	SFP	315
Nemve-op241	LIC	298
Musmu-melrc	IYC	291
Strpu-op2	MLT	232
Dromel-5btrc	ILP	269
Dromel-tyrrc	LLG	309
Musmu-hisrc	ILH	292

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen der für die Bayes'sche Analyse verwendeten Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in den Datenbanken des NCBI bzw. Uniprot oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für die Opsine von *C. teleta* werden die zugehörigen Modellnummern aufgeführt und hinsichtlich der verwendeten Sequenz auf den Ergebnisteil verwiesen.

- Anoga-op11 // XP_312503.3 // putative GPCR receptor, opsin family // *Anopheles gambiae*
- Anoga-op12 // XP_312502.2 // putative GPCR receptor, opsin family // *Anopheles gambiae*
- Apime-blue // Q2YD69 // Blue-sensitive-opsin // *Apis mellifera*
- Apime-long1 // Q2YD67 // Long wavelength sensitive opsin 1 // *Apis mellifera*
- Apime-long2 // Q2YD66 // Long wavelength sensitive opsin 2 // *Apis mellifera*
- Apime-pter // Q2YD70 // Pteropsin // *Apis mellifera*

- Apime-uv // Q2YD68 // UV-sensitive opsin // *Apis mellifera*
- Bosta-rgr // P47803 // retinal G protein-coupled receptor // *Bos taurus*
- Brabe-op1 // Q868G4 // Opsin // *Branchiostoma belcheri*
- Brabe-op2 // Q868G3 // Opsin // *Branchiostoma belcheri*
- Brabe-op3 // Q868G0 // Opsin // *Branchiostoma belcheri*
- Brabe-op4 // Q868G2 // Opsin // *Branchiostoma belcheri*
- Brabe-op5 // Q868G1 // Opsin // *Branchiostoma belcheri*
- Brabe-op6 // Q868F9 // Opsin // *Branchiostoma belcheri*
- Cioni-op1 // Q95P33 // Opsin // *Ciona intestinalis*
- Clara-opC // A9CR30 // CropC // *Cladonema radiatum*
- Clara-opF // A9CR39 // CropF // *Cladonema radiatum*
- Clara-opK1 // A9CR48 // CropK1 // *Cladonema radiatum*
- Clara-opM // A9CR26 // CropM // *Cladonema radiatum*
- Cte-r-ops // jgi|Capca1|202516|fgenesh1_pg.C_scaffold_37600014 // *Capitella teleta*
- Cte-ops2 // jgi|Capca1|205283|fgenesh1_pg.C_scaffold_116000045 // *Capitella teleta*
- Cte-ops3 // jgi|Capca1|54244|gw1.332.13.1 // *Capitella teleta*
- Cte-ops4 // jgi|Capca1|197851|fgenesh1_pg.C_scaffold_99000023 // *Capitella teleta*
- Cte-ops5 // jgi|Capca1|226303|estExt_fgenesh1_pg.C_3460005 // *Capitella teleta*
- Cte-ops6 // wird von keiner Voraussage erfasst // *Capitella teleta*
- Cte-ops7 // jgi|Capca1|140269|e_gw1.219.26.1 // *Capitella teleta*
- Cte-ops8 // jgi|Capca1|132789|e_gw1.47.128.1 // *Capitella teleta*
- Danre-encephal // A9NJI7 // opsin 3 // *Danio rerio*
- Danre-green // Q8AYM7 // Green-sensitive opsin-3 // *Danio rerio*
- Danre-melan // Q2KNE5 // Melanopsin // *Danio rerio*
- Danre-opn5 // Q5RIV6 // Novel protein similar to vertebrate opsin 5 // *Danio rerio*
- Danre-swave // Q9W6A9 // Opsin-1, short-wave-sensitive 1 // *Danio rerio*
- Danre-tmt // 169646828 // teleost multiple tissue opsin a // *Danio rerio*
- Danre-val // Q9IB88 // VAL-opsin // *Danio rerio*
- Dromel-5htcr // Q5MT65 // 5-hydroxytryptamine receptor 2B // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-carrc // Q868T3 // Cardioacceleratory peptide receptor // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-somrc // Q8I943 // Somatostatin receptor // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-tyrrc // P22270 // Tyramine/octopamine receptor // *Drosophila melanogaster*
- Dugja-rhod // 40643306 // opsin // *Dugesia japonica*
- Eurco-rops // lcl|lf01_35K-CL1105Contig1 // *Eurythoe complanata*
- Furgru-tmt // Q8JI05 // Multiple tissue opsin // *Fugu rubripes*
- Habur-va // B2CKZ8 // vertebrate ancient opsin // *Haplochromis burtoni*
- Helro-129809 // jgi|Helro1|129809|gw2.47.141.1 // *Helobdella robusta*
- Helro-132379 // jgi|Helro1|132379|gw2.39.178.1 // *Helobdella robusta*
- Helro-84106 // jgi|Helro1|84106|e_gw1.39.176.1 // *Helobdella robusta*
- Helro-85596 // jgi|Helro1|85596|e_gw1.47.45.1 // *Helobdella robusta*
- Homsa-melan // Q9UHM6 // Melanopsin // *Homo sapiens*
- Homsa-opn3 // Q9H1Y3 // Opsin-3 // *Homo sapiens*
- Homsa-opn5 // Q6U736 // Opsin-5 // *Homo sapiens*
- Homsa-perop // O14718 // Visual pigment-like receptor peropsin // *Homo sapiens*
- Homsa-rgr // P47804 // retinal G protein-coupled receptor // *Homo sapiens*

- Limpo-lateral // P35360 // Full=Lateral eye opsin // *Limulus polyphemus*
- Limpo-ocell // P35361 // Ocellar opsin // *Limulus polyphemus*
- Lolfo-rhod // P24603 // Rhodopsin // *Loligo forbesi*
- Lotgi-cand01 // Lotgi1_155231|cand01|fgenesh2_pg.C_sca_8000019 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand02 // Lotgi1_152675|cand02|fgenesh2_pg.C_sca_2000095 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand03 // Lotgi1_140134|cand03|e_gw1.144.33.1 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand04 // Lotgi1_103699|cand04|e_gw1.2.417.1 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand05 // Lotgi1_173452|cand05|fgenesh2_pg.C_sca_159000023 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand06 // Lotgi1_175069|cand06|fgenesh2_pg.C_sca_238000002 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand07 // Lotgi1_156508|cand07|fgenesh2_pg.C_sca_11000194 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand08 // Lotgi1_160213|cand08|fgenesh2_pg.C_sca_24000027 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand09 // Lotgi1_123097|cand09|e_gw1.42.261.1 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand10a // Lotgi1_163982|cand10a|fgenesh2_pg.C_sca_42000189 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand10b // Lotgi1_122997|cand10b|e_gw1.42.155.1 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand11 // Lotgi1_177556|cand11|fgenesh2_pm.C_sca_8000009 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand12 // Lotgi1_156440|cand12|fgenesh2_pg.C_sca_11000126 // *Lottiga gigantea*
- Lotgi-cand13 // Lotgi1_154846|cand13|fgenesh2_pg.C_sca_6000349 // *Lottiga gigantea*
- Musmu-hisrc // P70174 // Histamine H1 receptor // *Mus musculus*
- Musmu-melan // Q9QXZ9 // Melanopsin // *Mus musculus*
- Musmu-melrc // P41149 // Melanocortin receptor 5 // *Mus musculus*
- Musmu-opn5 // Q6VZZ7 // Opsin-5 // *Mus musculus*
- Musmu-perop // O35214 // Visual pigment-like receptor peropsin // *Mus musculus*
- Musmu-rgr // Q9Z2B3 // retinal G protein-coupled receptor // *Mus musculus*
- Musmu-somrc // P30875 // Somatostatin receptor type 2 // *Mus musculus*
- Musmu-vasrc // Q62463 // Vasopressin V1a receptor // *Mus musculus*
- Nemve-op209 // A9UMY2 // Opsin Nvop209.3 predicted // *Nematostella vectensis*
- Nemve-op241 // A9UMX9 // Opsin Nvop241 predicted // *Nematostella vectensis*
- Nemve-op273 // A9UMX5 // Opsin Nvop273 predicted // *Nematostella vectensis*
- Octdo-rhod // P09241 // Rhodopsin // *Octopus dofleini*
- Patye-GO // O15974 // Rhodopsin // *Patinopecten yessoensis*
- Patye-Gq // O15973 // Rhodopsin, GQ-coupled // *Patinopecten yessoensis*
- Petma-pineal // O42490 // Pineal opsin // *Petromyzon marinus*
- Petma-red // B2D1T1 // Red-sensitive opsin // *Petromyzon marinus*
- Petma-rhod // Q98980 // Rhodopsin // *Petromyzon marinus*
- Pdu-c-ops // 55740264 // ciliary opsin // *Platynereis dumerilii*
- Pdu-r-ops1 // 19309911 // rhabdomeric opsin // *Platynereis dumerilii*
- Pdu-r-ops3 // pers. Kommunikation // *Platynereis dumerilii*
- Plepa-op1 // 170676067 // kumopsin1 // *Plexippus paykulli*
- Plepa-op2 // 170676069 // kumopsin2 // *Plexippus paykulli*
- Plepa-op3 // 170676071 // kumopsin3 // *Plexippus paykulli*
- Podoc-opC // A9CR60 // PcopC // *Podocoryne carnea*
- Schja-op4 // 226479150 // opsin 4 (melanopsin) // *Schistosoma japonicum*
- Schma-op2 // C4QPM6 // opsin-like receptor, putative // *Schistosoma mansoni*
- Schma-rhod // 8132429 // RHO G-protein coupled receptor // *Schistosoma mansoni*
- Schme-cand04 // elongation of published opsin sequence // *Schmidtea mediterranea*

- Sepof-rhod // O16005 // Rhodopsin // *Sepia officinalis*
- Strpu-new // Sequence 1-predicted // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Strpu-op1 // GLEAN3_05569 pred.ops1 // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Strpu-op2 // GLEAN3_03451 pred.ops2 // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Strpu-op3 1 // GLEAN3_27633 pred.ops3 1 // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Strpu-op3 2 // GLEAN3_27634 pred.ops3 2 // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Strpu-op4 // GLEAN3_22851 pred.ops4 // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Strpu-op5 // GLEAN3_06737 pred.ops5 // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Todpa-rhod // P31356 // Rhodopsin // *Todarodes pacificus*
- Utast-pariet // Q1L4C8 // Parietopsin // *Uta stansburiana*
- Xenla-rhod // P29403 // Rhodopsin // *Xenopus laevis*
- Xentr-parapin // Q75R39 // Parapinopsin // *Xenopus tropicalis*

8.2 Tryptophan 2,3-dioxygenase (*Cte-tdo2*)

Tricas-tdo2	-----MSGF-LRFSE-----AGSDQLSEEC-----GMLGVEYLMKDKLEARRLSEQN--QPVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	117
Apime-tdo2-pred	-----MAGP-LSDS-----AEDHDSQDLARGLAEMLGVEYLMKDKLILTRRLIAEYN--KEVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	126
Aedae-tdo2	-----MAGP-VEHNI-----DQFSGQDQIQRRAQMLGVEYLMKDKLILTRRLIAEYN--KEVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	120
Dromel-vermilion	-----MSGPFAGNG-----DDHDAVPLTEVSVKIGVEYLMKDKLIDACLMLSEEDK--RPVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	121
Lotgi-mod	-----MGN-----KVPSSSDYDGLHGLLDDLSMT--AVDDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	98
Chlaf-tdo2	-----MSGRSNNKDKLIGVEYLMKDKLILTRRLIAEYN--KEVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	108
Cte-tdo2	GAAPFVAGPGLSSGGAVDGN-----DEBRGVRKASGKRNVEYLNTLLDCNLSATAAG--KEVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	133
Strpu-tdo2-pred	-----MSGPFGGG-----N-----RVFGGKGGDDDKLVGSLGLDKLLKSCVLDLSAASV--TPVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	121
Nemve-pred	-----MSGPFGAG-----D-----SDSSAVTEKDTPLKNSDGLDKLLKSCVLDLSAASV--TPVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	122
Sakow-vermilion-pred	-----MSGPFGSDP-----P-----KQSDSCVLAARWAKGVEYLMKDKLILTRRLIAEYN--KEVDHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	116
Brafel-hyp	-----MSGPFGAGNSVGVITKNIKLSMDESDDAAGVVRASRGGKLVGNLLEKILNLAELISETIKG--NKHDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	108
Musmu-tdo2	-----MSGPFGAGNSVGVITKNIKLSMDESDDAAGVVRASRGGKLVGNLLEKILNLAELISETIKG--NKHDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	137
Ratno-tdo2	-----MSGPFGAGNSVGVITKNIKLSMDESDDAAGVVRASRGGKLVGNLLEKILNLAELISETIKG--NKHDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	137
Homsa-tdo2	-----MSGPFGAGNSVGVITKNIKLSMDESDDAAGVVRASRGGKLVGNLLEKILNLAELISETIKG--NKHDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	137
Xenla-tdo2	-----MSGPFGAGNSVGVITKNIKLSMDESDDAAGVVRASRGGKLVGNLLEKILNLAELISETIKG--NKHDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	137
Danre-tdo2	-----MSGPFGAGNSVGVITKNIKLSMDESDDAAGVVRASRGGKLVGNLLEKILNLAELISETIKG--NKHDEHDLFVTHQAYELFVKIIVELDSIRNIFPS-----DVLSEQLLTIKRNVRVLLKLVLDVVMLEIMDFP	136

Tricas-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	261
Apime-tdo2-pred	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	270
Aedae-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	264
Dromel-vermilion	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	264
Lotgi-mod	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	244
Chlaf-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	253
Cte-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	277
Strpu-tdo2-pred	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	267
Nemve-pred	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	265
Sakow-vermilion-pred	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	261
Brafel-hyp	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	267
Musmu-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	280
Ratno-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	280
Homsa-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	280
Xenla-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	280
Danre-tdo2	LDPFDFRCLPAGPQSPGLFRLLEKIKLVRSRVRKYNLHNSKVPDQKALQIAKEEPELIDIV--RWLEERPGLE-LDGFPMGKPKRSVHAMVLD-LKAEKAPAEAEATLRRYKLNDEIRREVEEIPKIVBVEALVARG	279

Tricas-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	388
Apime-tdo2-pred	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	392
Aedae-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	392
Dromel-vermilion	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	379
Lotgi-mod	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	363
Chlaf-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	372
Cte-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	384
Strpu-tdo2-pred	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	410
Nemve-pred	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	376
Sakow-vermilion-pred	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	381
Brafel-hyp	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	384
Musmu-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	406
Ratno-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	406
Homsa-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	406
Xenla-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	406
Danre-tdo2	-----RRRFAKALGAMLITFRDEPRFSPHLLSLMDIDSLIKWYHNVHMVORMIGS-KPFGGSGOVHLRSVDRKVVFDLFLSTLVPRLPNSIPPLPMSRSHLCN-----MGSANLNIVSGN	406

Tricas-tdo2	-----	388
Apime-tdo2-pred	-----	392
Aedae-tdo2	-----	392
Dromel-vermilion	-----	379
Lotgi-mod	MKORRNGKDLNLGVRRRLNEDDEEERKGGPKFPE	404
Chlaf-tdo2	DEVR-----	383
Cte-tdo2	-----	384
Strpu-tdo2-pred	GLGRRGLPCGPEDAIFVLSNSDDEDEDE--RPPAAGKIVTVA	455
Nemve-pred	-----	376
Sakow-vermilion-pred	-----	381
Brafel-hyp	-----	384
Musmu-tdo2	-----	406
Ratno-tdo2	-----	406
Homsa-tdo2	-----	406
Xenla-tdo2	-----	406
Danre-tdo2	-----	406

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Aedae-tdo2 // XP_001656460.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase // *Aedes aegypti*
- Apime-tdo2-pred // XP_394304.2 // tryptophan 2,3-dioxygenase-like // *Apis mellifera*
- Brafel-hyp // XP_002611396.1 // hypothetical protein BRAFLDRAFT_210874 // *Branchiostoma floridae*
- Chlaf-tdo2 // AAY32933.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase // *Chlamys farreri*
- Cte-tdo2 // jgi|Capca1|225408|estExt_fgenesh1_pg_C_12700005 // *Capitella teleta*
- Danre-tdo2 // NP_001096086.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase A // *Danio rerio*
- Dromel-vermilion // NP_511113.1 // vermilion // *Drosophila melanogaster*
- Homsa-tdo2 // NP_005642.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase // *Homo sapiens*
- Lotgi-mod // jgi|Lotgi1|202558|estExt_Genewise1.C_sca_3020005 // *Lottia gigantea*
- Musmu-tdo2 // AAB60491.1 // tryptophan-2,3-dioxygenase // *Mus musculus*
- Nemve-mod // XP_001641768.1 // predicted protein // *Nematostella vectensis*
- Ratno-tdo2 // NP_071798.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase // *Rattus norvegicus*
- Sakow-vermilion-pred // XP_002732444.1 // vermilion-like // *Saccoglossus kowalevskii*
- Strpu-tdo2-pred // XP_798322.1 // similar to tryptophan 2,3-dioxygenase *Strongylocentrotus purpuratus*
- Tricas-tdo2 // NP_001034499.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase // *Tribolium castaneum*
- Xenla-tdo2 // NP_001088604.1 // tryptophan 2,3-dioxygenase // *Xenopus laevis*

8.3 Sepiapterinreduktase (*Cte-spr*)

Cte-spr	--MAASDGRDIFSLKTCVLRGARGLGCMAIRFAEKLPDQ--SMLVLMARSLNLESNSDIARASH-VRIVVDDISSQTESDALLRGLFEELKVAPRDFDQALLVHNAALGQVKKMOTID--SASDINAWDMMLSPPLLNIVF	148
Brafl-hyp	--MAAD---LKAVALFCVYVGGKGLGALAINLAETVGG---LIVTARGEGGLNDKRIKATAPH--VEVKVADIDAGPY--DELKRIKAVP--SPQSFKHAITVHNAALGQVKKLSEL--DPKVTDTYQMVSRVLCNHP	139
Strpu-spr-pred	--MABQV---FDSKFCCTIIGSRGIGIAVTLGAMFGE---SVLVKESRAALGEMRIVVARTAPH--SVWVTEADLSKAEV--LSDPESLTKAN--NPSDQSVLVHNAALGQVKKLSEL--DQVDMQGLFVLLRSLLEKFP	143
Nemve-pred	--MFAS----SSSCCCIIRGARGLGCIAVSAIEVQAQCEVFLILVANKELEKLNVRQVKS--IKGFLIVDGLKLDL--LQLLDDIFQCV--TFSAFSHSLVHNAAGLGLDRPKKDF--DPEVQOVMGLILSPPIIARFR	141
Ratno-spr	----GR---LG-CAVCVLGRARGFRALAPOLAGLSPG---SVLLSARSDSMLRLEKELCQOPG--IQVLAADLGTESG--VQQLSAVREL--RPERLRLLIINAGLGDVSKGFLNIN--DLAVNNWALILSMCLTQF	136
Musmu-spr	----MEAG--LG-CAVCVLGRARGFRALAPOLAGLSPG---VQMLSARSEMERLEKELCQOPG--IRVLAADLGTESG--VQQLSAVREL--RPERLRLLIINAGLGDVSKGFLNIN--DLAVNNWALILSMCLTQF	139
Homsa-spr	----MEGG--LG-SAVCLLGRARGFRLLAHLASLSPG---SVLVLSARDEALRLEELGAERSH--LRVRVPADLGAEG--LQQLGALREL--RPKGLRLLIINAGLGDVSKGFLNIN--DSTVNNWALILSMCLTQF	138
Xentr-spr	--MAATGA--LG-SVLCVLGRARGFRLLAHLCPALLPG---STLLVSRTEALKLAGELANKYPG--VRVRPADLGTSEB--VSAAVRAGELQ--VG-AAQRLLIINAGLGDVSKGFLNIN--DPEVDTVMQFVSSPLCLASL	139
Danre-spr	--MSFASG--FG-KALVITGRARGFRALASVAARUSPG---SVLVAARSDEOLLKESALTRGET--LIVRCPVLDCEAG--VEKLIAERDQIQ--PD--IQHLLIFHNAALGQVKKLSEL--DMELENSLISLVSMCLTQF	138
Sakow-spr-pred	MAASHQV---FQVDFCLTIGSRGIGIAVTLGAMFGE---SVLVKESRAALGEMRIVVARTAPH--SVWVTEADLSKAEV--LSDPESLTKAN--NPSDQSVLVHNAALGQVKKLSEL--DQVDMQGLFVLLRSLLEKFP	144
Cioni-spr-pred	--MSVFGV----SFCVTVGRARGIGCIAVLSRPGKD--SKIVIAARSEGLLEKNIKIVVCFI--GEVVCVADLSPAS--KRVCEKIPSLA--NDQFQHAMVFNAGSLADVSKKLSDE--DPEVSHFWMLVSSAVAINAF	138
Apime-spr-pred	--MSVKILG--KVFVLVGRARGIGRLAIFQS--LEKG--SHILLATNLNALKAKRIFP---PSIFVDSIDARATKIDLYDIQSLKNE--ILDQFDHVVVIVHIGIINIVANDL--ELNVHDYDQVFIIPALNIV	139
Dromel-spr	--MSLKQR---LIVLGRARGIGRFAOLAKRIKAEH--SMVLLGRVITLLOSRAEIVAVTVDFSVQVLSLELSTAKTETKILEASG---KNVFAIIVHNAAGLGDVSKGFLNIN--DPEVDRVHNVFPAIINCEV	137

Cte-spr	PRHFQDQVDDRVVIVLSSLCGKIPFKNSIYCGAKAARDMLFNMAARSSIR--VLVAPGPIDESMOVLARRDADODLROMFIGNKSGGLLSGDHIDELVPLIJKKPFQSGARLDYDI-----	271
Brafl-hyp	FS--ATESIVRRVVMVSSLCGKIPFKNSIYCGAKAARDMLFKLQAPDVR--VLVAPGLDESMVVAQNLADPDIRAFFVGLSKNRDALDPEAKQVQVLLLENFENGAVDFVD-----	259
Strpu-spr-pred	LRTFPRRGLRRIIVLSSLAATPKKICGLICMVKAARDMMQMLAABPDVR--FLVAPGPDVDMYREICNEHIDDELSEMIQVEENVLLKPFQFAEKALFLDQDQSGAVDFVPEKQSSS--	275
Nemve-pred	VNEFKS--RRKIYANISLMAIEMWQSLVGLASRDMASVLAEEPDVR--LLEAPGLDESMNIIQSMVEQVQMLI---KQVLRVLSRSLVQILLDDEYSGARLDYDI-----	257
Ratno-spr	LNASNSPGLSKVVMVSSLCALPFGKGLVCGAKAARDMLQVLAEEPSVR--VLVAPGLDINMOQLARETMDPELRSRLQKINSEGLVDCQTAQKLSLLLRDPTQSGARLDYDI-----	259
Musmu-spr	LNAFQDSPGLSKVVMVSSLCALPFGKGLVCGAKAARDMLQVLAEEPSVR--VLVAPGLDINMOQLARETMDPELRSRLQKINSEGLVDCQTAQKLSLLLRDPTQSGARLDYDI-----	262
Homsa-spr	LKAFQDSPELNRVVMVSSLCALPFGKHALVCGAKAARDMLQVLAEEPSVR--VLVAPGLDINMOQLARETMDPELRSRLQKINSEGLVDCQTAQKLSLLLRDPTQSGARLDYDI-----	261
Xentr-spr	LKTFPRRDLQVVMVSSLAALPFGKNSALVCGAKAARDMIFVLAEEPDVR--VLVAPGLDINHVARTQADPELRTVLDREKQKVDIOVSKEMDLELLEADITDFI-----	261
Danre-spr	LRTFPRRSGLTVIVMSSLCALPFPVHVCSGKAARDMMFVLAEEPELR--VLVAPGLDIDMREARSQCADSKLRNFSQMHANGQLTCDPEIQKLSVLLERKXSGEHLDYDI-----	261
Sakow-spr-pred	LTFPRKRIKRRVVMVSSLCALPFPFYSLVCSRAARDMLQVLAEEPDVR--VVSAPGPIDEMDQRLRENLDQPEMVKVADLENGALLTVDIMKTLTALLEEDEFKSGSHVDYDIINK-----	269
Cioni-spr-pred	LQVSNKIKRIVVMVSSRAQSEVPLGGLVCGAKAARDMLLQVLAEEPSV--VLSAPGPIDEMDQSLAN--IEMDMSMPTQASVRESAVDYLQLEAEDEFKSGSHVLAEEPEVNDLQD--	271
Apime-spr-pred	NKIFNKNINIKKLVIVLSSLLGKPKSNVYCSGKAAREMFKVFALENPQV--VLVAPGPIDEMDYREIKTIADEEVKTFNDLLEKKTILTCEKVNRLTILEPQKQDHDYDI-----	263
Dromel-spr	MRVFKG--LTKLVVLSLAAIATISMAHYCTVKAAREMFRVLAEESEADLVLVAPGPIDEMDTVQREADPVAVMHFRQRESKTMITPAVPEFKVLAEEPEKQDHDYDI-----	261

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Apime-spr-pred // XP_003250598.1 // sepiapterin reductase-like // *Apis mellifera*
- Brafl-hyp // XP_002613806.1 // hypothetical protein BRAFLDRAFT_85347 // *Branchiostoma floridae*
- Cioni-spr-pred // XP_002123470.1 // similar to sepiapterin reductase // *Ciona intestinalis*
- Cte-spr // jgi|Capcal|98918|e_gw1.65.59.1 // *Capitella teleta*
- Danre-spr // ABC68460.2 // sepiapterin reductase // *Danio rerio*
- Dromel-spr // NP_727265.1 // sepiapterin reductase // *Drosophila melanogaster*
- Homsa-spr // NP_003115.1 // sepiapterin reductase // *Homo sapiens*
- Musmu-spr // NP_035597.2 // sepiapterin reductase // *Mus musculus*
- Nemve-pred // XP_001638505.1 // predicted protein // *Nematostella vectensis*
- Ratno-spr // AAA42130.1 // sepiapterin reductase (EC 1.1.1.153) // *Rattus norvegicus*
- Sakow-spr-pred // XP_002730621.1 // sepiapterin reductase a-like // *Saccoglossus kowalevskii*
- Strpu-spr-pred // XP_783056.1 // similar to sepiapterin reductase // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Xentr-spr // NP_001120067.1 // sepiapterin reductase // *Xenopus tropicalis*

8.4 Gq-alpha (*Cte-Gqa*)

Aplica-Gqa	-----MACCIIDDELKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Lymst-Gqa	-----MACCIIDDELKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Lotgi-mod	-----MACCIIDDELKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Cte-Gqa	-----MACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	148
Mizye-Gqa	-----MACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Aedae-Gqa	-----MGKCCDDEARBEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Tricas-Gqa-pred	-----MIMQCCDDEARBEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	149
Dromel-Gqa	-----MGCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Homsa-Gqa	-----MACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Xenla-Gqa	MLELIMACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	153
Musmu-Gqa	MLELIMACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	153
Homsa-Gqa	MLELIMACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	153
Danre-Gqa	MLELIMACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	153
Sakow-Gqa-pred	-----MACCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	148
Strpu-Gqa	-----MGCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Nemve-pred	-----MGCLBEAEKRRKIKGIERLKRDKRDRARELKLKLLG-----GEGKSTFIKQMIITHGAGYSDDKRSFKIIVQNIFFAMAMIRAMDILNQTNPAN-RENGNIIRIIVDVTWTFEDPFCVDAITSLWMDGGICDCDRREYOL	147
Helro-mod	-----MAGLIRPRLVLPFVFLVSYMTHMSLVRRLLHFRIRRFVVSAGLALLLAILLQDSTLDMKMEVDESSLDMLDGLRFINISDQCTEPPQFYLRTELHPYLYVHLVUILLVFLFAER-RWMLKHAMKVAVYVFRHMFFSEI	153

Aplica-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Lymst-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Lotgi-mod	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Cte-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	293
Mizye-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Aedae-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Tricas-Gqa-pred	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	294
Dromel-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Homsa-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Xenla-Gqa	-----DSKIVYLNDLRVADPSVLPDODLVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	298
Musmu-Gqa	-----DSKIVYLNDLRVADPSVLPDODLVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	298
Homsa-Gqa	-----DSKIVYLNDLRVADPSVLPDODLVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	298
Danre-Gqa	-----DSKIVYLNDLRVADPSVLPDODLVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	298
Sakow-Gqa-pred	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	293
Strpu-Gqa	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Nemve-pred	-----DSAKYVLDSVERISOLDLILPDLILRVRVPTGIEYFPDLDLIFRFDVGGORSEKRMWICPEF-----VSIIMFVLALEYDVLVSDENRMEESKALFRITTYWFOSSVILFLKNDLLEKIMSHLVDFPFDDGP	292
Helro-mod	KILLANSIHKIKLLKGDARVPIKFLNFIKIFLGGQSD-ETLRFVAGLVPSQESINRDMQSTGLDARRRILNVALPPFAVKYALKQYIITLVIMVMSIMRMLFFAFMLCAGIIMPLRSMCGSLSTILFYASLTLIQ	307

Aplica-Gqa	KKDAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Lymst-Gqa	KKDAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Lotgi-mod	KKDAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Cte-Gqa	KKDAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	350
Mizye-Gqa	KKDAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Aedae-Gqa	KKDAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Tricas-Gqa-pred	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	355
Dromel-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Apime-Gqa-pred	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Ratno-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	359
Musmu-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	359
Homsa-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	355
Xenla-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	359
Danre-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	359
Sakow-Gqa-pred	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	354
Strpu-Gqa	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Nemve-pred	RDADAAREFILKMFVLLPDDKIIYSHP*CAQDENIRF-----VFAAVKDLILLLKLEYLVL-----	353
Helro-mod	YIGLDLITDELPSSIKRGQGLDGLVQENPAGFLAIRGLVLRKSLDNLNMAVVHVHVLADAEFA	378

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Aedae-Gqa // XP_001660884.1 // GTP-binding protein alpha subunit // *Aedes aegypti*
- Apime-Gqa-pred // XP_623211.2 // guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha-like // *Apis mellifera*
- Aplca-Gqa // NP_001191660.1 // guanine nucleotide-binding protein G(q), alpha subunit // *Aplysia californica*
- Cte-Gqa // Capca|112050|e_gw1.451.34.1 // *Capitella teleta*
- Danre-Gqa // NP_001138271.1 // guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Danio rerio*
- Dromel-Gqa // NP_523718.1 // G protein alpha49B, isoform H // *Drosophila melanogaster*
- Helro-mod // jgi|Helro1|18482|fgenesh1_pg.C_scaffold_32000043 // *Helobdella robusta*
- Homsa-Gqa // AAB06875.1 // G alpha-q // *Homo sapiens*
- Lotgi-mod // jgi|Lotgi1|194019|estExt_Genewise1.C_sca_560181 // *Lottia gigantea*
- Lymst-Gqa // P38411.1 Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Lymnea stagnalis*
- Mizye-Gqa // O15975.1 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Mizuhopecten yessoensis*
- Musmu-Gqa // AAA63306.1 // G alpha q subunit // *Mus musculus*
- Nemve-pred // XP_001633528.1 // predicted protein // *Nematostella vectensis*
- Ratno-Gqa // NP_112298.1 // guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Rattus norvegicus*
- Sakow-Gqa-pred // XP_002740104.1 // guanine nucleotide binding protein, alpha q // *Saccoglossus kowalevskii*
- Strpu-Gqa // NP_999835.1 // guanine nucleotide-binding protein G(q) alpha // *Strongylocentrotus purpuratus*

- Tricas-Gqa-pred // XP_966311.2 // similar to GTP-binding protein alpha subunit // *Tribolium castaneum*
- Xenla-Gqa // NP_001084029.1 // guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Xenopus laevis*

Accession	Species	Gene	Protein	Start	End	Score	Ident	Positives	Negatives
Cte-GNAQ [gi Capcal 12050 scaffold_451_35514-45644	Cte-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Lymst-GNAQ P38411	Lymst-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Romsa-GNAQ P50148	Romsa-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Xenla-GNAQ P38410	Xenla-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Romsa-GNA1 P29992	Romsa-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Xenla-GNA1 P43444	Xenla-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Danrc-GNAQ P13682158	Danrc-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Romsa-GNAQ P91950	Romsa-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Romsa-GNA1 Q95837	Romsa-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Xenla-GNA1 Q93819	Xenla-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Dromel-GNAQ P23625	Dromel-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Lofo-GNAQ P38412	Lofo-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Danrc-GNA1 P57524689	Danrc-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Geocy-GNAQ Q9X2V4	Geocy-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Romsa-GNA16	Romsa-GNA16	GNA16	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Musm-GNA15	Musm-GNA15	GNA15	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNAQ [gi Capcal 12032 scaffold_56_73060-80748	Cte-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Lymst-GNAQ P30683	Lymst-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Miyze-GNAQ Q15976	Miyze-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Dromel-GNAQ P16178	Dromel-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Ratno-GNAQ P59215	Ratno-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNA1 [gi Capcal 178654 scaffold_137_391782-401064	Cte-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Ratno-GNA1 P10824	Ratno-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Romsa-GMAT1 P11488	Romsa-GMAT1	GMAT1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Canfa-GMAT1 Q28300	Canfa-GMAT1	GMAT1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Bosta-GMAT1 P04695	Bosta-GMAT1	GMAT1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Caele-GPA16 Q9N2V6	Caele-GPA16	GPA16	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Geocy-GNAQ Q9X2V3	Geocy-GNAQ	GNAQ	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Dicdi-GPA1 P16894	Dicdi-GPA1	GPA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNA12 [gi Capcal 227716 scaffold_416_93901-100875	Cte-GNA12	GNA12	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Caebr-GPA1 Q60M30	Caebr-GPA1	GPA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNA13 [gi Capcal 3994 scaffold_114_31433-37912	Cte-GNA13	GNA13	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Musm-GNA1 Q14344	Musm-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Musm-GNA1 P27601	Musm-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Dromel-GNA1 P25157	Dromel-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Daph-GNA12 [13121479271	Daph-GNA12	GNA12	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Caele-GPA12 Q19572	Caele-GPA12	GPA12	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNA13 [gi Capcal 197606 scaffold_3141_206-3638	Cte-GNA13	GNA13	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNA1 [gi Capcal 164626 scaffold_186_37306-50143	Cte-GNA1	GNA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Anoga-GNAS Q79D79	Anoga-GNAS	GNAS	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Xenla-GNAS P30669	Xenla-GNAS	GNAS	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Schma-GNAS P24799	Schma-GNAS	GNAS	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Cte-GNA2 [gi Capcal 109140 scaffold_353_23039-25906	Cte-GNA2	GNA2	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Caele-GPA1 Q16584	Caele-GPA1	GPA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Dicdi-GPA12 Q54V61	Dicdi-GPA12	GPA12	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Caebr-GPA1 Q4V238	Caebr-GPA1	GPA1	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0
Caele-GPA13 Q9X2B2	Caele-GPA13	GPA13	GTP-binding protein alpha subunit	1	25	100	100	100	0

Cte-GNAQ [gji Capcal 112050 scaffold_451_35514-45644	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LMG-H-LVDVFFPEFD-----GPKQKDAE-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	330
Lymst-GNAQ P38411	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LMG-H-LVDVFFPEFD-----GPKKEASTA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	330
Homsa-GNAQ P50148	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LMG-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	336
Xenla-GNAQ P38410	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LMG-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	336
Homsa-GNA1 P29992	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LYH-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	336
Xenla-GNA1 P43444	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LYH-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	336
Dancr-GNAQ 113682158	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LCH-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	377
Homsa-GNAQ P91950	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-LMG-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	330
Homsa-GNA14 Q95837	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	332
Xenla-GNA14 Q73819	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	331
Dromel-GNAQ P23625	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	330
Lofo-GNAQ P38412	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	330
Dancr-GNA14 Q7524689	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	331
Geocy-GNAQ Q9XZV4	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	351
Homsa-GNA16	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	351
Musma-GNA15	-----EPEEERKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-MTQ-H-LVDVFFPEFD-----GPKDAIAA-----REFLLKLPVVL-----P-D-B-SDIILISDFC-AI022	351
Cte-GNAQ [gji Capcal 120382 scaffold_56_73060-80748	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331
Lymst-GNAQ P30683	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331
Misy-GNAQ O15976	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	334
Dromel-GNAQ P16378	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331
Ratno-GNAQ P59215	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331
Cte-GNA11 [gji Capcal 178654 scaffold_137_391782-401064	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331
Cte-GNA11 [gji Capcal 178654 scaffold_137_391782-401064	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331
Homsa-GNAT1 P11488	-----VMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	327
Canfa-GNAT1 Q28300	-----VMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	327
Bosta-GNAT1 P04695	-----VMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	327
Caele-GPA16 Q9N2V6	-----VMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	334
Didci-GPA1 P16894	-----VMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	332
Geocy-GNAQ Q9XZV3	-----VMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	336
Cte-GNA12 [gji Capcal 227716 scaffold_416_93901-100875	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	337
Caabr-GPA1 Q60M00	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	337
Cte-GNA13 [gji Capcal 3994 scaffold_114_31433-37912	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	337
Homsa-GNA12 Q03113	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	358
Musma-GNA1 Q14344	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	354
Musma-GNA1 P27601	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	354
Dromel-GNA1 P25157	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	414
Daph-GNA12 [gji Capcal 1321492721	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	342
Xenla-GNA12 Q19572	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	332
Cte-GNA13 [gji Capcal 197606 scaffold_3141_206-3638	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	307
Cte-GNA13 [gji Capcal 164626 scaffold_186_37306-50143	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	353
Anoga-GNAS Q79D79	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	360
Homsa-GNAS P63092	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	371
Xenla-GNAS P24799	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	356
Schma-GNAS P30669	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	356
Geocy-GNAS Q9XZV5	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	358
Cte-GNA2 [gji Capcal 109140 scaffold_353_23039-25906	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	349
Caele-GPA11 Q76584	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	340
Caele-GPA14 Q4V238	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	314
Caabr-GPA14 Q4V238	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	385
Caele-GPA13 Q9XTB2	-----TMSSEKALFRITTYPHF-QNSVILFLKRLKDLLEKI-KKQ-S-LTIQFFPEFD-----GKQ-TIEEA-----AALIQGFPEK-----K-S-SSTIILISDFC-AI022	331

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. In einigen Fällen sind die Zugangsnummern bereits in der Abkürzung für das Alignment enthalten. Für *C. teleta* werden die Modellnummern aufgeführt.

- Anoga-GNAS|Q7PD79 // Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha // *Anopheles gambiae*
- Bosta-GNAT1|P04695 // Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1 // *Bos taurus*
- Caabr-GPA1|Q60MJJ // Guanine nucleotide-binding protein alpha-1 subunit // *Caenorhabditis briggsae*
- Caabr-GPA14|Q4VT38 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-14 subunit // *Caenorhabditis briggsae*
- Caele-GPA11|Q76584 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-11 subunit // *Caenorhabditis elegans*
- Caele-GPA12|Q19572 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-12 subunit // *Caenorhabditis elegans*
- Caele-GPA13|Q9XTB2 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-13 subunit // *Caenorhabditis elegans*
- Caele-GPA16|Q9N2V6 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-16 subunit // *Caenorhabditis elegans*
- Canfa-GNAT1|Q28300 // Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1 // *Canis familiaris*
- Cte-GNA13|gji|Capcal|3994|scaffold_114:31433-37912 // *Capitella teleta*
- Cte-GNA11|gji|Capcal|178654|scaffold_137:391782-401064 // *Capitella teleta*
- Cte-GNA12|gji|Capcal|227716|scaffold_416:93901-100875 // *Capitella teleta*

- Cte-GNAI3|jgi|Capca1|197606|scaffold_3141:206-3638 // *Capitella teleta*
- Cte-GNAO|jgi|Capca1|120382|scaffold_56:73060-80748 // *Capitella teleta*
- Cte-GNAQ|jgi|Capca1|112050|scaffold_451:35514-45644 // *Capitella teleta*
- Cte-GNAS|jgi|Capca1|164626|scaffold_186:37306-50143 // *Capitella teleta*
- Cte-GNAS2|jgi|Capca1|109140|scaffold_353:23039-25906 // *Capitella teleta*
- Danre-GNA14|57524689 // guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha 14 // *Danio rerio*
- Danre-GNAQ|113682158 // guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha 11 (Gq class) // *Danio rerio*
- Daphn-GNA12|13|321479271 // guanine nucleotide binding protein, alpha 12/13 // *Daphnia pulex*
- Dicdi-GPA1|P16894 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-1 subunit // *Dictyostelium discoideum*
- Dicdi-GPA12|Q54VG1 // Guanine nucleotide-binding protein alpha-12 subunit // *Dictyostelium discoideum*
- Dromel-GNAL|P25157 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha homolog // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-GNAO|P16378 // Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-GNAQ|P23625 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Drosophila melanogaster*
- Geocy-GNAO|Q9XZV3 // Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha // *Geodia cydonium*
- Geocy-GNAQ|Q9XZV4 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Geodia cydonium*
- Geocy-GNAS|Q9XZV5 // Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha // *Geodia cydonium*
- Homam-GNAQ|P91950 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Homarus americanus*
- Homsa-GNA11|P29992 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11 // *Homo sapiens*
- Homsa-GNA12|Q03113 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12 // *Homo sapiens*
- Homsa-GNA13|Q14344 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13 // *Homo sapiens*
- Homsa-GNA14|O95837 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-14 // *Homo sapiens*
- Homsa-GNA16 // AAA35860.1 // G-alpha-16 protein // *Homo sapiens*
- Homsa-GNAQ|P50148 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Homo sapiens*
- Homsa-GNAS2|P63092 // Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms // *Homo sapiens*
- Homsa-GNAT1|P11488 // Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1 // *Homo sapiens*
- Lolfo-GNAQ|P38412 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Loligo forbesi*
- Lymst-GNAO|P30683 // Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha // *Lymnaea stagnalis*
- Lymst-GNAQ|P38411 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Lymnaea stagnalis*
- Mizye-GNAO|O15976 // Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha // *Mizuhopecten yessoensis*
- Musmu-GNA13|P27601 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13 // *Mus musculus*
- Musmu-GNA15 // NP_034434.1 // guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-15 // *Mus musculus*
- Ratno-GNAI1|P10824 // Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1 // *Rattus norvegicus*
- Ratno-GNAO|P59215 // Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha // *Rattus norvegicus*
- Schma-GNAS|P30669 // Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha // *Schistosoma mansoni*
- Xenla-GNA11|P43444 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11 // *Xenopus laevis*
- Xenla-GNA14|O73819 // Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-14 // *Xenopus laevis*
- Xenla-GNAQ|P38410 // Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha // *Xenopus laevis*
- Xenla-GNAS|P24799 // Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha // *Xenopus laevis*

8.5 Vesikulärer Acetylcholin-Transporter (Cte-VACHT)

Musmu-VACHT	-----MEPTAPAG-----QARRAAATKLSA-----VGAA	24
Homsa-VACHT	-----MEAEAPAG-----QARRAAATKLSA-----VGAA	24
Bosta-VACHT-pred	-----MEPEAPAG-----QARRAAATKLSA-----VGAA	24
Dandre-VACHT	-----MEAEAPAG-----QARRAAATKLSA-----VGAA	30
Cioni-VACHT	-----MDVCROKAG-----IVVALAGCINKIKRDLTAP-----LRDR	32
Strpu-VACHT-pred	-----MOMPOFNIDEKERMTEFG-----EKTR	25
Brafl-VACHT	-----MVLVFPSESLQGLKREYF-----EKTR	21
Cte-VACHT	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----K	22
Pdu-VACHT	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	22
Lotgi-mod	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	12
Lymst-VACHT	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	22
Dromel-VACHT	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	23
Caele-UNC17	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	22
Sakov-VACHT-pred	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	26
Nemve-mod	-----MG-----MHTIIVWVDELQELALD-----N	20
Musmu-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	107
Homsa-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	107
Bosta-VACHT-pred	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	107
Dandre-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	81
Cioni-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	106
Strpu-VACHT-pred	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	89
Brafl-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	85
Cte-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	93
Pdu-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	93
Lotgi-mod	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	61
Lymst-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	128
Dromel-VACHT	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	81
Caele-UNC17	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	86
Sakov-VACHT-pred	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	73
Nemve-mod	-----LQEQRRRLVIVCVALLDMLLMVIVPVDIA-----NHRGG-----SPLISEVWEPFLP-----PFLANASATA-----TSAPPTAAGA	61
Musmu-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	248
Homsa-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	248
Bosta-VACHT-pred	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	248
Dandre-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	221
Cioni-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	247
Strpu-VACHT-pred	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	230
Brafl-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	220
Cte-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	239
Pdu-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	236
Lotgi-mod	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	201
Lymst-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	274
Dromel-VACHT	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	221
Caele-UNC17	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	226
Sakov-VACHT-pred	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	218
Nemve-mod	-----RSILRPRPTESDVKIQLFASKAIIQLVLPPLGPPIDRMSYDVLPLLGLGVMPASVMPFAEDVA-----VLFARSLGLGSAPADSGIAMIADYPEEERRALVALAFIFGSLVAPPPGGILIEFAG-KRVFVLV	212
Musmu-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	385
Homsa-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	385
Bosta-VACHT-pred	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	377
Dandre-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	356
Cioni-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	376
Strpu-VACHT-pred	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	364
Brafl-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	355
Cte-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	377
Pdu-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	376
Lotgi-mod	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	340
Lymst-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	413
Dromel-VACHT	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	359
Caele-UNC17	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	364
Sakov-VACHT-pred	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	359
Nemve-mod	-----AAVSLDALLLVAARFSAAR-RARAR-LVPTPIHRLMLDPIAVAGALICHPILAFLEPTIANKHMAAEE-VEGHWMLPAPFVPLVGLVRLAARPHLMLGALGALVIGSCVLP-----ACRFAPVLV	356
Musmu-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	499
Homsa-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	499
Bosta-VACHT-pred	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	491
Dandre-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	470
Cioni-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	523
Strpu-VACHT-pred	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	504
Brafl-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	484
Cte-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	516
Pdu-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	477
Lotgi-mod	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	467
Lymst-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	540
Dromel-VACHT	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	501
Caele-UNC17	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	487
Sakov-VACHT-pred	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	461
Nemve-mod	-----SICLQCFGLVLDALLPILAFVDRVRVVGVEVAIADISVCAVALGPIVAGHIVHSLQFQSLQMLGALLYAPVLLLRNVLGTRSSSRD-----VLDDEPPO-----GLVDAMRE	460
Musmu-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	530
Homsa-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	532
Bosta-VACHT-pred	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	524
Dandre-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	513
Cioni-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	657
Strpu-VACHT-pred	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	561
Brafl-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	569
Cte-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	477
Pdu-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	508
Lotgi-mod	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	585
Lymst-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	578
Dromel-VACHT	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	532
Caele-UNC17	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	480
Sakov-VACHT-pred	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	487
Nemve-mod	-----RS-----VQKDDG-----EPCSPFPFDDC-----EDDN-YKRS-----	487
Musmu-VACHT	-----	530
Homsa-VACHT	-----	532
Bosta-VACHT-pred	-----	524
Dandre-VACHT	-----	513
Cioni-VACHT	-----	657
Strpu-VACHT-pred	-----	561
Brafl-VACHT	-----	516
Cte-VACHT	-----	569
Pdu-VACHT	-----	477
Lotgi-mod	-----	508
Lymst-VACHT	-----	585
Dromel-VACHT	-----	578
Caele-UNC17	-----	532
Sakov-VACHT-pred	-----	480
Nemve-mod	-----	487

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Bosta-VACHT-pred // XP_001253716.2 // vesicular acetylcholine transporter-like // *Bos taurus*
- Brafl-VACHT // ABO38804.1 // vesicular acetylcholine transporter // *Branchiostoma floridae*
- Caele-UNC17 // CCA65517.1 // UNC-17 protein // *Caenorhabditis elegans*

- Cioni-VACHT // NP_001027961.1 // vesicular acetylcholine transporter // *Ciona intestinalis*
- Cte-VACHT // jgi|Capca1|147365|e_gw1.10.10.1 // *Capitella teleta*
- Danre-VACHT // NP_001071018.1 // probable vesicular acetylcholine transporter-A // *Danio rerio*
- Dromel-VACHT // NP_477138.1 // VACHT // *Drosophila melanogaster*
- Homsa-VACHT // NP_003046.2 // vesicular acetylcholine transporter // *Homo sapiens*
- Lotgi-mod // jgi|Lotgi1|107236|e_gw1.6.509.1 // *Lottia gigantea*
- Lymst-VACHT // AAO83850.1 // vesicular acetylcholine transporter // *Lymnaea stagnalis*
- Musmu-VACHT // NP_068358.2 // vesicular acetylcholine transporter // *Mus musculus*
- Nemve-mod // jgi|Nemve1|171569|estExt_gwp.C_1810031 // *Nematostella vectensis*
- Pdu-VACHT // ABO93216.1 // VACHT // *Platynereis dumerilii*
- Sakow-VACHT-pred // XP_002732493.1 // vesicular acetylcholine transporter-like // *Saccoglossus kowalevskii*
- Strpu-VACHT-pred // XP_782213.1 // similar to VACHT CG32848-PA // *Strongylocentrotus purpuratus*

8.7 Pax6 (Cte-pax6)

Eups-c-pax6	HUNTENNHHVHVDHSSGSLGSGALHSDGSAAMKWSGTVLHETLPRDKPCGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	146
Dorop-pax6	MSCVSDQL-----FHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	103
Cte-pax6	-----SGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	93
Pdu-pax6	HFKIPFENNPGPGGSEVNGSLPLVKDEDEVA-----ARPKRSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	132
Ratno-pax6	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	95
Musmu-pax6	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	109
Homsa-pax6	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	95
Xent-r-pax6	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	95
Xenla-pax6	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	95
Sakow-pax6	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	102
Paliv-pax6	MAHKDFPDKGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	109
Helro-mod	-----MHGSGVNLGGVFGVGRPLDSTRQRIVLHLAGARPCDISRILH-----VHNGCVKILGRIVEGSRIPRAIGGKPVAVPVVVKIADFKRECP	77
Eups-c-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	298
Dorop-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	255
Cte-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	225
Pdu-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	278
Ratno-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	232
Musmu-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	246
Homsa-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	232
Xent-r-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	234
Xenla-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	232
Sakow-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	258
Paliv-pax6	IFAWERDRLLSEGVCGNDIPVSSIRVLRNLASEKIKVLGGTMYDKLGLLGG-QAWFRPNPWAFA-----SMAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	242
Helro-mod	ETKSELDRVILDRIKKTKYSGVLELTKLHEHLKCH-----MAGLSAPSSVTPNAPFSAVSKKEMENLSTSSDNGGQSGSONGEDMIRLRKRLRNRTFTAAIEALEKEFER	148
Eups-c-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	437
Dorop-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	394
Cte-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	353
Pdu-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	414
Musmu-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	372
Homsa-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	386
Xent-r-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	372
Xenla-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	374
Sakow-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	372
Paliv-pax6	HYDVFARELAKRIDLPEARIQWFSRRRAKWRREKLRNRREAAAGS-----RLPIHSSFPF-----SMVTPINPLAS-----MAESVRLDKQDVSAGLGHPTVFNLSLWITGNPAFLSN-ASSVSCMLP--DEVG-----NARSYDPLL	394
Helro-mod	NGGVSARESECFDEVSKKEALDEND-----IVKLEKEM-----OAEVGGVHFOSSSNIPLFSSSSNRVSVVPIPIPSAAMVPRAP-----DYSATPPMPSFMSAGPFIQMG-----PRDSSVTRMLHOPT-----HOYDLYE	379
Eups-c-pax6	NYSRSSCNPAAGQSGMTPHST-----NGGSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	503
Dorop-pax6	NYSRSSCNPAAGQSGMTPHST-----NGGSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	460
Cte-pax6	GSFSSSSCNPNPGLGGRHSA-----NGASG-----GVVVPVIVPQGGAFQDQVANANGMABQVPRII	416
Pdu-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	422
Ratno-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	422
Musmu-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	436
Homsa-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	422
Xent-r-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	422
Xenla-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	422
Sakow-pax6	IFIGGPIIVSHS-----ACMTOEGGOGYGGKILGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	457
Paliv-pax6	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	442
Helro-mod	IF-----PHMGTTHMS-----OPMGT-----GTTSGGLISPGVVPVIVPQGG--PQDMSTHNSMAGQVWRLI	191

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Cte-pax6 // jgi|Capca1|52961|gw1.29.76.1 // *Capitella teleta*
- Dorop-pax6 // AAB40616.1 // Pax-6 // *Doryteuthis opalescens*
- Eups-c-pax6 // AAM74161.1 // Pax-6 protein // *Euprymna scolopes*
- Helro-mod // jgi|Helro1|8037|fgenesh1_pg.C_scaffold_4000533 // *Helobdella robusta*
- Homsa-pax6 // NP_000271.1 // paired box protein Pax-6 isoform a // *Homo sapiens*
- Musmu-pax6 // NP_038655.1 // paired box protein Pax-6 isoform 1 // *Mus musculus*
- Paliv-pax6 // AAA75363.1 // Pax-6 // *Paracentrotus lividus*
- Pdu-pax6 // CAJ40659.1 // Pax6 protein // *Platynereis dumerilii*
- Ratno-pax6 // NP_037133.1 // paired box protein Pax-6 // *Rattus norvegicus*
- Sakow-pax6 // NP_001158383.1 // paired box 6 // *Saccoglossus kowalevskii*
- Xenla-pax6 // AAB05932.1 // Xpax6 // *Xenopus laevis*
- Xent-r-pax6 // NP_001006763.1 // paired box 6 // *Xenopus tropicalis*

- Helro-six1/2a-mod // DAA34942.1 // six-type transcription factor 1/2a // *Helobdella robusta*
- Helro-six1/2b-mod // DAA34943.1 // six-type transcription factor 1/2b // *Helobdella robusta*
- Helro-six1/2c-mod // DAA34944.1 // six-type transcription factor 1/2c // *Helobdella robusta*
- Helro-six1/2d-mod // DAA34945.1 // six-type transcription factor 1/2d // *Helobdella robusta*
- Helro-six1/2e-mod // DAA34946.1 // six-type transcription factor 1/2e // *Helobdella robusta*
- Helro-six1/2f-mod // DAA34947.1 // six-type transcription factor 1/2f // *Helobdella robusta*
- Homsa-six1 // NP_005973.1 // homeobox protein SIX1 // *Homo sapiens*
- Homsa-six2 // AAK16581.1 // SIX2 // *Homo sapiens*
- Lotgi-mod // jgi|Lotgi1|129577|e_gw1.66.193.1 // *Lottia gigantea*
- Musmu-six1 // CAA56585.1 // six1 // *Mus musculus*
- Musmu-six2 // CAA56584.1 // six2 // *Mus musculus*
- Nemve-mod // jgi|Nemve1|126214|e_gw.229.49.1 // *Nematostella vectensis*
- Oikdi-six1/2 // AAZ23141.1 // Six1/2 // *Oikopleura dioica*
- Ovar-six1 // NP_001167584.1 // homeobox protein SIX1 // *Ovis aries*
- Pdu-six2 // CAC86663.1 // Six2 protein // *Platynereis dumerilii*
- Sakow-six1-pred // XP_002735213.1 // SIX homeobox 1-like // *Saccoglossus kowalevskii*
- Tricas-sineoculis // ABV68546.1 // sine oculis // *Tribolium castaneum*
- Xenla-six1 // NP_001082027.1 // SIX homeobox 1 // *Xenopus laevis*
- Xentr-six2 // NP_001093745.1 // SIX homeobox 2 // *Xenopus tropicalis*

8.9 Eyes absent (Cte-eya)

Homsa-eya1	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	70
Xenla-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	126
Homsa-eya4	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	55
Homsa-eya3	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	95
Strpu-eya-pred	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	58
Sakow-eya-pred	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	93
Nemve-mod	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	17
Brafl-hyp	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	17
Cte-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	84
Dugja-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	149
Lotgi-mod	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	142
Tricas-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	23
Dromel-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	84
Aeade-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	149
Oikdi-eya	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	142
Homsa-eya2	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	23
Helro-mod	MEMODLTPSHRLEGSDDSPSGTLDNHNINRTPNGO	EVKTEPMSSDVIITDGLDNFSGSVIG	23

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Aeade-eya // EAT43397.1 // eyes absent // *Aedes aegypti*
- Brafl-hyp // XP_002609675.1 // hypothetical protein BRAFLDRAFT_83679 // *Branchiostoma floridae*
- Cte-eya // jgi|Capca1|218995|estExt_fgenesh1_pg.C_1030047 // *Capitella teleta*
- Dromel-eya // AAA28723.1 // eyes absent I // *Drosophila melanogaster*

- Dugja-eya // CAD89531.1 // eyes absent protein // *Dugesia japonica*
- Helro-mod // jgi|Helro1|10626|fgenes1_pg.C_scaffold_9000172 // *Helobdella robusta*
- Homsa-eya1 // AAI21799.1 // EYA1 protein // *Homo sapiens*
- Homsa-eya2 // CAA71310.1 // EYA2 // *Homo sapiens*
- Homsa-eya3 // CAA71311.1 // EYA3 // *Homo sapiens*
- Homsa-eya4 // CAA76636.1 // EYA4 protein // *Homo sapiens*
- Lotgi-mod // jgi|Lotgi1|124788|e_gw1.48.319.1 // *Lottia gigantea*
- Nemve-mod // jgi|Nemve1|116873|e_gw.142.6.1 // *Nematostella vectensis*
- Oikdi-eya // AAZ23130.1 // eyes absent // *Oikopleura dioica*
- Sakow-eya-pred // XP_002735755.1 // eyes absent 1-like // *Saccoglossus kowalevskii*
- Strpu-eya-pred // XP_789024.2 // similar to Eya1 protein // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Tricas-eya // EFA07446.1 // eyes absent // *Tribolium castaneum*
- Xenla-eya // NP_001083888.1 // eyes absent homolog 1 // *Xenopus laevis*

8.10 Dachshund (Cte-dac)

Brafi-dac	-----MATPPPLPS-----	-----PCHGLGLPPVAADPLGP-----	30
Sakow-dac	-----MTLVLEGSAAAPRLPLPSLNPTPLEAAPPAP-----	-----LHESVAVS-----	18
Cte-dac	-----MMVAEVRPISLPSRSLTPOPPA-----	-----LHESVAVS-----	67
Pdu-dac	-----MDSS---SHASEHNYSRDPKIPRQKPNLNINNNANNNN---MLNNTN---TNNGSINSSPTM---LNNSNVNMLPPSPFPSPVPLNVSRTSPSPVGGGGPPLPPPPNMPSPPPVPSNLSGLPHERHLNIP	-----PPH---HSTVMSISGMS-----	56
Pehuc-dac	-----MDSS---SHASEHNYSRDPKIPRQKPNLNINNNANNNN---MLNNTN---TNNGSINSSPTM---LNNSNVNMLPPSPFPSPVPLNVSRTSPSPVGGGGPPLPPPPNMPSPPPVPSNLSGLPHERHLNIP	-----PPH---HSTVMSISGMS-----	146
Tricas-dac-pred	-----MDSS---SHASEHNYSRDPKIPRQKPNLNINNNANNNN---MLNNTN---TNNGSINSSPTM---LNNSNVNMLPPSPFPSPVPLNVSRTSPSPVGGGGPPLPPPPNMPSPPPVPSNLSGLPHERHLNIP	-----PPH---HSTVMSISGMS-----	80
Aeadae-dac	-----MDSS---SHASEHNYSRDPKIPRQKPNLNINNNANNNN---MLNNTN---TNNGSINSSPTM---LNNSNVNMLPPSPFPSPVPLNVSRTSPSPVGGGGPPLPPPPNMPSPPPVPSNLSGLPHERHLNIP	-----PPH---HSTVMSISGMS-----	115
Cupsa-dac	-----MDSS---SHASEHNYSRDPKIPRQKPNLNINNNANNNN---MLNNTN---TNNGSINSSPTM---LNNSNVNMLPPSPFPSPVPLNVSRTSPSPVGGGGPPLPPPPNMPSPPPVPSNLSGLPHERHLNIP	-----PPH---HSTVMSISGMS-----	10
Xentri-dac	MAVPAALIPPLVPTAAATSSAASSSS---TNSSSAANSFPFLAP---SSGOLLKPEPTAAVTPSSSLSSPAPNLSASN---SSSG---AAGTG---GGGGGILLNCSG---LSPFLTTTSSSHNNIIIPSTPATKSTST	-----LHESVAVS-----	140
Xenia-dac	MAVPAALIPPLVPTAAATSSAASSSS---TNSSSAANSFPFLAP---SSGOLLKPEPTAAVTPSSSLSSPAPNLSASN---SSSG---AAGTG---GGGGGILLNCSG---LSPFLTTTSSSHNNIIIPSTPATKSTST	-----LHESVAVS-----	146
Homsa-dac	MAVPAALIPPLVPTAAATSSAASSSS---TNSSSAANSFPFLAP---SSGOLLKPEPTAAVTPSSSLSSPAPNLSASN---SSSG---AAGTG---GGGGGILLNCSG---LSPFLTTTSSSHNNIIIPSTPATKSTST	-----LHESVAVS-----	153
Musmu-dac	MAVPAALIPPLVPTAAATSSAASSSS---TNSSSAANSFPFLAP---SSGOLLKPEPTAAVTPSSSLSSPAPNLSASN---SSSG---AAGTG---GGGGGILLNCSG---LSPFLTTTSSSHNNIIIPSTPATKSTST	-----LHESVAVS-----	143
Dandre-dac	MAVPAALIPPLVPTAAATSSAASSSS---TNSSSAANSFPFLAP---SSGOLLKPEPTAAVTPSSSLSSPAPNLSASN---SSSG---AAGTG---GGGGGILLNCSG---LSPFLTTTSSSHNNIIIPSTPATKSTST	-----LHESVAVS-----	56

Brafi-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	151
Sakow-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	139
Cte-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	199
Pdu-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	182
Pehuc-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	299
Tricas-dac-pred	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	224
Aeadae-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	265
Cupsa-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	124
Xentri-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	273
Xenia-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	279
Homsa-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	287
Musmu-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	28
Dandre-dac	-----KLDSPAVPFPFAENTPANNCRMDVDRGAQVAAPVGGVVICLPVDFPLFKLHVGGLVTVTKKRLDIIPVVCVVEVVRILRGLGAIPOVGRKLLKREFDVLVDCNNAI-----SRPG	-----LHESVAVS-----	164

Brafi-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	197
Sakow-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	221
Cte-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	310
Pdu-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	297
Pehuc-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	428
Tricas-dac-pred	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	350
Aeadae-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	394
Cupsa-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	267
Xentri-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	376
Xenia-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	350
Homsa-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	390
Musmu-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	435
Dandre-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	308

Brafi-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	211
Sakow-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	335
Cte-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	418
Pdu-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	539
Pehuc-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	475
Tricas-dac-pred	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	519
Aeadae-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	400
Cupsa-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	590
Xentri-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	531
Xenia-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	588
Homsa-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	545
Musmu-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	590
Dandre-dac	-----RPPKRALPP---LMLPLIHO---KRLHLENG---DPTGHTPT-----	-----NGYLSPIILLTPPSM-----	441

Brafi-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	339
Sakow-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	48
Cte-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	544
Pdu-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	481
Pehuc-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	677
Tricas-dac-pred	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	546
Aeadae-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	661
Cupsa-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	350
Xentri-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	618
Xenia-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	609
Homsa-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	699
Musmu-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	744
Dandre-dac	-----FLDEN-----	-----ISSEPELLNTIGLLKVAADNARQEKVOTMKEAKELMELLEREREALERQERORAVLQKRLKQKRAKRLKLEBOLBOORRRIOEDG---VKOESSDLRVLI-----	595

Brafi-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	360
Sakow-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	450
Cte-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	481
Pdu-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	594
Pehuc-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	758
Tricas-dac-pred	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	546
Aeadae-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	911
Cupsa-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	563
Xentri-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	692
Xenia-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	609
Homsa-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	706
Musmu-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	751
Dandre-dac	DAERKLODAR-----LYPKNVLFNA-----	-----RMCQDPRNISQDIDDDVINDIEDDDMADIDED-----	602

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* werden die Modellnummern aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Aeadae-dac // XP_001662126.1 // dachshund, putative // *Aedes aegypti*
- Brafi-dac // AAQ11368.1 // amphioxus dachshund // *Branchiostoma floridae*
- Cte-dac // jgi|Capca1|212927|fgenes1_pg.C_scaffold_63000042 // *Capitella teleta*
jgi|Capca1|212928|fgenes1_pg.C_scaffold_63000043 // *Capitella teleta*
- Cupsa-dac // CAD57736.1 // dachshund // *Cupiennius salei*
- Danre-dac // AAI62471.1 // Dacha protein // *Danio rerio*
- Homsa-dac // AAF01351.1 // dachshund // *Homo sapiens*
- Musmu-dac // AAF04742.1 // dachshund // *Mus musculus*
- Pdu-dac // ADG26728.1 // dachshund protein // *Platynereis dumerilii*
- Pehuc-dac // XP_002427868.1 // dachshund, putative // *Pediculus humanus corporis*

-
- Sakow-dac // ACG70190.1 // dachshund protein // *Saccoglossus kowalevskii*
 - Tricas-dac-pred // XP_969771.2 // dachshund // *Tribolium castaneum*
 - Xenla-dac // CAD88222.1 // putative dachshund A // *Xenopus laevis*
 - Xentr-dac // NP_001072176.1 // dachshund homolog 1 // *Xenopus tropicalis*

8.11 Chx10 (*Cte-chx10*)

Musmu-vsx2	---MKGAGEALSK---PKSETVAKSTSGG-----APARCCTGFGIOLIG-LNKPPSHPRRAAL-DGLAPG-HLLAARSVLSPAGVGS---MGLLGPGLPGFYTOP-----FLEVLSDPQSVH---LQPLGRASGP	114
Homsa-vsx2	---MKGAGEALSK---PKSETVAKSTSGG-----APARCCTGFGIOLIG-LNKPPSHPRRAAL-DGLAPG-HLLAARSVLSPAGVGS---MGLLGPGLPGFYTOP-----FLEVLSDPQSVH---LQPLGRASGP	114
Danre-vsx2	---MGQDAVLSGSIINRKSGLCATEQGNQNNHPLSKSSSTIPPKCTGFGIOLIG-LNKPE-5BAPRSYL-DSEFAGALHLSRMLGAGVGVGMGLGPGLPGFYTOP-----AFLEVLSDPQSVH---LQPLGRASGP	131
Sakou-vsx2-pred	---MGQDAVLSGSIINRKSGLCATEQGNQNNHPLSKSSSTIPPKCTGFGIOLIG-LNKPE-5BAPRSYL-DSEFAGALHLSRMLGAGVGVGMGLGPGLPGFYTOP-----AFLEVLSDPQSVH---LQPLGRASGP	123
Strpu-vsx2-pred	---MGQDAVLSGSIINRKSGLCATEQGNQNNHPLSKSSSTIPPKCTGFGIOLIG-LNKPE-5BAPRSYL-DSEFAGALHLSRMLGAGVGVGMGLGPGLPGFYTOP-----AFLEVLSDPQSVH---LQPLGRASGP	146
Cte-chx10	---MGQDAVLSGSIINRKSGLCATEQGNQNNHPLSKSSSTIPPKCTGFGIOLIG-LNKPE-5BAPRSYL-DSEFAGALHLSRMLGAGVGVGMGLGPGLPGFYTOP-----AFLEVLSDPQSVH---LQPLGRASGP	146
Tricas-vsx	-----MDQHSLSLHWPCFPKRLKELPAIRLLPFLP-NCTIIDRFKRVKRNPFVITNSV-VTIWEEEDSIIKIDVFRGPPASINQQQSQQLPFI-----NERNRFP-----NATPTKTEML	111
Pehuc-chx10	-----MAVD---MOLAASOMENQ---MNSQRN---SFAITHLIG-IGQNAL-LHGHCYQ-ETTFPHQNFMDISTCQVGFSDSRPLCGDGLQNVHASS-----AFMLYRHP-----STNDVVLNV	104
Helro-mod	-----MGLTILSGSISLSSGPPRLSVFAAKSPITGTPSPQORS-SFALHELLGLQEQQPKRETPIS-RPLIPLMAAAGAPAMASVASCIPGFHPSPASLIFAAAKASVQDRAALAAALMSHFVQQAQSPFG---LPLIADSRND	130
Caehr-ceh10	-----MGLTILSGSISLSSGPPRLSVFAAKSPITGTPSPQORS-SFALHELLGLQEQQPKRETPIS-RPLIPLMAAAGAPAMASVASCIPGFHPSPASLIFAAAKASVQDRAALAAALMSHFVQQAQSPFG---LPLIADSRND	137
Ascsu-ceh10	-----MGLTILSGSISLSSGPPRLSVFAAKSPITGTPSPQORS-SFALHELLGLQEQQPKRETPIS-RPLIPLMAAAGAPAMASVASCIPGFHPSPASLIFAAAKASVQDRAALAAALMSHFVQQAQSPFG---LPLIADSRND	118
Musmu-vsx2	LDTSTASDSDVDSDDRRMKSALNQTAKKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	267
Homsa-vsx2	LDTSTASDSDVDSDDRRMKSALNQTAKKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	267
Danre-vsx2	LEHMSASDSDVDSDDRRMKSALNQTAKKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	285
Sakou-vsx2-pred	LEHMSASDSDVDSDDRRMKSALNQTAKKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	275
Strpu-vsx2-pred	I-LIEEMHDIRFSGSSPSVSMG-----KRRKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	293
Cte-chx10	I-LIEEMHDIRFSGSSPSVSMG-----KRRKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	129
Tricas-vsx	A-RTIRKQQLNSKDFVTDLQ-SFNKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	261
Pehuc-chx10	A-RTIRKQQLNSKDFVTDLQ-SFNKRRRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	116
Helro-mod	-----KQSTNPTNRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	113
Caehr-ceh10	EPPTVSSLETSSSGACATSTSSGGKASKRKKRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	259
Ascsu-ceh10	EPPTVSSLETSSSGACATSTSSGGKASKRKKRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	272
Homsa-vsx1	RQKRSDSVTSDDQEDRDNLKASPDLKRRKKRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	284
Musmu-vsx1	SQKRSDSVTSDDQEDRDNLKASPDLKRRKKRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	289
Xentri-vsx1	SQKRENTI---DDLELQKNDLKASSSQAKRKKRRRIFPSVLELEKAFNEAHYPPVAREMLAMKTELDPEDRIYVDFRRARWRKREKCGRSSVMAEYGLGAMVRESLPLPEILRSKADG-IMDCAPMLLGMKRSLEAAAE-SG	270
Musmu-vsx2	RKPEVERQ-ALPKL-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	326
Homsa-vsx2	RKPEVERQ-ALPKL-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	326
Danre-vsx2	SKSDVTQTPNPKL-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	342
Sakou-vsx2-pred	SKSDVTQTPNPKL-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	325
Strpu-vsx2-pred	SKSDVTQTPNPKL-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	366
Cte-chx10	SKSDVTQTPNPKL-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	188
Tricas-vsx	DKCNSDREHETSMR-TEASDTEALN-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	354
Pehuc-chx10	DKCNSDREHETSMR-TEASDTEALN-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	255
Helro-mod	VEKCOMDSDEED-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	113
Caehr-ceh10	VEKCOMDSDEED-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	315
Ascsu-ceh10	VEKCOMDSDEED-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	295
Homsa-vsx1	EDKLKAGLMSDFLK-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	337
Musmu-vsx1	EDKLKAGLMSDFLK-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	344
Xentri-vsx1	EDMAREKSKSHV-----DKMDEPRA-----PEAQAISOELREHIAALRAKAEHETKVLGTQVSG-----	324
Musmu-vsx2	-----FDSLARNAEKPEE-----DAEEDRPAERLPPQLEDMA	361
Homsa-vsx2	-----FDSLARNAEKPEE-----DAEEDRPAERLPPQLEDMA	361
Danre-vsx2	-----ERLEHNMT-----VTEKSSSEIDAKEEKS	372
Sakou-vsx2-pred	-----ERLEHNMT-----VTEKSSSEIDAKEEKS	361
Strpu-vsx2-pred	DDSSSDSGLTGKRSQVGVGDDERAKLSSSPDGHAGHAGHGDORRHGRVREEDVAGDQSGSSESDCESDIEVDL-----	450
Cte-chx10	GLRFBKHQDMDVLDLQVNNHSELKLP-----ASECSDFPP-----KDNQEDSDTELDLTN-----	243
Tricas-vsx	LMMQVR-----SDAN-----ANNLHQ-----EVVN-ASTPSPF-----	384
Pehuc-chx10	DALLVWGPRLGCDAL-----ANSNHRPQSHL-----DMLNRSDDWSSLP-----	305
Helro-mod	-----TFSKSS-----NSLKLYDYINSM-----	335
Caehr-ceh10	-----KACHVY-----DHSL-----	307
Ascsu-ceh10	-----KVNPGAGAQQGSN-----VALEGPQPKVAT-----	365
Homsa-vsx1	-----KMPQGS-----SQOL-POPQVAGS-----	363
Musmu-vsx1	-----KMPQGS-----SQOL-POPQVAGS-----	363
Xentri-vsx1	-----SRVRRN-----SLKDSQSLDSEH-----	344

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Ascsu-ceh10 // ADY46999.1 // Homeobox protein ceh-10 // *Ascaris suum*
- Caehr-ceh10 // XP_002641221.1 // CEH-10 protein // *Caenorhabditis briggsae*
- Cte-chx10 // jgi|Capca|211682|fgenesh1_pg.C_scaffold_242000021 // *Capitella teleta*
- Danre-vsx2 // NP_571537.2 // visual system homeobox 2 // *Danio rerio*
- Helro-mod // jgi|Helro1|88135|e_gw1.62.186.1 // *Helobdella robusta*
- Homsa-vsx2 // NP_878314.1 // visual system homeobox 2 // *Homo sapiens*
- Homsa-vsx1 // NP_055403.2 // visual system homeobox 1 isoform a // *Homo sapiens*
- Musmu-vsx2 // NP_031727.1 // visual system homeobox 2 // *Mus musculus*
- Musmu-vsx1 // NP_473409.1 // visual system homeobox 1 // *Mus musculus*
- Pehuc-chx10 // XP_002425985.1 // Homeobox protein CHX10, putative // *Pediculus humanus corporis*
- Sakou-vsx2-pred // XP_002736712.1 // visual system homeobox 2-like // *Saccoglossus kowalevskii*
- Strpu-vsx2-pred // XP_781184.1 // similar to paired-like homeobox protein // *Strongylocentrotus purpuratus*
- Tricas-vsx // CAX64460.1 // visual system homeobox protein // *Tribolium castaneum*
- Xentri-vsx1 // NP_001093670.1 // visual system homeobox 1 // *Xenopus tropicalis*

8.12 Single-minded (*Cte-sim*)

Homsa-sim1	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Musmu-sim1	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Mondo-sim-pred	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Xentr-sim-pred	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Cte-sim	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Musmu-sim2	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Brafl-hyp	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Sakow-sim	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Pehuc-sim	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Achte-sim	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Tricas-sim-pred	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Dromel-sim	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Strpu-sim-pred	-----MKKKKAARRREREKESFFELAKLPLPAITSSLDKASIR-----LTSVLMKRVVFPDGLDGGWGRSPTSD-----LNVVRELGSHLLDGLDFVFPVAPDKIMTISE-----AVVHGLSGLVSVLGSNVEYIHPADDEMAAV	155
Neuve-mod	MAKGGPKRNDVOKCKSDAARRSGQDFEAFSLHQLPLFKSISGDLRCLIRL-----LNSIKIKRLLSVMNDQNVNVALNF-----QESSLFDKQLLALDGFVUVALODQCVLISE-----VVVYLGSLQTEVYVNSLIVKVPDCSHELLAV	155
Helro-mod	-----HPANKITSTITNELPDKNGLETNHLKCKCKTPEDANDDQDRVDEDFSRFPFPTATNAHGGQPPQKCGSVVLIISLSSTYQLD-----HASEAPGKYSFRIGLPTVTRCVRVALLKAKLILGSGAAVAHV	155
Homsa-sim1	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Musmu-sim1	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Mondo-sim-pred	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Xentr-sim-pred	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Cte-sim	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Musmu-sim2	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Brafl-hyp	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Sakow-sim	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Pehuc-sim	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Achte-sim	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Tricas-sim-pred	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Dromel-sim	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Strpu-sim-pred	LIARHP-----YHSFVVEYERISFFLDMKCVLAKR-----IAGLCCGGKVIKCSOYLKIRVYSLDMPPDCCONVGLVAVGSHPPHATEIKLNSMFMFRASLDLKLIFIDSRVRLGCEVDPDLLEKLVHVVHCDFPLHCAHILLVKG	310
Neuve-mod	CHVLKSE-----DIIICMDDYVGGYVIMKNIITIS-----VVEATFVDAIDINIKKAIKPKKMLLEPTFHTLKVLDIEASVAHQ-----PQVIVVVON	310
Homsa-sim1	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Musmu-sim1	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Mondo-sim-pred	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Xentr-sim-pred	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Cte-sim	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Musmu-sim2	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Brafl-hyp	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Sakow-sim	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Pehuc-sim	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Achte-sim	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Tricas-sim-pred	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Dromel-sim	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Strpu-sim-pred	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Neuve-mod	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Helro-mod	VVTIKYFRFLAKGGVWVVSVAIVHSSRRPHICVSVVVLVDETEKGLLSDLDLASKAPAFSITSSPPM-----DNRRKAKSLRISKKRSRT-----PFFVSG-----FHTERESEBDDWGGPPLDASPOLLDPADRFGS-----HDAFCA	465
Homsa-sim1	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Musmu-sim1	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Mondo-sim-pred	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Xentr-sim-pred	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Cte-sim	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Musmu-sim2	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Brafl-hyp	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Sakow-sim	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Pehuc-sim	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Achte-sim	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Tricas-sim-pred	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Dromel-sim	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Strpu-sim-pred	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Neuve-mod	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Helro-mod	RFDFDRSSLCG-----FALDNRSLVEDRFRDQAC-----EGRCCEAGRFGLGPP-----AGREVMWGRRAALFLKAKPEREAVNSHPHISVHRIHGRHWDSDVVSSDPGASASDRRYREYQS-----VHPHPIKELI	620
Homsa-sim1	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Musmu-sim1	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Mondo-sim-pred	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Xentr-sim-pred	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Cte-sim	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Musmu-sim2	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Brafl-hyp	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Sakow-sim	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Pehuc-sim	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Achte-sim	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Tricas-sim-pred	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Dromel-sim	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Strpu-sim-pred	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Neuve-mod	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Helro-mod	RAADQIKKEENLRLKRPKQOLALINGAKRKLCPANVQPPPTGCVCHSALANPCDHIQOREGKHLSEVNDVSPALSRISPSNDRIKSLKLLAKLYLEDFHQPAGDHPVSPFCGSRQVFDKHAHYLTGALYELI	775
Homsa-sim1	DEEIRRY-ELCGNGHFVDT-SHLRMDPDPGCKGTIVLINGS-----	845
Musmu-sim1	DEEIRRY-ELCGNGHFVDT-SHLRMDPDPGCKGTIVLINGS-----	845
Mondo-sim-pred	DEEIRRY-ELCGNGHFVDT-SHLRMDPDPGCKGTIVLINGS-----	845
Xentr-sim-pred	DEEIRRY-ELCGNGHFVDT-SHLRMDPDPGCKGTIVLINGS-----	845
Cte-sim	DEEIRRY-ELCGNGHFVDT-SHLRMDPDPGCKGTIVLINGS-----	845
Musmu-sim2	FYRRNCR-QLRSWVGRGT-AHS-CRAGFPGAGPGVNL-----	845
Brafl-hyp	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Sakow-sim	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Pehuc-sim	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Achte-sim	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Tricas-sim-pred	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Dromel-sim	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Strpu-sim-pred	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Neuve-mod	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845
Helro-mod	ETIRKSPVPLMSNOMDLDLMSVNSRAHYKGVANGAAL-----	845

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artnamen. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Achte-sim // BAE87099.1 // Single minded // *Achaearanea tepidariorum*
- Brafl-hyp // XP_002612587.1 // hypothetical protein BRAFLDRAFT_265033 // *Branchiostoma floridae*
- Cte-sim // jgi|Capca1|165634|estExt_Genewise1.C_40076 // *Capitella teleta*
- Dromel-sim // AAC64519.1 // single-minded protein // *Drosophila melanogaster*
- Helro-mod // jgi|Helro|15822|fgenesh1_pg.C_scaffold_22000168 // *Helobdella robusta*
- Homsa-sim1 // AAB62395.1 // hSIM1 // *Homo sapiens*

-
- Homsa-sim2 // CAA05055.1 // human SIM2 // *Homo sapiens*
 - Mondo-sim-pred // XP_001367899.1 // single-minded homolog 1 // *Monodelphis domestica*
 - Musmu-sim1 // AAA91201.1 // SIM1 // *Mus musculus*
 - Musmu-sim2 // AAA91202.1 // SIM2 // *Mus musculus*
 - Nemve-mod // jgi|Nemve1|161959|estExt_gwp.C_260085 // *Nematostella vectensis*
 - Pehuc-sim // XP_002423706.1 // single-minded, putative // *Pediculus humanus corporis*
 - Sakow-sim // NP_001158398.1 // single-minded homolog 1 // *Saccoglossus kowalevskii*
 - Strpu-sim-pred // XP_782984.2 // similar to single-minded // *Strongylocentrotus purpuratus*
 - Tricas-sim-pred // XP_967930.2 // similar to Single minded // *Tribolium castaneum*
 - Xentr-sim-pred // XP_002932187.1 // single-minded homolog 1-like // *Xenopus tropicalis*

8.13 LIM-Homeobox (*Cte-lhx2/9*)

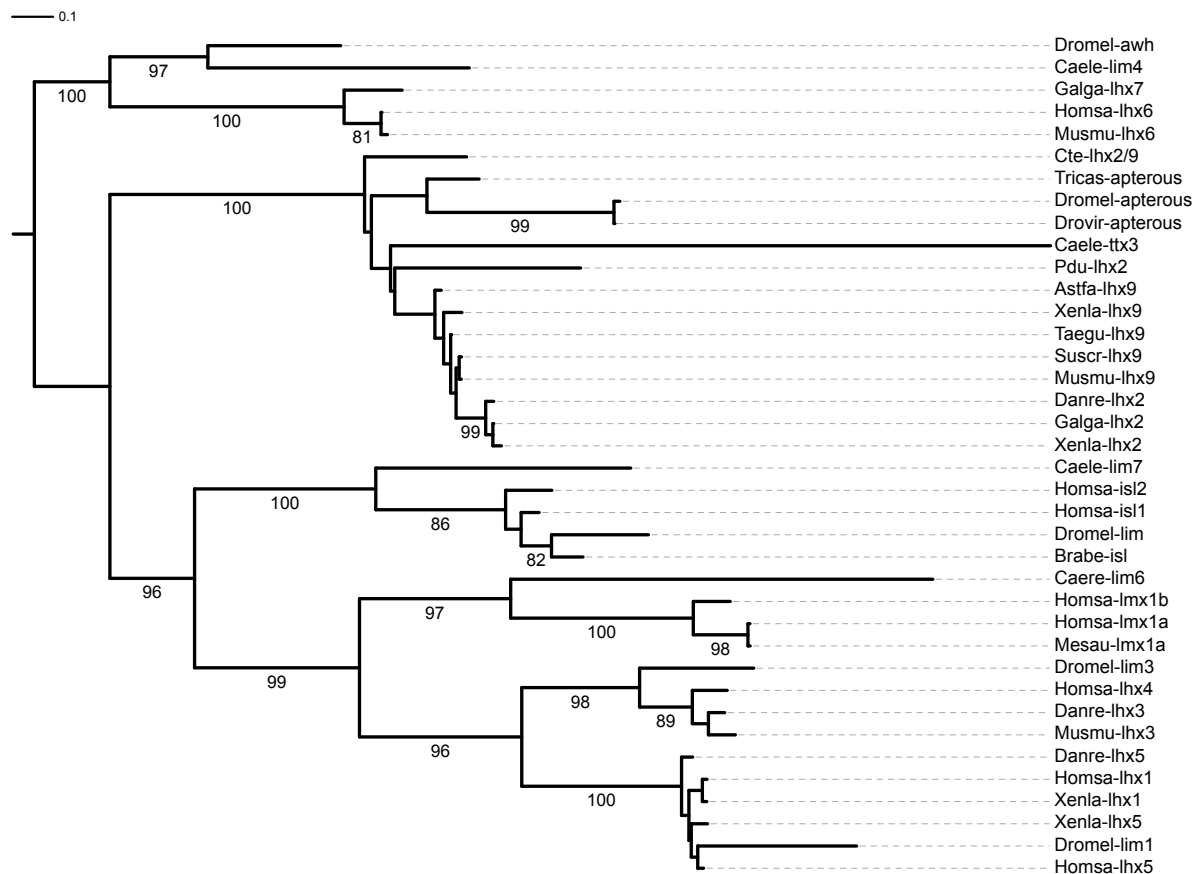
Pdu-lhx2	PCAGGGKIDRYLLAV-DQMHINCLKADGHLPLDSICFADGDIIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	149
Cte-lhx2/9	LCAGGCKITDRIYLLAV-ERAMHANCRCAPKCLPLDSICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Astfa-lhx9	LCAGGCKITDRIYLLAV-ERAMHANCRCAPKCLPLDSICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Teagu-lhx9	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Musmu-lhx9	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Suscr-lhx9	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Xenia-lhx9	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Galga-lhx2	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Xenia-lhx2	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Danre-lhx2	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Tricas-apterous	LCAGGCKITDRIYLLAV-DQMHILRCKCCKLALLESICFADGDIICAEIYRPAACSRGHIAIENELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Drovir-apterous	DCAGCGQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Dromel-apterous	DESISGQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Musmu-lhx6	ICSSGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Homsa-lhx6	ICSSGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Galga-lhx7	VCSSGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Drome-awh	ICAGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Caele-lim4	ICAGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Caele-lim7	ICAGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Caele-ttx3	OCCLCTFAVDEISVVD-GRYHNENLRCQMDIIFPFCYKVDGVLFCADBARHOKCKRGETFLNEDVMKAMKEMFIHACVCEIGILNPGDVTMSGHLNCAHNAVTRTCEBESGSRKMRRTFKHLELRAMTIFALN	154
Dromel-lim	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Homsa-ls11	LCVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Homsa-ls12	MCVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Brabe-ls1	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Caele-lim7	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Homsa-lmx1b	VCSSGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Mesau-lmx1a	VCSSGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Caere-lim6	LCASGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Musmu-lhx3	VCSSGGLLELDLRYLLAV-NLIMVRCLESGVCRSLRQCCIKNKEIICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Danre-lhx2	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Homsa-lhx4	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Dromel-lim3	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Xenia-lhx1	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Danre-lhx5	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Xenia-lhx5	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154
Dromel-lim1	ICVCGCQOIQIDRIFLISAV-ERHWHASCLCAACROPLERCSIDNITICNDIYVYFPTKRCRGLASTISNEMELVMBARSHVFIIGCFICASGAKALIGDYFGMKDHLVCRSHHEHMLGAPLGGPPTGQPPDKGGVPLHLITPFR----	154

Pdu-lhx2	149
Cte-lhx2/9	198
Astfa-lhx9	198
Teagu-lhx9	198
Musmu-lhx9	198
Suscr-lhx9	198
Xenia-lhx9	198
Galga-lhx2	198
Xenia-lhx2	198
Danre-lhx2	198
Tricas-apterous	198
Drovir-apterous	198
Dromel-apterous	198
Musmu-lhx6	193
Homsa-lhx6	193
Galga-lhx7	198
Drome-awh	198
Caele-lim4	198
Caele-ttx3	198
Dromel-lim	199
Homsa-ls11	198
Homsa-ls12	198
Brabe-ls1	173
Caele-lim7	199
Homsa-lmx1b	198
Homsa-lmx1a	198
Caere-lim6	198
Musmu-lhx3	192
Danre-lhx3	192
Homsa-lhx4	191
Dromel-lim3	197
Xenia-lhx1	191
Homsa-lhx1	191
Danre-lhx5	191
Homsa-lhx5	191
Xenia-lhx5	191
Dromel-lim1	197

Es folgt eine Auflistung der Abkürzungen im Alignment verwendeter Gene verschiedener Organismen, den Zugangsnummern und dem Namen in der Datenbank des NCBI oder die Zugangsnummern für Modelle in der Datenbank des JGI sowie der Artname. Für *C. teleta* wird die Modellnummer aufgeführt, im Alignment aber die eigene Sequenz verwendet.

- Astfa-lhx9 // A218Z7.1 // LIM/homeobox protein Lhx9 // *Astyanax fasciatus*
- Brabe-ls1 // D3Y295 // LIM-homeodomain transcription factor islet protein // *Branchiostoma belcheri*
- Caele-lim4 // Q23380 // Lim domain family protein 4 // *Caenorhabditis elegans*
- Caele-lim7 // Q94160 // CeLIM-7 // *Caenorhabditis elegans*
- Caele-ttx3 // AAB97099.1 // putative transcription factor TTX-3 // *Caenorhabditis elegans*
- Caere-lim6 // C8YUF4 // LIM-6 // *Caenorhabditis remanei*
- Cte-lhx2/9 // jgi|Capca1|73387|gw1.495.26.1 // *Capitella teleta*
- Danre-lhx2 // AAI62549.1 // LIM homeobox 2 // *Danio rerio*
- Danre-lhx3 // Q90421 // LIM/homeobox protein Lhx3 // *Danio rerio*
- Danre-lhx5 // P52889 // LIM/homeobox protein Lhx5 // *Danio rerio*
- Drome-awh // Q8IRC7 // LIM/homeobox protein Awh // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-apterous // P29673 // Protein apterous // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-lim // P92031 // LIM homeobox protein // *Drosophila melanogaster*
- Dromel-lim1 // Q9V472 // DLim1 // *Drosophila melanogaster*

- Dromel-lim3 // Q9VJ02 // Lim3, isoform A // *Drosophila melanogaster*
- Drovir-apterous // XP_002059906.1 // apterous // *Drosophila virilis*
- Galga-lhx2 // NP_990220.1 // LIM/homeobox protein Lhx2 // *Gallus gallus*
- Galga-lhx7 // Q1PSV3 // LIM homeodomain protein // *Gallus gallus*
- Homsa-lhx6 // Q9UPM6 // LIM/homeobox protein Lhx6 // *Homo sapiens*
- Homsa-isl1 // P61371 // Insulin gene enhancer protein ISL-1 // *Homo sapiens*
- Homsa-isl2 // Q96A47 // Insulin gene enhancer protein ISL-2 // *Homo sapiens*
- Homsal-lhx1 // P48742 // LIM/homeobox protein Lhx1 // *Homo sapiens*
- Homsa-lhx4 // Q969G2 // LIM/homeobox protein Lhx4 // *Homo sapiens*
- Homsa-lhx5 // Q9H2C1 // LIM/homeobox protein Lhx5 // *Homo sapiens*
- Homsa-lmx1a // Q8TE12 // LIM homeobox transcription factor 1-alpha // *Homo sapiens*
- Homsa-lmx1b // O60663 // LIM homeobox transcription factor 1-beta // *Homo sapiens*
- Mesau-lmx1a // Q04650 // LIM homeobox transcription factor 1-alpha // *Mesocricetus auratus*
- Musmu-lhx3 // P50481 // LIM/homeobox protein Lhx3 // *Mus musculus*
- Musmu-lhx6 // Q9R1R0 // LIM/homeobox protein Lhx6 // *Mus musculus*
- Musmus-lhx9 // AAD22008.1 // LIM homeobox protein 9 // *Mus musculus*
- Pdu-lhx2 // ABO93218.1 // Lhx2 // *Platynereis dumerilii*
- Suscr-lhx9 // AAO85392.1 // LIM-homeobox protein 9 // *Sus scrofa*
- Taegu-lhx9 // NP_001185656.1 // LIM homeobox 9 // *Taeniopygia guttata*
- Tricas-apterous // NP_001139388.1 // apterous // *Tribolium castaneum*
- Xenla-lhx1 // P29674 // LIM/homeobox protein Lhx1 // *Xenopus laevis*
- Xenla-lhx2 // NP_001167469.1 // LIM homeobox 2 // *Xenopus laevis*
- Xenla-lhx5 // P37137 // LIM/homeobox protein Lhx5 // *Xenopus laevis*
- Xenla-lhx9 // ACJ65031.1 // LHX9 // *Xenopus laevis*



8.14 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
a	Auge
Abb	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
ap	Photorezeptorzelle Adultaug
AP	Alkaline Phosphatase
AS	Aminosäuren
B x T x H	Breite x Tiefe x Höhe
bb	Basalkörper
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
cDNA	komplementäre DNA
ci	Cilien
clo	ciliäre Organe
cLSM	Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop
C-Terminus	Carboxy-Terminus
CTP	Cytidintriphosphat
cu	Kutikula
Dig-UTP	Digoxigenin-Uridintriphosphat
DIK	Differentialinterferenzkontrast
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotid-Triphosphate
DTT	Dithiothreitol
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
EtBr	Ethidiumbromid
Fluo-UTP	Fluorescein-Uridintriphosphat
g	Gehirn
ga	Ganglion
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GTP	Guanosintriphosphat
h	Stunden

hln	Hauptlängsnervenstrang
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
JGI	DOE Joint Genome Institute
km	Kommissur
kn	Konnektiv
l	Liter
LB-Medium	Lysogeny Broth-Medium
lp	Photorezeptorzelle Larvalauge
ma	mikrovilläre Ausläufer
MFPL	Max F. Perutz Laboratories
mi	Mitochondrien
min	Minuten
ml	Milliliter
mM	millimolar
MPI	Max-Planck-Institut
mRNA	Boten-RNA
mu	Mundöffnung
mv	Mikrovilli
NCBI	National Center for Biotechnology
nep	Nephridien
nM	nanomolar
nm	Nanometer
no	Nuchalorgan
N-Terminus	Amino-Terminus
nt	Neurotroch
nu	Zellkern
p	Pinnulus
pc	Pigmentzelle
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pers	persönliche
pb	Pharyngealbulbus
pk	Perikaryen
pl	elektronendunkle Plättchen

POD	Peroxidase
prc	Photorezeptorzelle
prc cy	Cytoplasma Photorezeptorzelle
PSEDN	<i>Pax-Six-Eyes absent-Dachshund</i> -Netzwerk
pt	Prototroch
ptc	Zellen des Prototrochs
pv	Pigmentvesikel
RACE	rapid amplification of cDNA-ends
rae	Rhabdom des Adultauges
rd	Radiolus
RDGN	retinal determination genes-Netzwerk
rer	Raues Endoplasmatisches Retikulum
rle	Rhabdom des Larvalauges
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
sc cy	Cytoplasma des Zellkörpers
sc v	intrazelluläre Vakuole
sec	Sekunden
sk	Schlundkonnektiv
smc	Submikrovilläre Zisternen
sn	Seitennerven
suc	Stützzelle
tt	Telotroch
UTP	Uridintriphosphat
UV	Ultraviolett
vn	ventrales Nervensystem
welo	weitere ciliäre Organe
WMISH	Whole mount <i>in situ</i> -Hybridisierung
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
µM	mikromolar
λ	Wellenlänge

Organismen

Achte	<i>Achaearana tepidariorum</i>
Aedae	<i>Aedes aegypti</i>
Anoga	<i>Anopheles gambiae</i>
Apime	<i>Apis mellifera</i>
Apkla	<i>Aplysia californica</i>
Ascsu	<i>Ascaris suum</i>
Astfa	<i>Astyanax fasciatus</i>
Bosta	<i>Bos taurus</i>
Brabe	<i>Branchiostoma belcheri</i>
Brafel	<i>Branchiostoma floridae</i>
Caebr	<i>Caenorhabditis briggsae</i>
Caele	<i>Caenorhabditis elegans</i>
Caere	<i>Caenorhabditis remanei</i>
Canfa	<i>Canis familiaris</i>
Challo	<i>Chalinula loosanoffi</i>
Chlaf	<i>Chlamys farreri</i>
Cioni	<i>Ciona intestinalis</i>
Clara	<i>Cladonema radiatum</i>
Cte	<i>Capitella teleta</i>
Cupsa	<i>Cupiennius salei</i>
Danre	<i>Danio rerio</i>
Daphp	<i>Daphnia pulex</i>
Dicdi	<i>Dictyostelium discoideum</i>
Dorop	<i>Doryteuthis opalescens</i>
Dromel	<i>Drosophila melanogaster</i>
Drovir	<i>Drosophila virilis</i>
Dugja	<i>Dugesia japonica</i>
Eupsc	<i>Euprymna scolopes</i>
Eurco	<i>Eurythoe complanata</i>
Fugru	<i>Fugu rubripes</i>
Galga	<i>Gallus gallus</i>

Geocy	<i>Geodia cydonium</i>
Habur	<i>Haplochromis burtoni</i>
Homam	<i>Homarus americanus</i>
Homsa	<i>Homo sapiens</i>
Limpo	<i>Limulus polyphemus</i>
Lolfo	<i>Loligo forbesi</i>
Lotgi	<i>Lottia gigantea</i>
Lymst	<i>Lymnaea stagnalis</i>
Mesau	<i>Mesocricetus auratus</i>
Mizye	<i>Mizuhopecten yessoensis</i>
Mondo	<i>Monodelphis domestica</i>
Musdo	<i>Musca domestica</i>
Musmu	<i>Mus musculus</i>
Myted	<i>Mytilus edulis</i>
Neare	<i>Neanthes arenaceodentata</i>
Nemve	<i>Nematostella vectensis</i>
Octdo	<i>Octopus dofleini</i>
Oikdi	<i>Oikopleura dioica</i>
Ovar	<i>Ovis aries</i>
Paliv	<i>Paracentrotus lividus</i>
Patye	<i>Patinopecten yessoensis</i>
Pdu	<i>Platynereis dumerilii</i>
Pehuc	<i>Pediculus humanus corporis</i>
Petma	<i>Petromyzon marinus</i>
Plepa	<i>Plexippus paykulli</i>
Podca	<i>Podocoryne carnea</i>
Podoc	<i>Podocoryne carnea</i>
Ratno	<i>Rattus norvegicus</i>
Sakow	<i>Saccoglossus kowalevskii</i>
Schja	<i>Schistosoma japonicum</i>
Schma	<i>Schistosoma mansoni</i>
Schme	<i>Schmidtea mediterranea</i>
Sepof	<i>Sepia officinalis</i>

Strdr	<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>
Strpu	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>
Suscr	<i>Sus scrofa</i>
Taegu	<i>Taeniopygia guttata</i>
Todpa	<i>Todarodes pacificus</i>
Tricas	<i>Tribolium castaneum</i>
Utast	<i>Uta stansburiana</i>
Xenla	<i>Xenopus laevis</i>
Xentr	<i>Xenopus tropicalis</i>