



Psyko-fluer

- bananfluer som model for psykiske

Bananfluer kan hjælpe forskerne med at afsløre gener, der har betydning for udvikling af psykisk sygdom hos mennesket.

Om forfatteren



Palle Duun Rohde,
ph.d.-studerende,
Center for Kvantitativ
Genetik og Genomforsk-
ning, Institut for Moleky-
lærbiologi og Genetik,
Aarhus Universitet
palle.d.rohde@mbg.au.dk

Genetisk variation er forudsætningen for, at arter kan tilpasse sig til forskellige miljøer, der ofte kan være foranderlige og til tider stressende. Genetisk variation er ligeledes baggrunden for det succesfulde avlsarbejde, der udføres med afgrøder og husdyr. Det lyder jo meget godt, men genetisk variation er også årsagen til, at nogle mennesker bliver ramt af bestemte sygdomme.

Den genetiske variation, vi her taler om, kan være knyttet til et enkelt gen, hvor en enkelt DNA-byggesten (nukleotid) er udskiftet med en anden. En sådan ændring kan have stor betydning for effektiviteten og virkningen af det protein, som genet koder for. Det kan bl.a. medvirke til, at nogle køer producerer mere mælk, og at nogle kornsorter giver højere udbytte end andre. Det kan også være variation i et enkelt gen, der gør, at nogle mennesker

udvikler sygdomme – det gælder fx sygdomme som Huntingtons sygdom og cystisk fibrose.

Langt de fleste egenskaber – fx produktionsegenskaber hos husdyr i landbruget, vores højde og drøjde, adfærd og risiko for at udvikle sygdomme, fx psykiske sygdomme som skizofreni og ADHD – er dog under indflydelse af mange gener. Sådanne egenskaber kalder vi for *komplekse egenskaber*.

Men hvordan finder vi gener, der har betydning for de komplekse egenskaber? Netop dette spørgsmål er vi en gruppe forskere på tværs af universiteter og fagområder, der har sat sig for at belyse. Vi arbejder med at udvikle alternative analysemetoder til at identificere genetiske varianter, der øger risikoen for udviklingen af humane psykiske sygdomme, særligt skizofreni og ADHD.

DNA, gener og fænotype

Alle organismers celler indeholder DNA, hvori de genetiske instrukser til cellerne og deres bestanddeles opbygning og funktion ligger gemt. DNA består af lange kæder af kun fire byggesten; nukleotiderne adenin (A), guanin (G), cytosin (C) og thymin (T). Rækkefølgen (sekvensen) af disse byggesten udgør populært sagt arbejdstegningen over, hvordan en organisme skal opbygges og drives. Visse områder af DNA'et koder for proteiner, disse områder kaldes for gener. Proteinerne er organismens "arbejds-mænd", og resultatet af proteinernes virke kan vi observere som en *fænotype* – som fx kan være vores højde eller risiko for udvikling af en bestemt sygdom.

Figur A viser en lille del af DNA'et i tre individer (X, Y og Z). På to positioner i denne lille stump DNA (markeret med hhv. rødt og blått) er der variation i DNA-sekvensen mellem de tre individer.

Nedenunder ses princippet i Genome Wide Association Study (GWAS). Grupperes individerne efter, hvilken kombination af nukleotider de har i hver SNP sammen med den respektive værdi for den målte egenskab, kan det testes, om der ingen association er (B) eller er en association (C) mellem SNP'en og egenskaben. For SNP-2 (C) ses det, at individer med CC har væsentlig lavere værdi for egenskaben end individer med GG.

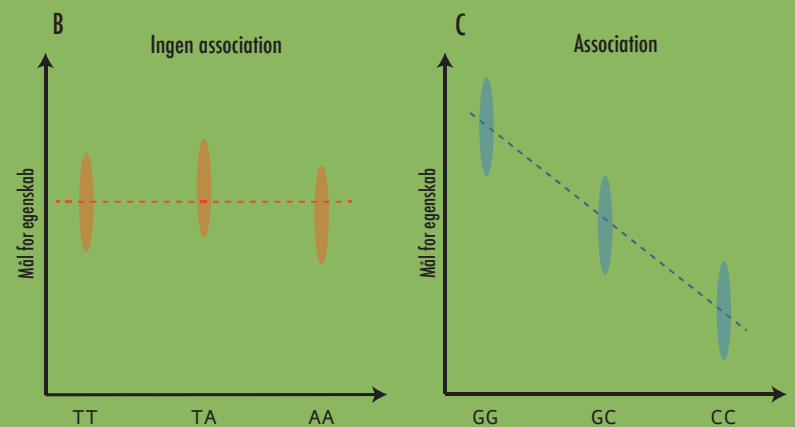
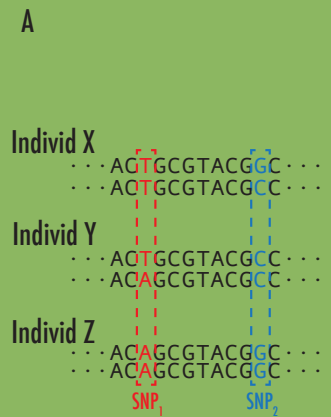


Foto: Colourbox

sygdomme

Nålen i høstakken

Det humane genom består af over 3 milliarder nukleotider, og der er hidtil identificeret over 10 millioner steder i genomet, hvor en enkelt nukleotid er byttet ud med en anden. Man kalder disse variationer for SNP'er, der står for *single nucleotide polymorphisms* (vi udtaler dem "snipper"). I langt størstedelen af genomet er vi mennesker altså helt ens, og den store variation, vi ser blandt mennesker (så som udseende og sygdomsrisici), er bl.a. knyttet til disse SNP'er.

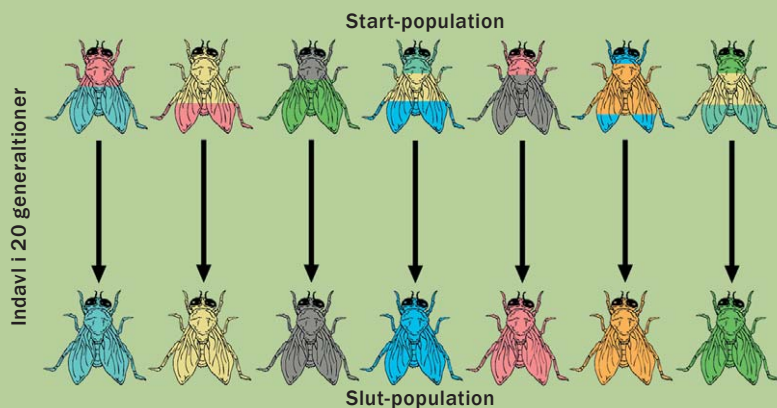
For at teste, om en bestemt SNP er associeret med en given egenskab, har forskere de seneste årtier benyttet en type statistisk test kaldet GWAS (*genome-wide association study*). Der findes forskellige varianter af disse tests, men typisk tester man én SNP ad gangen, og derfor udfører man ofte mange

Bananfluer af arten *Drosophila melanogaster*. En typisk flue er omkring 3 mm lang, hanner lidt mindre end hunner. Bananfluer er en populær organisme blandt forskere, da de er små, har kort generationstid, er billige i drift og de kan bruges til forsøg, man ikke kan udsætte mennesker for.

Derudover er fluernes genom sekventeret, og det er muligt at indkøbe mutanter og fluer, hvor ønskede gener er inaktiveret.

Foto: Torsten Nygård Kristensen



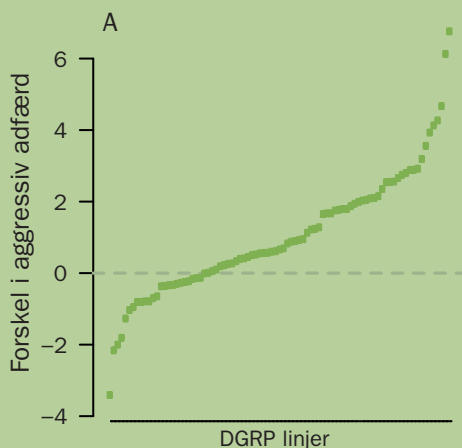


Grafisk repræsentation af DGRP-linjerne, hvor farverne angiver genetisk variation. I start-populationen er der genetisk variation indenfor hver linje (indikeret ved én flue) og imellem linjerne. Efter indavl er den genetiske variation indenfor hver linje væk, men der er stadig stor variation på tværs af linjerne.

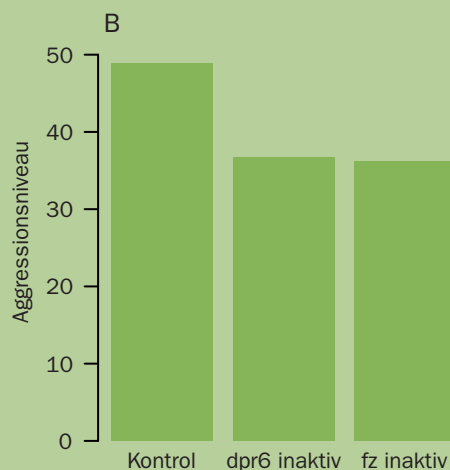
Billedet til højre viser en aggressions-arena bestående af 24 individuelle kamre med en lille dråbe mad i midten af hvert kammer. I vores forsøg blev to hanfluer placeret i hvert



kammer; én DGRP-flue og én kontrol-flue. I en periode på to minutter filmede vi fluernes kamp for at komme til maden. Efterfølgende gennemgik vi alle videoerne og noterede DGRP-fluernes aggressionsniveau. Vi kiggede på det samlede antal af fire typer af aggressiv adfærd; (1) truende, flappende adfærd med vinger (2) spark, (3) "stangende"-adfærd med hovedet, og (4) den ene flue jagede den anden.



(A) Forskel i aggressions-niveau mellem fluer fra isolation og fluer, der er vokset op i et socialt miljø. Punkter under den stiplede linje repræsenterer DGRP-linjer, hvor de socialt-opvoksede fluer er mere aggressive, mens punkter over linjen er DGRP-linjer, hvor fluer fra isolation er mere aggressive.



(B) To af generne, *dpr6* og *fz*, er særlig interessante, da de i mennesker mistænkes for at have betydning for, hvorvidt vi udvikler et iltert temperament og øger risikoen for udvikling af ADHD. Inaktiverer vi disse to gener i socialt-opvoksede fluer, ser vi en markant reduktion i, hvor aggressive fluerne er.

hundrede tusinde tests. Problemet med denne type test er bl.a., at man får mange falske positive resultater – dvs. at testen "opdager" en sammenhæng mellem SNP og egenskab, der reelt ikke eksisterer. Omvendt er en anden udfordring, at testen kan overse reelle sammenhænge, fordi komplekse egenskaber er under indflydelse af mange genetiske varianter, alle med små effekter, som derfor kan være svære at identificere.

Vi forsøger i vores tilgang at inddrage biologisk viden i de statistiske modeller – fx viden om geners position i genomet eller om samspillet mellem gener – for derigennem at gøre de statistiske metoder

bedre til at identificere risikogener. Yderligere kombinerer vi dette med funktionelle studier fra modelorganismer i håbet om at kunne bidrage med ny og relevant viden indenfor området.

Bananfluer som model for psykiske sygdomme

I vores arbejde bruger vi bananfluer som model i studiet af komplekse egenskaber, da det tillader os at udføre forsøg, der ikke er egnede til at blive udført på mennesker eller andre større pattedyr. Bananfluen er en af de mest anvendte modelorganismer, og den har været anvendt til genetiske studier i mere end 100 år.

Umiddelbart kan der synes langt fra en bananflue til et menneske, men kigger vi på generne, er lighederne større end forskellene. Ud af alle de gener, som vi ved forårsager sygdomme i mennesker, findes der i 75 % af tilfældene et tilsvarende gen i bananfluer.

Studier af bananfluer kan således bidrage til at identificere gener hos mennesket, der fx øger risikoen for udvikling af psykiske sygdomme. De kan også bidrage til at opnå en funktionel forståelse af specifikke gener, som studier på mennesker har afsløret påvirker sandsynligheden for udvikling af sygdomme.

Fokus på aggression

Konkret har vi studeret aggressiv adfærd hos bananfluer. Aggression er som egenskab interessant af flere årsager. I naturen spiller aggressiv adfærd en vigtig rolle i forhold til indsamling og forsvar af ressourcer samt etablering af dominans-hierarkier hos sociale dyr. Hos mennesker ses ændret aggressiv adfærd ofte i relation til nogle psykiske sygdomme.

Vi ved, ud fra studier af dyr lige fra insekter til mennesker, at aggression er en egenskab, der viser stor variation, og at det er en egenskab, der er under indflydelse af mange gener. Yderligere ved vi, at isolation øger frekvensen og graden af aggression. Men vi ved ikke, *hvilke gener* der styrer adfærden.

I vores forsøg benyttede vi en forholdsvis ny ressource indenfor bananflue-genetik: *Drosophila melanogaster Genetic Reference Panel* (DGRP), udviklet af gruppen omkring professor Trudy Mackay fra North Carolina State University i USA. Dette værktøj er netop udviklet til studier af komplekse egenskaber. DGRP består af omkring 200 bananflue-linjer, hvor hver linje er fuldt indavlet ved bror-søster-parring gennem mange generationer. Det betyder, at hver linje indeholder individer, der genetisk er identiske, men på tværs af linjerne findes der genetisk variation. Da data om genomsekvensen er frit tilgængelig for alle linjer, kan vi identificere SNP'er og gener, der bidrager til den variation i egenskaber, der findes mellem linjerne.

Fluer i arenaen

For hver linje af DGRP-bananfluer etablerede vi to miljøer; social og isoleret. Ved socialt miljø forstås, at fluerne holdes sammen i grupper, mens isoleret miljø betyder, at fluerne holdes alene uden kontakt med andre fluer.

Vi testede derefter han-fluers aggressionsniveau fra hvert af de to sociale miljøer. Til formålet anvendte vi en arena, bestående af individuelle kamre, hvor vi i hvert kammer anbragte én DGRP-flue sammen med en kontrolflue. I to minutter filmede vi fluerne kæmpe om en lille dråbe mad i midten af hvert kammer. Aggressionsniveauet blev efterfølgende bestemt som antallet af episoder med aggressiv adfærd.

Tværfagligt samarbejde

Forskningen beskrevet i denne artikel er udført i et nyt samarbejde på tværs af tre universiteter og fem institutter; Institut for Biomedicin, (Anders Børglum og Ditte Demontis) Institut for Bioscience (Volker Loeschcke) og Institut for Molekylærbiologi og Genetik (Peter Sørensen) ved Aarhus Universitet, Institut for Kemi og Bioteknologi ved Aalborg Universitet (Torsten Nygård Kristensen) og Department of Genetics ved North Carolina State University, USA (Trudy Mackay).

Det er et stærkt samarbejde, hvor vi udnytter kompetencer indenfor tre forskellige forskningsområder; human genetik med speciale i den genetiske baggrund for psykiske sygdomme, evolutionsgenetik med bananfluer som vigtigt værktøj, og statistiske og kvantitative genetiske analyser.

Forsøget viste en klar tendens, nemlig at isolation øger niveauet af aggression, men også at linjerne ikke påvirkes på samme måde. Der eksisterer altså genetisk variation for aggression samt variation i, hvordan fluerne påvirkes af isolation. Denne forskel brugte vi til at identificere gener, der kan forklare dette. Ved hjælp af statistiske metoder, hvor vi bl.a. inddrog biologisk information omkring gener og biologiske netværk, kunne vi identificere 30 gener, der har betydning for aggression. Ni af disse er hos mennesket mistænkt for at være involveret i udvikling af skizofreni og ADHD samt i, hvordan vi reagerer på antidepressiv medicin og i, hvor temperamentsfulde vi er. Ved at inaktivere to af de identificerede gener (som også findes hos mennesket) i socialt-opvoksede bananfluer, blev fluerne aggressive adfærd væsentlig reduceret, og vi kunne dermed validere vores resultater.

Præcise diagnoser og individuel behandling

Samspelet mellem statistiske metoder og funktionelle studier på modelorganismer er vigtig, hvis vi skal skabe en bedre forståelse for, hvorfor nogle mennesker bliver ramt af psykiske sygdomme og andre ikke gør.

Det er en tilgang, der vil kunne hjælpe os med at stille mere præcise diagnoser, som i dag kan være en stor udfordring. Kender vi de genetiske varianter, der forårsager sygdommene, vil vi kunne screene patienters genom efter risiko-generne og dermed gøre diagnoserne mere præcise og forhåbentlig også rådgive patienterne bedre. Ligeledes, hvis vi kender de genetiske og funktionelle årsager til sygdomme, vil vi på sigt kunne skræddersy behandlingen alt efter, hvilke risiko-gener patienten har. Samme sygdom kan skyldes forskellige risiko-gener, og derfor skal vi kunne tilbyde hver patient et unikt behandlingsforløb tilpasset deres genetiske varianter.

For de sygdomme, der er under indflydelse af mange hundrede gener, kan fejlen være opstået mange forskellige steder i genomet. Kender vi ikke den eksakte årsag til sygdommen, bliver behandlingen ikke effektiv – som at komme olie på bilen uden at vide, hvor det faktisk skal hen for at have den rette funktion. ■