

## Kapitel III: Geschlechtsdetermination – von ‚dem hodendeterminierenden Faktor‘ hin zu Modellen komplex interagierender und kommunizierender molekularer Komponenten

---

Im *vorangegangenen Kapitel* wurde herausgearbeitet, wie seit dem 18. Jh. und verstärkt im 19. Jh. *Prozesshaftigkeit* in Konzepten der Vererbung breitere Bedeutung erhielt. Man ging von präformistischen Zeugungsauffassungen ab und wandte sich Epigenese-Theorien zu. Entwicklungsprozesse, ausgehend von ungeformter Materie, wurden nun als bedeutsam für die Ausbildung eines neuen Individuums angenommen.

Allerdings wurden in solche neueren Epigenese-Theorien auch präformistische Auffassungen integriert: Neue Techniken lenkten den Blick mit dem endenden 19. und beginnenden 20. Jh. auf als Chromosomen<sup>1</sup> und als Gene<sup>2</sup> benannte kleinste Bestandteile in den Keimzellen (der Begriff ‚Gen‘ wird hier zunächst als Arbeitsbegriff verwendet und später genauer beleuchtet, vgl. *Kapitel III, S.283ff*). Chromosomen und Gene sollten nun zumindest die ersten ‚Informationen‘ enthalten, die embryonale Entwicklungsprozesse initiierten. Andere Interpretationen der Wirkungen von Chromosomen und Genen schrieben und schreiben diesen noch weit mehr Bedeutungen zu. Solche Interpretationen rei-

- 
- 1 Mit dem Begriff ‚Chromosomen‘ werden ‚Erbkörperchen‘ bezeichnet, die sich im Zellkern befinden und anfärbbar sind. Die als ‚Erbinformation‘ betrachtete DNA (engl. deoxyribonucleic acid; dt. Desoxyribonukleinsäure [DNS]) tritt in Chromosomen im Komplex mit Proteinen auf.
  - 2 Mit dem Begriff ‚Gen‘ werden einzelne Nukleinsäuresequenzen der DNA bezeichnet, die in RNA-Sequenzen (RNA, engl. ribonucleic acid; dt. Ribonukleinsäure [RNS]) und schließlich Aminosäure-Sequenzen übertragen werden können. Dabei übersteigt die Zahl der resultierenden Aminosäure-Sequenzen die Zahl der ‚Gene‘ – der DNA-Sequenzen – um ein Vielfaches. Vgl. für eine ausführliche und kritische Betrachtung *S.283ff in diesem Kapitel*.

chen teilweise so weit, dass ein einzelnes Gen alle Informationen für die Ausbildung eines phänotypischen Merkmals (bspw. die Augenfarbe bei *Drosophila melanogaster* [Fachbezeichnung für: Schwarzbäuchige Taufliege, besser bekannt als Fruchtfliege]) enthalte. Hier treten *präformistische Konzepte* hervor: In kleinen Elementen – Chromosomen, Genen – seien phänotypische Merkmale bereits als ‚Informationen‘ enthalten und müssten nur zur Ausprägung gelangen. *Erblichkeit und Angeborensein* erhalten in solchen Konzepten einen sehr breiten Raum, hingegen sollen *Entwicklungsprozesse* erst nachgeordnet, bei der Umsetzung der in Chromosomen und Genen ‚vorliegenden‘ ‚Informationen‘, ansetzen.<sup>3</sup>

Andere Theorien betonen die *Prozesshaftigkeit und Komplexität* von Vererbungs- und Entwicklungsvorgängen und entlasten Chromosomen und Gene von einer weitreichenden Bedeutung. Erst in komplexer Wechselwirkung mit weiteren Komponenten könnten Gene ihre Wirkungen entfalten. Noch weiter geht die Beschränkung der Genwirkung in Auffassungen, dass erst durch weitere Komponenten ‚Informationen‘ entstünden: Erst durch die Wirkung *zahlreicher molekularer Komponenten, deren Kommunikation und Interaktion untereinander* sowie durch *deren Kommunikation und Interaktion mit anderen Zellen im Organismus und weiteren die Zelle und den Organismus umgebenden Faktoren* würde sich der Organismus und würden sich spezialisierte Zellen und Gewebe im Organismus *entwickeln*. Derartige Untersuchungen, *die Differenzierung und Entwicklung fokussieren*, werden in Anteilen von dem Forschungsfeld der ‚Epigenetik‘ beschrieben. Als ausschließender Kontrast zu Erblichkeit und Angeborensein können sie indes nicht verstanden werden, da nicht wenige in diesem Forschungsfeld Arbeitende auch solche vielfältigen molekularen Komponenten wieder erblich rückkoppeln.<sup>4</sup>

Anknüpfend an E. F. Keller und weitere feministische Kritiker/innen wird in dieser Arbeit davon ausgegangen, dass die Fokussierung auf Chromosomen und Gene noch kein Ende gefunden hat, sondern dass deren Hochschätzung als bedeutendes Paradigma des 20. und bisherigen 21. Jh. angesehen werden kann.<sup>5</sup> Daher wird in diesem Kapitel der Blick auf Chromosomen und Gene gelenkt, und es werden die ihnen zugeschriebenen Anteile an der Ausbildung von Geschlecht in der Embryonalentwicklung fokussiert.

3 Vgl. für eine Kritik an Theorien, die betonten, dass Merkmale zunächst unsichtbar vorhanden seien und sich nur ausprägen müssten (so hatte insbesondere A. Weismann argumentiert): Hertwig, 1894; vgl. auch: Hörz, 1978 S.745/746; Speybroeck, 2002a. Bei O. Hertwig (1894) finden sich auch zahlreiche weitere Literaturverweise für einen guten Einstieg in die Debatten um 1900. Für eine Kritik an aktuellen Theorien, die Erblichkeit und Angeborensein betonen, vgl.: Lewontin, 2002 (2000) u.a. S.5, 9, 107ff.

4 Vgl. Speybroeck, 2002a.

5 Vgl. insbesondere: Lewontin, 1992 (1991); Lewontin, 2002 (2000); Keller, 2001 (2000); Duden, 2001; Lemke, 2006 (2002); Brückmann, 2009 S.45.

Dabei wird die Betrachtung nicht auf simplifizierende Konzepte der Genwirkung reduziert. Vielmehr werden die Postulate zur Wirkung einzelner Gene zunächst vorgestellt, um anschließend Leerstellen aufzuzeigen und die Notwendigkeit komplexer Netzwerkmodelle herauszustellen. Es wird auch nötig sein, den Blick über die Forschungen zu Chromosomen und Genen hinaus auf zahlreiche weitere Faktoren zu richten. So sind die wenigsten der als geschlechtsbestimmend gedachten Gene auf so genannten ‚Geschlechtschromosomen‘<sup>6</sup> lokalisiert. Auch führt ein Gen nicht zu einem, sondern in der Regel zu vielen Genprodukten mit unterschiedlicher Reaktivität und Wirkung (Stichworte: Regulationen von Transkription<sup>7</sup> und Translation<sup>8</sup>, posttranskriptionale<sup>9</sup> und posttranslationale<sup>10</sup> Modifikationen) und ist es unerlässlich, sich innerhalb und außerhalb von Zellen wirkenden weiteren Einflussfaktoren zuzuwenden (hier sind u.a. maternale Hor-

- 6 Der Begriff ‚Geschlechtschromosom‘ bezeichnet beim Menschen und vielen anderen Säugetieren die Chromosomen X und Y. Sie werden zur Unterscheidung weiblicher und männlicher Individuen herangezogen. Die heterologe Chromosomenkonstitution findet sich beim XY-System regelmäßig („normalerweise“) bei männlichen Individuen, die homologe Chromosomenkonstitution bei weiblichen Individuen. Andere Kombinationen sind möglich. Das XY-System wird vom ZW-System, das sich bei Vögeln findet, unterschieden. Dort findet sich die heterologe Chromosomenkonstitution regelmäßig bei weiblichen Individuen, die homologe Chromosomenkonstitution bei männlichen Individuen. Auch hier sind andere Kombinationen möglich.
- 7 ‚Transkription‘ heißt der Vorgang der Übertragung einer DNA-Sequenz in eine RNA-Sequenz. Es wird ein einzelsträngiger RNA-Strang synthetisiert und hierfür ein Strang der DNA-Doppelhelix als Matrize verwendet. Dabei können verschiedene Produkte gebildet werden, u.a. Messenger-RNA (mRNA), Transfer-RNA (tRNA), ribosomale RNA (rRNA). Der DNA-Strang, der als Matrize dient, wird als ‚Matrizen-Strang‘ bzw. ‚Antisense-Strang‘ bezeichnet, da er die zur RNA komplementäre Nukleinsäuren-Basenabfolge enthält. Der andere DNA-Strang beinhaltet die gleiche Basenabfolge wie die neu gebildete RNA (außer dass er Thymin anstelle von Uracil enthält), daher wird er als ‚codierender Strang‘ bzw. ‚Sense-Strang‘ bezeichnet [vgl. Lewin, 1998 (1997) S.125ff]. Vgl. zur Verwendung des Begriffs ‚codieren‘ in dieser Arbeit: Fußnote 36, S.249.
- 8 ‚Translation‘ bezeichnet die Übertragung der mRNA-Sequenz in eine Aminosäuresequenz. Die Translation erfolgt im Cytoplasma an Ribosomen, weitere molekulare Komponenten sind daran beteiligt [vgl. einführend: Lewin, 1998 (1997) S.125ff].
- 9 Nach der Transkription liegt das ‚Primärtranskript‘ vor. Dieses unterliegt, sofern es sich um eine mRNA (da es sich um das Primärtranskript handelt, wird diese als pre-mRNA bezeichnet) handelt, den folgenden weiteren chemischen Veränderungen (Modifikationen): So erfolgen im Zellkern, in vielen Fällen, die 3‘-seitige Polyadenylierung, die 5‘-seitig stattfindende Anlagerung einer ‚Cap-Struktur‘ und das Spleißen (vgl. S.296ff in diesem Kapitel). Auch der Transport ins Cytoplasma ist hier hinzuzurechnen, da erst dann das ‚fertig modifizierte‘ Transkript der Translation zur Verfügung stehen kann – allerdings muss nach der Transkription keine Translation erfolgen.
- 10 Nach der Translation setzen verschiedene Modifikations-Mechanismen an. Dabei können Teile des Proteins abgespalten werden, chemische funktionelle Gruppen angelagert werden und werden spezifische Faltungen des Proteins ausgebildet (vgl. S.296ff in diesem Kapitel).

mone und parentales Verhalten zu benennen). Rechnung getragen werden muss auch dem Moment, dass die benannten Faktoren nicht auf eine geschlechtsdeterminierende Wirkung beschränkt werden können, sondern dass sie in der Regel vielfältige Wirkungen im Organismus entfalten. Es wird in die Diskussion gebracht, dass das Resultat von Geschlechtsdetermination nicht alternativ weiblich oder männlich ist, sondern dass sich Geschlechtsdetermination komplex, variabel und individuell unterschiedlich vollzieht.

Während der Begriff ‚Geschlechtsdetermination‘ (engl. ‚sex determination‘) Faktoren bezeichnet (favorisiert werden derzeit insbesondere Chromosomen und Gene), die initiale Momente der Ausbildung von Keimdrüsen darstellen sollen, bezeichnet ‚Geschlechtsdifferenzierung‘ (engl. ‚sex differentiation‘) die Faktoren, die zur Ausbildung eines geschlechtlichen Phänotyps<sup>11</sup> (oft dichotom eingengt auf weiblich *oder* männlich) führten, insbesondere in Bezug auf innere und äußere Genitalien. Für die ‚Geschlechtsdifferenzierung‘ werden insbesondere von Hoden oder Eierstöcken ausgeschüttete Hormone fokussiert. Die Begriffe ‚Geschlechtsdetermination‘ und ‚Geschlechtsdifferenzierung‘ werden in ‚Expert/innenkreisen‘ oft nicht klar gegeneinander abgegrenzt, teilweise werden sie synonym verwendet, – damit verschwimmen die theoretischen Grenzen im praktizierten Sprachgebrauch.<sup>12</sup> In diesem Kapitel wird Geschlechtsdetermination in den Blick genommen, allerdings werden außer Chromosomen und Genen weitere Faktoren in die Betrachtungen einbezogen.<sup>13</sup>

Ebenso undeutlich wie die Abgrenzung der Begriffe ‚Geschlechtsdetermination‘ und ‚-differenzierung‘ ist in den betrachteten Artikeln oftmals, was mit ‚weiblich‘ und was mit ‚männlich‘ bezeichnet wird. Einerseits werden nach *chromosomalen oder – meist – genetischen Merkmalen* (hierzu wird meist nur ein Marker für einen Genlocus herangezogen) Zuordnungen zu Gruppen vorgenommen und diese mit ‚weiblich‘ (female) und ‚männlich‘ (male) bezeichnet. Andererseits orientiert sich die Einteilung eines ‚weiblichen‘ und ‚männlichen‘ Phänotyps an der *Ausbildung embryonaler Hoden oder Eierstöcke*. Da die Ausbildung von Keimdrüsen oftmals als Ergebnis wirkender chromosomaler und genetischer Faktoren betrachtet wird, resultieren in einigen Arbeiten die chromo-

11 ‚Phänotyp‘ heißt so viel wie ‚Erscheinungsbild‘. Damit werden, in Abgrenzung zur chromosomalen Konstitution (den so genannten ‚Genotyp‘), tatsächlich ausgebildete physische und physiologische Merkmale eines Individuums bezeichnet.

12 Vgl. zur Definition u.a.: Fausto-Sterling, 1989 S.327; Mittwoch, 1992 S.468. Vgl. für eine Diskussion von ‚Expert/innen‘ alternativer verwendeter Bezeichnungsweisen: Mittwoch, 1992 S.468.

13 Theorien der ‚Geschlechtsdifferenzierung‘ werden hier nicht betrachtet [vgl. für einen ersten Zugang: Fausto-Sterling, 2000b S.146-232; Ebeling, 2006b]; auch aktuelle Studien zu vermeintlich geschlechtlichen körperlichen Unterschieden erwachsener Menschen sollen hier nicht näher beleuchtet werden [vgl. hierzu: Fausto-Sterling, 1988 (1985); Fausto-Sterling, 2000b; Ebeling, 2006a; Schmitz, 2006b; Schmitz, 2006c].

somal verorteten Bezeichnungen „XX-“ bzw. „XY-Gonaden“<sup>14</sup> für Keimdrüsen. Damit wird ein Rückbezug auf ‚Geschlechtschromosomen‘ und wird binär-geschlechtliche Fundierung deutlich. Teilweise wird der ‚weibliche‘ oder ‚männliche‘ Phänotyp aber auch an *äußeren Genitalien* oder einem *äußeren Gesamteindruck* (Körpergröße, Behaarung, Paarungsverhalten etc., die in einen vergeschlechtlichten Zusammenhang gesetzt werden) orientiert. Das Vermögen, Keimzellen zu bilden, spielt hingegen bei der Einordnung zu einem ‚weiblichen‘ oder ‚männlichen‘ Phänotyp oft keine Rolle. So wird nicht selten bspw. von der Ausbildung eines „vollkommen weiblichen Phänotyps“ geschrieben und danach angefügt, dass die untersuchten Individuen steril seien. Dagegen wird an anderer Stelle die Fähigkeit zur Fortpflanzung als bedeutendes Kennzeichen ‚weiblichen‘ und ‚männlichen‘ Geschlechts herausgestellt. In diesem Sinne variieren in den folgenden Beschreibungen die Merkmale, die von einzelnen Forschenden als bedeutsam für ‚weiblich‘ oder ‚männlich‘ angeführt werden. An einigen Stellen muss gänzlich offenbleiben, was von den jeweiligen Forschenden mit ‚weiblich‘ und was mit ‚männlich‘ bezeichnet wurde.

In diese Fixierung auf Chromosomen, Keimdrüsen, ggf. auf äußeres Erscheinungsbild passt es auch, dass die Entwicklung des Genitaltraktes selbst oft als unabhängig von anderen Organen und Geweben des Organismus betrachtet wird. So wird es in den Studien untersuchter Nichtfunktionalität eines oder mehrerer Gene oft nur am Rande erwähnt, wenn die untersuchten embryonalen Strukturen oder Individuen (meist Mäuse) bereits in der Embryonalentwicklung zu Grunde gingen oder früh nach der Geburt verstarben.<sup>15</sup> Ursächlich hierfür waren dann fehlende oder unvollständige Bildung von Organen, bspw. des Herzens, der Nieren, der Milz, der Lunge etc.

Nach diesen Vorbemerkungen folgt zunächst ein kurzer Überblick über die beschriebenen Abläufe vergeschlechtlichter Embryonalentwicklung, um anschließend auf Chromosomen, Gene und weitere Faktoren einzugehen, die in der Geschlechtsdetermination als wichtig angesehen werden.

Nicht betrachtet werden in den folgenden Ausführungen Prozesse der Keimzellentwicklung. Auch hier sind zahlreiche Einflussfaktoren beteiligt, die dazu führen, dass sich Spermien und/oder Eizellen entwickeln. Angenommen werden auch Interaktionen zwischen somatischen Zellen und Keimzellen, so dass auch

14 ‚XX‘ kennzeichnet einen als typisch weiblich betrachteten Chromosomensatz, ‚XY‘ einen solchen, der typisch männlich sei; *ausführlich vgl. S.283ff in diesem Kapitel.*

15 Die begriffliche Unterscheidung zwischen ‚zu Grunde gehen‘ (diese Bezeichnung wird für die Embryonalentwicklung verwendet) und ‚sterben‘ (nachgeburtlich) wird getroffen, da selbstverständlich davon auszugehen ist, dass nur Individuen, die lebend geboren wurden, auch sterben können.

Keimzellen die Differenzierung somatischer Zellen sich entwickelnder Gonaden beeinflussen werden.<sup>16</sup>

## 1. Zur Differenzierung des Genitaltraktes in der Embryonalentwicklung des Menschen

In frühen Stadien der Entwicklung werden Embryonen entwicklungsbiologisch nicht geschlechtlich unterschieden. Es wird von einer *indifferenten oder bipotenten Gonadenanlage* gesprochen, die das Potenzial habe, sich sowohl in Eierstock- als auch in Hodengewebe zu entwickeln. Gleichwohl weisen der Terminus Bipotenz wie auch die zumeist vorgenommene Gegenüberstellung von Eierstock und Hoden darauf hin, dass lediglich zwei Möglichkeiten der Entwicklung in Erwägung gezogen und als ‚normale‘ Entwicklungslinien beschrieben werden.

In aktuellen Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass die Gonadenanlage beim Menschen ab der vierten Woche der Embryonalentwicklung entsteht (in den sich anschließenden ausführlicheren Betrachtungen zur Geschlechtsdetermination werden zur Angabe der vergangenen Zeit der Embryonalentwicklung die standardisierten Einheiten *dpo* [*days post ovulation, Tage nach dem Eisprung*] bzw. bei anderen Organismen als dem Menschen, da bei diesen an Laborbedingungen orientiert, *dpc* [*days post coitum, Tage nach der Befruchtung*] verwendet – eine Entwicklungswoche, bezogen auf den Menschen, entspricht 7dpo). Die Gonadenanlage wird bis etwa zur siebenten Entwicklungswoche als in einem indifferenten Zustand betrachtet. An ihrer Herausbildung seien zwei Gewebe maßgeblich beteiligt: einerseits das *somatische mesenchymale Gewebe (Zölomepithel)*, das das somatische Gewebe der Keimdrüse bildet, andererseits die *Primordialkeimzellen (primordial germ cells, PGCs)*, die ins somatische Gewebe einwandern und dort die Keimzellen bilden.

*Ab der vierten Woche der Embryonalentwicklung entwickle sich aus dem mittleren Abschnitt der Gonadenleiste (Genitalfurche) die Gonadenanlage:* Grundlage bildet das sich zu diesem Zeitpunkt vermehrende Zölomepithel. Während der sechsten Woche der Embryonalentwicklung wandern – möglicherweise angeregt durch chemotaktische Substanzen des Zölomepithels – die Primordialkeimzellen in die Gonadenanlage ein und sind nun von dem somatischen Gewebe umgeben. Die indifferente Gonadenanlage setzt sich folglich aus Zellen unter-

16 U. Mittwoch (1992) führte aus, dass Keimzellen aus Betrachtungen der Differenzierung von Hoden und Eierstöcken scheinbar ausgeschlossen worden seien; Mittwoch bezieht demgegenüber die Fähigkeit zur Bildung funktionaler Keimzellen in ihre Betrachtungen ein: Mittwoch, 1992 u.a. S.474, 476. Vgl. für einen ersten Zugang zum aktuellen Forschungsstand über Keimzellentwicklung und möglicherweise stattfindende Interaktionen von Keimzellen und somatischen Zellen bei der Geschlechtsentwicklung: Ronfani, 2004; Brennan, 2004 S.517; Yao, 2005; Ottolenghi, 2007a; Ottolenghi, 2007b S.18/19; Lau, 2007; Durcova-Hills, 2008.

schiedlicher Herkunft, dem Zölomepithel und den Primordialkeimzellen, zusammen, die sich in ihrer weiteren Entwicklung gegenseitig beeinflussen. Ebenfalls in der indifferenten Phase bilden sich Wolffscher Gang (auch: Urnierengang; lat. Ductus mesonephricus) und Müllerscher Gang (lat. Ductus paramesonephricus) aus.<sup>17</sup>

Die weitere embryonale Geschlechtsentwicklung, insbesondere die Entwicklung von Gonaden, wird in aktuellen Betrachtungen dichotom unterschieden und für Hoden- und Eierstockentwicklung getrennt expliziert.

*Aktuell präferierte Auffassungen zur Hodenentwicklung:* Bei der weiteren Entwicklung zu Hoden proliferieren die somatischen Zellen weiter und differenzieren sich dann zu *Sertoli-Zellen*. Während der achten Woche der Embryonalentwicklung organisieren sich die Sertoli-Zellen zu *Keimsträngen*, den so genannten *Hodensträngen*. Die in den Hodensträngen eingeschlossenen Keimzellen werden zu Spermatogonien – in diesem Stadium verharren die Keimzellen bis zur Pubertät; erst beim Eintritt in die Pubertät setzen sie ihre Differenzierung fort. Die übrigen im Zölomepithel befindlichen Keimzellen gehen zu Grunde. Die Hodenstränge werden durch eine Bindegewebsschicht mit Blutgefäßen abgetrennt, aus der sich in der Folge die *Tunica albuginea* ausbildet. Die Sertoli-Zellen sind auch darüber hinaus von Belang: In ihnen wird u.a. das so genannte Anti-Müller-Hormon (AMH) sezerniert, das für die Rückbildung des Müllerschen Ganges verantwortlich gemacht wird. Im adulten Individuum (ab Pubertät) sind die Sertoli-Zellen in die Spermatogenese involviert.

Aus somatischen Zellen, die nicht an der Ausbildung der Hodenstränge beteiligt sind, differenzieren sich in der Embryonalentwicklung die *Leydigischen Zwischenzellen* (*Leydig-Zellen*). Sie sind zwischen den Hodensträngen gelegen und sezernieren ab der achten Woche der Embryonalentwicklung Testosteron, wobei die Testosteronbildung zunächst (und bis zur 18. bzw. 20. Woche überwiegend) durch das humane Choriongonadotropin (hCG) der mütterlichen Plazenta angeregt wird; dies geschieht sowohl bei als ‚weiblich‘ als auch bei als ‚männlich‘ eingeordneten Embryonen<sup>18</sup>. Später wird die Testosteron-Produktion u.a. durch das fötale Luteinisierende Hormon (LH) der Hypophyse reguliert.<sup>19</sup>

17 Vgl. u.a. Drews, 1993 S.336/337; Drews, 1995; Baumstark, 2000 S.1/2; Gilbert, 2006 S.531-534; Johnson, 2007 S.5-8.

18 Vgl. u.a. Steier, 2002; Steier, 2004. J. A. Steier beschreibt, dass im ersten und zweiten Drittel der Schwangerschaft keine hCG-Konzentrationsunterschiede in Korrelation mit weiblichem oder männlichem Geschlecht des Embryos nachweisbar seien; hingegen sei im letzten Drittel der Schwangerschaft ein Ansteigen der hCG-Konzentration in Korrelation zu weiblichem Geschlecht des Embryos feststellbar [Steier, 2002; Steier, 2004].

19 Bis zur zwölften Woche sei ausschließlich hCG nachweisbar (die Konzentrationen von LH seien gering, oder es sei nicht nachweisbar); bis zur 20. Woche seien die Konzentrationen von hCG deutlich höher als diejenigen von LH [Clements, 1976;

Sowohl hCG als auch LH binden an den LH/hCG-Rezeptor, den sie aktivieren. Das bei ausreichender Stimulation des LH/hCG-Rezeptors ausgeschüttete Testosteron der Leydig-Zellen ist an der zunehmenden Differenzierung des Wolffschen Ganges zu Nebenhoden (lat. Epididymis), Samenleiter (lat. Ductus deferens, bzw. Vas deferens), Bläschendrüse (lat. Vesicula seminalis) beteiligt und wirkt an der Entwicklung als männlich bezeichneter äußerer Geschlechtsmerkmale mit (wobei weibliche und männliche äußere Geschlechtsmerkmale sich entsprechen, einander homolog<sup>20</sup> sind)<sup>21</sup>. Testosteron kann in den Zielorganen zu Dihydrotestosteron (DHT), einem wirksamen Androgen, umgewandelt werden. Sowohl Testosteron als auch DHT entfalten ihre Wirkung durch die Bindung an den Androgenrezeptor (AR).<sup>22</sup>

*Aktuell präferierte Auffassungen zur Eierstockentwicklung:* Bei der Entwicklung der Eierstöcke verbleiben die Keimzellen im Rindenbereich<sup>23</sup> der sich entwickelnden Keimdrüse. Die sich bei der Entwicklung von Hoden herausbildenden Keimstränge werden bei der Eierstockentwicklung zurückgebildet, stattdessen bilden sich neue Keimstränge aus, die im Rindenbereich bleiben (*sekundäre Keimstränge*). Die im Rindenbereich gelegenen Primordialkeimzellen vermehren sich und umgeben sich mit einer einlagigen Schicht *Follikelepithelzellen*, die aus den Keimsträngen hervorgehen. Damit sind die *Primordialfollikel* gebildet. Die Keimzellen (*Eizellen*, *Oozyten*) treten in die Prophase der ersten Reifeteilung der Meiose ein; in diesem Stadium verharren die Keimzellen mindestens bis zur Pubertät. Auch die weitere Reifung der Follikelepithelzellen – sie sind Homologe der Sertoli-Zellen – zu *Granulosazellen* setzt für diesen Zeitraum aus. Beginnend mit der Pubertät reifen die Primordialfollikel, angeregt durch das durch die Hypophyse ausgeschüttete Follikelstimulierende Hormon (FSH), weiter zu Primär-, Sekundär- und schließlich Tertiärfollikeln. Durch die Einwirkung von FSH werden Granulosazellen angeregt, Aromatase auszuschütten, ein Enzym, das an der Umwandlung von Testosteron in Östradiol beteiligt ist.

Als weitere Zellgruppe sind die Thekazellen zu betrachten. Die Thekazellen der Eierstöcke stellen die Homologe zu den Leydigischen Zwischenzellen der

---

vgl. Themmen, 1996 S.533/534; Sinnecker, 1999 S.170/171; Steier, 2002; Kunow, 2007 S.4/5; Söder, 2007 S.385/386].

- 20 In der Biologie werden unter ‚homologen Organen‘ Organe derselben Grundstruktur und desselben evolutionären Ursprungs verstanden. Davon zu unterscheiden sind ‚analoge Organe‘. Diese bezeichnen Organe, die einander ähnlich sind (ähnlicher Aufbau, ähnliche Wirkungsweise), aber keinen gemeinsamen evolutionären Ursprung haben.

- 21 Vgl. u.a. Drews, 1995.

- 22 Vgl. u.a. Drews, 1993 S.336/337; Drews, 1995; Sinnecker, 1999 S.170/171; Baumstark, 2000 S.1/2; Gilbert, 2006 S.531-534; Johnson, 2007 S.5-8; Kunow, 2007 S.4/5; Söder, 2007.

- 23 Es wird die ‚Rinde‘ und das ‚Mark‘ unterschieden. Die Rinde stellt ein zellreiches Bindegewebe dar, das die Primordialfollikel und deren Folgestadien enthält. Das Mark kennzeichnet ein lockeres Bindegewebe, das mit Nerven und Blutgefäßen durchsetzt ist.

Hoden dar. Sie bilden die äußere das Follikel umgebende Zellschicht. Wie die Leydig-Zellen der Hoden reagieren auch die Thekazellen der Eierstöcke auf Luteinisierendes Hormon (LH), das von der Hypophyse ausgeschüttet wird. Sie werden damit zur Bildung von Androgenen (Testosteron, Androstendion) angeregt.

Die auslösenden Faktoren, die bei vorhandenem Eierstock zu der als für die ‚weibliche Entwicklung‘ typisch betrachteten Rückbildung des Wolffschen Ganges führen, werden erst seit Ende der 1990er Jahre untersucht, zuvor wurde die Rückbildung des Wolffschen Ganges auf (vermeintlich) fehlendes<sup>24</sup> Testosteron zurückgeführt. Ebenso wurde die Fortentwicklung des Müllerschen Ganges mit dem Fehlen von AMH begründet. Ursächlich für die Leerstelle war die Vorannahme, dass die Eierstockentwicklung passiv, ohne aktive Entwicklungsschritte, verlaufe und stets erfolge, wenn ‚hodendeterminierende Faktoren‘ fehlten.<sup>25</sup> Erst seit den 1990er Jahren und zunehmend im ersten Jahrzehnt des 21. Jh. wird auch der Ausbildung von Eierstöcken Aufmerksamkeit zuteil. Entsprechend ist von der Ausbildung von Eierstöcken und von den daran beteiligten Faktoren (noch weit) weniger beschrieben als von der Hodenentwicklung.

Der Müllersche Gang differenziert sich zu Eileitern, Gebärmutter, Gebärmutterhals und oberer Vagina. Zudem bilden sich als ‚typisch weiblich‘ betrachtete äußere Geschlechtsmerkmale aus (wobei weibliche und männliche äußere Geschlechtsmerkmale Homologe darstellen)<sup>26 27</sup>.

## 2. Chromosomen und Gene in der Geschlechtsdetermination

Im Folgenden schließen sich an kurze historische hinführende Betrachtungen detaillierte Beschreibungen zu einzelnen Genen und Genprodukten an, die bei der Geschlechtsdetermination derzeit als bedeutsam beschrieben werden. Hier werden für die einzelnen Gene bzw. Genprodukte jeweils die teilweise widersprüchlichen Ergebnisse aus Einzelstudien expliziert. Es wird deutlich, dass die Wirkung vieler der einzelnen Gene bzw. Genprodukte nicht auf die Ausbildung von Keimdrüsen zu beschränken ist, sondern dass sie an der Ausbildung zahlreicher

24 Die geschlechtlich dichotome Wirkungsweise von Hormonen war bereits seit den 1920er Jahren in der Kritik, nachdem als ‚weiblich‘ bzw. als ‚männlich‘ eingeordnete Hormone bei ‚beiden Geschlechtern‘ nachgewiesen worden waren (vgl. *Kapitel II*, S.208f).

25 Vgl. für solche Betrachtungen beispielhaft: Neumann, 1995 S.13; Schultka, 2008 S.15, 22. Kritik an einer solchen Annahme äußerten u.a.: Eicher, 1986 S.328/329, 341/342; vgl. Fausto-Sterling, 1988 (1985) S.119, 129; Rieder, 2003 (2000) S.118.

26 Vgl. u.a. Drews, 1995.

27 Vgl. Drews, 1993 S.336/337; Drews, 1995; Sinnecker, 1999 S.170/171; Baumstark, 2000 S.1/2; Gilbert, 2006 S.531-534; Johnson, 2007 S.5-8; Söder, 2007.

Organstrukturen beteiligt sind. Klar wird auch, dass viele der Gene bzw. Genprodukte nicht etwa nur bei der Ausbildung von Eierstöcken *oder* Hoden und deren Keimzellen wirken, sondern dass ihnen sowohl bei der Ausbildung von Eierstöcken als auch von Hoden und deren jeweiligen Keimzellen Bedeutung zukommt. Verschiedentlich deutlich werden auch Leerstellen in den Forschungen zu einzelnen Genen und überdies in den Modellen der Geschlechtsdetermination überhaupt, so dass zunächst weitere Untersuchungen notwendig sind, um ein einigermaßen integriertes Modell der Geschlechtsdetermination zu entwickeln. Die Betrachtungen zu den einzelnen Genen bzw. Genprodukten werden abschließend (*ab S.276 in diesem Kapitel*) tabellarisch zusammengefasst, in einer ebenfalls dort zu findenden Abbildung wird *ein mögliches* Modell interagierender Gene bzw. Genprodukte vorgestellt, aus dem ebenso zahlreiche Leerstellen ersichtlich werden. Es schließen sich dann kritische Ausführungen zur Fokussierung von Chromosomen und Genen (bzw. Genprodukten) und deren dichotomer Einordnung bei Forschungen zur Geschlechtsdetermination an.

## Historische Annäherung

Für das derzeit aktuelle Verständnis der Geschlechtsdetermination beim Menschen stellten die Forschungsergebnisse T. Painters aus dem Jahr 1923 einen wichtigen Anknüpfungspunkt dar.<sup>28</sup> Painter formulierte, dass beim Menschen alle männlichen Individuen ein X- und ein Y-Chromosom hätten, während weibliche Individuen über zwei X-Chromosomen verfügten. Das führte zu der Schlussfolgerung, dass beim Menschen chromosomal über die Geschlechtsdetermination durch das Zusammentreffen einer Eizelle, die ein X-Chromosom enthalte, und einer Samenzelle, die entweder ein X- oder ein Y-Chromosom enthalte, entschieden werde.<sup>29</sup>

Einen weiteren wichtigen, und aktuell noch immer viel zitierten, Beitrag lieferte A. Jost im Jahr 1947.<sup>30</sup> Jost hat in Forschungen an Kaninchen die Keimdrüse als bedeutsam für die embryonale Geschlechtsentwicklung herausgestellt. Bei seinen Experimenten hatte Jost bei Kaninchen-Embryonen früher embryonaler Stadien die undifferenzierten Keimdrüsen entfernt und, unabhängig von der Chromosomenkombination, eine stets weibliche Entwicklung – mit Eileiter, Uterus, Vagina und weiblichen äußeren Genitalien – festgestellt. Daraus folgerte er, dass für eine männliche Entwicklung – mit Nebenhoden, Samenleitern und männlichen äußeren Genitalien – eine Keimdrüse notwendig sei, wohingegen für eine weibliche Entwicklung keine Keimdrüse vorhanden sein müsse. Jost beschrieb zwei Faktoren, die aktiv zu einer männlichen Entwicklung führten: Das

---

28 Painter, 1923.

29 Painter, 1923 insbesondere S.310-321; vgl. Mittwoch, 1996 S.7; Erickson, 2004 S.1935; Blecher, 2007 S.3056; DiNapoli, 2008.

30 Jost, 1947.

Hormon Testosteron würde die männliche Entwicklung bewirken, wohingegen ein Jost nicht genauer bekannter Faktor (heute als Anti-Müller-Hormon [AMH] bezeichnet) die weibliche Entwicklung unterdrücke.<sup>31</sup>

Mit Painters und Josts Beschreibungen wurde eine für die folgenden Jahrzehnte richtungsweisende Entscheidung getroffen: ‚Weibliche Entwicklung‘ wurde in der dominierenden Auffassung innerhalb der Biologie als ‚ohne weiteres Zutun‘ ablaufend angenommen, wogegen für ‚männliche Entwicklung‘ ein induzierender aktiver Entwicklungsschritt als notwendig betrachtet wurde. Zahlreiche Kritiken wurden gegen eine solche androzentrische Annahme vorgebracht.<sup>32</sup>

Mit den Betrachtungen von C. E. Ford et al. und P. A. Jacobs et al. erhielten ‚Geschlechtschromosomen‘ ein stärkeres Gewicht bei der Geschlechtsdetermination. In ihren Arbeiten, beide aus dem Jahr 1959, beschrieben sie Patient/innen, die nur ein X-Chromosom aufwiesen (X0: also kein zweites X- und auch kein Y-Chromosom, heute s.g. Turner-Syndrom) und phänotypisch eine weibliche Entwicklung (mit Eierstöcken) zeigten,<sup>33</sup> wohingegen solche mit zwei X-Chromosomen und einem Y-Chromosom (XXY, heute s.g. Klinefelter-Syndrom) die Entwicklung phänotypisch männlicher Merkmale (mit Hoden) zeigten.<sup>34</sup> Damit wurde das Y-Chromosom als der bedeutsame Faktor beschrieben, der eine männliche Entwicklung einleite,<sup>35</sup> und es stand das Y-Chromosom nachfolgend im Zentrum des Interesses.

In der Folge wurde auf dem Y-Chromosom nach Abschnitten gesucht, die für Faktoren ‚codierten‘<sup>36</sup>, aus denen sich die Ausbildung von Hoden ergab, die dann

31 Vgl. Neumann, 1995 S.13/14; O'Neill, 1996 S.30; Yao, 2005 S.91; Blecher, 2007 S.3054/3055; DiNapoli, 2008; Rosario, 2009 S.272/273.

32 Vgl. für solche Betrachtungen beispielhaft: Neumann, 1995 S.13. Für Kritiken vgl. u.a.: Eicher, 1986 S.328/329, 341/342; Fausto-Sterling, 1988 (1985) S.119, 129; Fausto-Sterling, 1989 S.327ff; Mittwoch, 1992 u.a. S.476; Capel, 1998 S.499; Rieder, 2003 (2000) S.118; Yao, 2005 S.88; Rosario, 2009.

33 Ford, 1959.

34 Jacobs, 1959.

35 Bezüglich anderer Merkmale prägte sich allerdings auf Grund der geringen Größe des Y-Chromosoms die Auffassung aus, dass das Y-Chromosom ein genetisches ‚Niemandland‘ sei, dass dort also kaum Gene, schon gar keine ‚wichtigen‘, lokalisiert seien. Postulate finden sich, dass sich die Bedeutung des Y-Chromosoms weiter verringern oder es gänzlich verschwinden könnte [u.a. Marshall Graves, 2001; vgl. Rosario, 2009 S.276]. Solche Auffassungen beschrieben M. J. Noordam et al. (2006) als diskreditierend und führten aus, dass Regionen auf dem Y-Chromosom zumindest bei der Spermatogenese Bedeutung hätten [Noordam, 2006; vgl. mit ähnlicher Intention: Quintana-Murci, 2001].

36 Der Begriff ‚codieren‘ wird in der Genetik verwendet, um darzustellen, dass ein Protein auf eine bestimmte DNA-Sequenz/ein Gen zurückgehe. Dieses Gen ‚codiert‘ dann für das Protein. Allerdings ist der Begriff sehr vereinfachend, da komplexe Mechanismen der Transkriptions- und Translationskontrolle sowie posttranskriptionale und posttranslationale Modifikationen mit dem Begriff nicht abgebildet werden können. ‚Codieren‘ lädt zu der falschen, simplifizierenden Assoziation ein,

ihrerseits eine männliche Entwicklung verursachten. Diese Suche wurde als die Suche nach dem ‚hodendeterminierenden Faktor‘ bekannt (testis-determining factor; beim Menschen als TDF, bei der Maus als Tdy bezeichnet).<sup>37</sup> 1966 wurde der TDF auf den kurzen Arm des (menschlichen) Y-Chromosoms begrenzt, auf dem in der Folge verschiedene Gene ausgemacht wurden, die jeweils den eigentlichen TDF darstellen sollten.<sup>38</sup>

1975 schlugen S. S. Wachtel et al. das H-Y Antigen (HY, HYA, histocompatibility antigen on the Y)<sup>39</sup> als Produkt des Y-chromosomalen Gens TDF vor.<sup>40</sup> Wachtel et al. hatten postuliert, dass das H-Y Antigen nur in einigen Zellen und nur bei männlichen Säugetieren exprimiert werde. 1984 wurde der Annahme widersprochen, dass das H-Y Antigen das Produkt von TDF (bzw. Tdy) sei, da Mäuse mit XX-Chromosomen, die kein H-Y Antigen exprimierten (HYA-negativ), einen männlichen Phänotyp mit Hoden zeigten;<sup>41</sup> HYA-positive Menschen (d.h. solche die das H-Y Antigen enthielten) mit XY-Chromosomen wiesen einen weiblichen Phänotyp auf, was ebenfalls gegen das H-Y Antigen Gen als TDF sprach.<sup>42</sup>

Als weiterer Kandidat für TDF wurde 1981 Bkm (banded krait minor satellite DNA)<sup>43</sup> ausgemacht. In der Folge konnte aber gezeigt werden, dass die Wiederholungssequenz Bkm, die aus Schnecken isoliert wurde und nur in ‚Geschlechtschromosomen‘ vorhanden sein sollte, nicht in Regionen des Y-Chromosoms des Menschen vorkam, hingegen in anderen Regionen des menschlichen Genoms verbreitet anzutreffen war.<sup>44</sup> Bkm konnte damit nicht der gesuchte TDF auf dem Y-Chromosom sein.<sup>45</sup>

---

dass eine eins-zu-eins-Übertragung von Gen zu Protein erfolge, was tatsächlich nicht der Fall ist. Dennoch wird der Begriff ‚codieren‘ in dieser Arbeit verwendet, da die Genetik keine geeigneten anderen Begriffe anbietet, um eine Verbindung zwischen Gen und Protein *bei Berücksichtigung komplexer Mechanismen und der Möglichkeit vielfältiger Produkte* darzustellen. Um den problematischen Hintergrund des Begriffes zu verdeutlichen wird er in dieser Arbeit stets in Anführungszeichen gesetzt.

37 Vgl. Hunter, 1995 S.29ff; O’Neill, 1996 S.31; Erickson, 2004 S.1935; Blecher, 2007 S.3056; DiNapoli, 2008.

38 Jacobs, 1996; vgl. Mittwoch, 1996 S.9.

39 OMIM, 2008 (Eintrag: 426000).

40 Wachtel, 1975.

41 McLaren, 1984; vgl. Mittwoch, 1996 S.17.

42 Vgl. Wachtel, 1994 S.3-5; Hunter, 1995 S.33-38; O’Neill, 1996 S.31; Rieder, 2003 (2000) S.113; Erickson, 2004 S.1935; Blecher, 2007 S.3056.

43 OMIM, 2008 (Eintrag: 109780).

44 Das häufigste Vorkommen von Bkm-Sequenzen wurde für das autosomale Chromosom 6 (Region q21) beschrieben; mit geringerer Häufigkeit wurden sie auf dem Chromosom 11q13-11q14, auf Xp21 und auf Xq21 angetroffen; im menschlichen Genom sind sie verbreitet [OMIM, 2008 (Eintrag: 109780)].

45 Vgl. Wachtel, 1994 S.5-8; Hunter, 1995 S.39; O’Neill, 1996 S.31/32; Erickson, 2004 S.1935; Blecher, 2007 S.3056.

1987 wurde von D. C. Page et al. ein Gen in der Region Yp11.3 vorgeschlagen, das auf Grund von 13 Zinkfinger-Domänen (Domänen zur Bindung an Nukleinsäuren) des Transkripts als ZFY (Zinc Finger Protein, Y linked)<sup>46</sup> benannt wurde.<sup>47</sup> Da es wegen der Zinkfinger-Domänen in der Lage ist, DNA zu binden, wurde angenommen, dass das ZFY-Protein als Transkriptionsfaktor die Exprimierung anderer Gene reguliere – und damit eine bedeutende Rolle bei der (männlichen)<sup>48</sup> Geschlechtsentwicklung darstelle. Gegen das Gen ZFY als TDF sprachen allerdings wenig später gewonnene Ergebnisse. Neben widersprechenden Resultaten aus Untersuchungen von Beuteltieren, bei denen sich ZFY-Homologe auf Autosomen („Körperchromosomen“) und nicht auf dem Gonosom („Geschlechtschromosom“) Y-Chromosom fanden, und teilweise entgegenstehenden Resultaten aus der Untersuchung von Mäusen, bei denen das ZFY-Homolog Zfy-2 bei der Organentwicklung nicht exprimiert wurde, wohl aber Zfy-1, wurden bei vier Menschen mit XX-Chromosomen ausgebildete Hoden beschrieben, obgleich durch in der Meiose stattgefunden habende Translokation<sup>49</sup> nur Teile des kurzen Arms des Y-Chromosoms, und dabei nicht ZFY, im Genom vorhanden waren.<sup>50</sup> Weitere Studien beschrieben auf dem X-Chromosom dem ZFY-Gen ähnliche Sequenzen, die als ZFX (Zinc Finger Protein, X linked; lokalisiert in der Region: Xp22.2-p21.3)<sup>51</sup> benannt wurden und denen ähnliche Funktionen wie dem ZFY zugeschrieben wurden. (Eine zunächst angenommene Involvierung von ZFX in die Inaktivierung einzelner Sequenzen des X-Chromosoms konnte hingegen nicht gezeigt werden.)<sup>52</sup> Auch das Expressionsmuster<sup>53</sup>, vergleichend zwischen Maus und Mensch, widersprach einer eindeutigen, konservierten Funktion des ZFY-Proteins: Während beim Menschen ZFY in den embryonalen und adulten Zellen „männlicher“ Gonaden exprimiert wurde, war das murine<sup>54</sup> Zfy-1 nicht in Körperzellen der sich entwickelnden Gonaden nach-

46 OMIM, 2008 (Eintrag: 490000).

47 Page, 1987.

48 Die „männliche Entwicklung“ wurde lange Zeit als allgemeine beschrieben, wogegen „weibliches Geschlecht“ passiv bei Abwesenheit solcher Entwicklungsschritte erfolge. Dies zeichnet A. Fausto-Sterling explizit an dieser Studie, von D. C. Page et al. (1987), nach [vgl. Fausto-Sterling, 1989 S.327-329].

49 Translokation bedeutet, dass durch ein Crossover-Ereignis Teile eines Chromosoms auf ein anderes Chromosom übertragen werden.

50 Palmer, 1989; Koopman, 1989; vgl. Goodfellow, 1993 S.309/310; Hunter, 1995 S.39-42.

51 OMIM, 2008 (Eintrag: 314980).

52 Vgl. Goodfellow, 1993 S.309; Hunter, 1995 S.39-42; OMIM, 2008.

53 „Expression“ bzw. „exprimieren“ bezeichnet den Vorgang, bei dem ein Gen transkribiert, ggf. auch translatiert wird. „Expression“ wird über den Nachweis der Produkte der Transkription (RNA, hier: mRNA) oder der Translation (Aminosäuresequenz) belegt. „Expressionsmuster“ bezeichnet die zeitliche und räumliche Verbreitung der „Expression“ eines Gens.

54 Murin: bezieht sich auf Maus, das Wort wird verwendet im Sinne von „die Maus betreffend“.

weisbar, stattdessen nur in Keimzellen exprimiert,<sup>55</sup> denen bislang keine größere Bedeutung bei der Hodenentwicklung zugeschrieben wird.<sup>56</sup> Damit schied auch ZFY aus dem Rennen um ‚den TDF‘ aus, der als einzelnes Gen, lokalisiert auf dem Y-Chromosom, männliche Geschlechtsentwicklung, beginnend mit embryonalen Hoden, auslösen sollte.<sup>57</sup>

### **Die fortgesetzte Suche nach dem einzelnen ‚geschlechtsdeterminierenden Gen‘: SRY als TDF?**

Die Beobachtung, dass bei Translokation von ZFY-negativen Teilen des kurzen Arms des Y-Chromosoms in Menschen mit XX-Chromosomen die Entwicklung von Hoden stattfinden konnte, veranlasste die Suche nach einer in dieser Region befindlichen evolutionär konservierten<sup>58</sup> Sequenz. Eine solche Sequenz wurde von A. H. Sinclair et al. (1990) – aus der gleichen Arbeitsgruppe,<sup>59</sup> die zuvor dazu beigetragen hatte, ZFY als TDF zu verwerfen – in einem Menschen mit XX-Chromosomen und Hoden beschrieben und als SRY (sex-determining region Y; lokalisiert in der Region: Yp11.3)<sup>60</sup> bezeichnet. Im gleichen Jahr wurde von J. Gubbay et al. das SRY-Homolog der Maus (Sry) isoliert.<sup>61</sup>

Die Sequenz hatten Sinclair et al. (1990) auf einen 35-kb-Bereich eingeschränkt, die für ein Protein aus 204 Aminosäuren ‚codierte‘, wobei nur 79 Aminosäuren, die eine HMG-Box (high mobility group box; eine DNA-bindende Region) umfassten, konserviert waren. Außerhalb der 79 Aminosäuren ließen sich dagegen weit geringere Übereinstimmungen zwischen verschiedenen Säugetieren, insbesondere Mensch und Maus, feststellen.<sup>62</sup> (Bei anderen Organismen als Säugetieren konnte bislang kein SRY-Gen-Homolog nachgewiesen werden; auch findet sich ein SRY-Gen-Homolog nicht bei allen Säugetieren.)<sup>63</sup>

55 Vgl. Goodfellow, 1993 S.309; Hunter, 1995 S.39-42.

56 Kritisch hierzu u.a.: Mittwoch, 1992 u.a. S.474, 476.

57 Vgl. Wachtel, 1994 S.8-14; Hunter, 1995 S.39-42; Mittwoch, 1996 S.17/18; O'Neill, 1996 S.33-36; Rieder, 2003 (2000) S.113; Erickson, 2004 S.1935/1936.

58 ‚Konservierte Sequenzen‘ bezeichnen Sequenzen, die evolutionär nur geringe Veränderungen erfuhren; sie zeigen hohe Übereinstimmung zwischen verschiedenen Organismenarten, die verglichen werden.

59 Vgl. Palmer, 1989.

60 OMIM, 2008 (Eintrag: 480000).

61 Gubbay, 1990.

62 Vgl. Goodfellow, 1993 S.310/311; Hunter, 1995 S.42-49; O'Neill, 1996 S.36/37; Capel, 1998 S.504/505; Koopman, 2001 S.26/27, 34; Marshall Graves, 2001 S.670; Cotinot, 2002 S.159; Knowler, 2003 S.187; Harley, 2003 S.468; Waters, 2007 S.395/396; OMIM, 2008 (Eintrag: 480000). Mittlerweile legen Mäuse-Experimente nahe, dass zumindest bei diesen auch Regionen des SRY-Proteins außerhalb der HMG-Box mit anderen Proteinen interagieren [Bowles, 1999; vgl. Marshall Graves, 2001 S.670; Wilhelm, 2007a S.15].

63 U.a. Just, 1995; Soullier, 1998; Sutou, 2001; Arakawa, 2002; Nakamura, 2007.

Die konservierte Struktur der HMG-Box weist auf deren mögliche Bedeutung für die Funktion des SRY-Proteins hin. SRY könnte als DNA-bindendes Protein Funktionen bei der Regulation (sowohl Aktivierung als auch Repression) der Transkription weiterer Gene übernehmen und/oder durch die Veränderung der Chromatinorganisation an der Transkription solcher Gene mitwirken.<sup>64</sup> SRY-Protein könnte so an Signalwegen beteiligt sein, die bei Proliferation, Migration, Zell-Zell-Organisation und Vaskularisierung (Blutgefäßbildung) in einer als ‚typisch männlich‘ betrachteten Entwicklung wirken;<sup>65</sup> insbesondere bei der Proliferation und Differenzierung von Sertoli-Zellen wird SRY mittlerweile eine wichtige Bedeutung zugeschrieben.<sup>66</sup> Die Funktion von SRY (human)/Sry (murin)<sup>67</sup> in adulten Hoden ist nicht geklärt: Bei Mäusen komme Sry-Transkript in adulten Hoden vor, in Form zirkulärer RNA, die nicht translatiert werde.<sup>68</sup> Inwieweit SRY/Sry auch ein Einfluss bei der Ausbildung von anderem Gewebe als Keimdrüsen Gewebe zukommen könnte, ist nicht geklärt,<sup>69</sup> zumindest wurde SRY/Sry-Expression in verschiedenen Geweben (u.a. in der Prostata) vorgefunden.<sup>70</sup>

Um zu prüfen, ob das SRY/Sry-Gen ‚den TDF/Tdy‘ darstellen könnte, wurden Untersuchungen angeschlossen, die einerseits Menschen mit XY-Chromosomen und weiblichem Phänotyp in den Blick nahmen, um ggf. Mutationen im SRY-Gen festzustellen. Zum anderen wurden an Mäusen Untersuchungen angeschlossen, bei denen mit einem Fragment, das das SRY-Gen-Homolog in Mäusen (Sry-Gen) beinhaltet, transgene Mäuse erzeugt wurden, um festzustellen, ob dieses Fragment bei Mäusen mit XX-Chromosomen einen männlichen Phänotyp, insbesondere mit Hoden, bewirken würde.

Die Ergebnisse waren eher ernüchternd – wurden aber zunächst anders rezipiert: In der Forschungsgruppe um P. Koopman waren die Experimente mit transgenen Mäusen durchgeführt worden, bei denen die Mäuse neben dem aus

64 Vgl. Goodfellow, 1993 S.315; Capel, 1998 S.505-507; Harley, 2003 u.a. S.470; Ronfani, 2004 S.1908; Brennan, 2004 S.511/512; Wilhelm, 2007a S.14/15; DiNapoli, 2008 S.2.

65 Brennan, 1998; Capel, 1998 S.513/514.

66 Vgl. u.a. Harley, 2003 S.467; Brennan, 2004 S.511-515; Polanco, 2007 S.17/18.

67 Beachte: Allgemeiner Konvention folgend werden hier wie bisher und im Folgenden mit Großbuchstaben Gene beim Menschen (bspw. SRY) bezeichnet; zu diesen homologe Gene bei der Maus werden mit Kleinbuchstaben, die einem Großbuchstaben folgen, gekennzeichnet (bspw. Sry). Sollen beide benannt werden, so werden beide Bezeichnungen angeführt und mit einem Schrägstrich (/) getrennt. Bei Proteinen findet nach allgemeiner Konvention keine solche Unterscheidung statt. Sie werden mit Großbuchstaben bezeichnet – in dieser Arbeit wird ‚-Protein‘ angefügt, um die Unterscheidung deutlicher zu machen.

68 Vgl. Capel, 1998 S.501/502; Ronfani, 2004 S.1908. Bei anderen Tierarten, auch beim Menschen, wurde kein solches zirkuläres Transkript beschrieben; auch ist dessen Funktion nicht bekannt [Capel, 1998 S.501/502].

69 Sinclair, 1998 S.501; Koopman, 2001 S.30/31.

70 Vgl. Koopman, 2001 S.30/31; Knower, 2003 S.186; Ronfani, 2004 S.1908.

zwei X-Chromosomen bestehenden, als ‚typisch weiblich‘ betrachteten, Chromosomensatz den als Sry beschriebenen DNA-Abschnitt enthielten.<sup>71</sup> Für einen Einfluss von Sry auf die Geschlechtsentwicklung sprach zunächst einmal, dass eine Expression zur fraglichen Zeit spezifisch im Bereich der Genitalfurche nachgewiesen werden konnte: Bei Mäusen wurde eine Expression von Sry in der Zeit von 10,5 dpc bis 12,0/12,5 dpc gezeigt.<sup>72</sup> Im Vergleich: Beim Menschen wurde der Beginn der Expression eines vorhandenen SRY-Gens bei 41dpo gezeigt. Die Expression erreichte bei 44dpo ihren Höhepunkt und finde – dies im Gegensatz zu Mäusen – nachfolgend weiterhin auf niedrigem Niveau statt.<sup>73</sup>

Auch die übrigen Ergebnisse sprachen für einen, allerdings begrenzten, Einfluss von Sry: Von den acht bei Koopman et al. genetisch veränderten Mäusen (mit XX-Chromosomen und dem eingebrachten DNA-Abschnitt) waren zwei ‚sex reversed‘<sup>74</sup>, ihr äußeres Erscheinungsbild war in männlicher Richtung verändert. Sie zeigten „männlichen Phänotyp“, „kleine Hoden“, „männliches Kopulationsverhalten“ und waren steril.<sup>75</sup> (Was in den Artikeln mit ‚weiblichem‘ und ‚männlichem Phänotyp‘ jeweils gemeint ist, wird dort nicht näher ausgeführt. Es scheint so, als würde die Entwicklung der Keimdrüsen als das klassifikatorische Merkmal des Geschlechts von Maus und Mensch betrachtet. Dabei treten Chromosomen und Gene zurück, genau wie phänotypische Merkmale des Genitaltraktes außer den Keimdrüsen keine Betrachtung finden. Bei den Keimdrüsen wird nicht genauer geklärt, ob das Erscheinungsbild für die Einordnung herangezogen wurde, ob Gewebeproben untersucht wurden, ob die Funktionstüchtigkeit eine Rolle spielte etc.)<sup>76</sup>

Die sechs anderen Mäuse waren nicht ‚sex reversed‘ – die ‚Erfolgsquote‘ lag also bei 25%.<sup>77</sup> Zusätzlich waren gänzlich ohne ‚sex reversal‘ solche transgenen

71 Koopman, 1991.

72 Vgl. Koopman, 1991 S.117; Goodfellow, 1993 S.311/312; Capel, 1998 S.500; Koopman, 2001 S.30/31. Das zeitliche Muster der Expression von Sry wurde in weiteren Studien bestätigt und wird in diesem Sinne rezipiert: Swain, 1999; vgl. Cotinot, 2002 S.159; Knower, 2003 S.186; Harley, 2003 S.467; Ronfani, 2004 S.1908; Anttonen, 2005; Polanco, 2007 S.14.

73 Hanley, 2000; vgl. Cotinot, 2002 S.159; Knower, 2003 S.186; Harley, 2003 S.467. Eine fortdauernde Expression von SRY-Gen-Homologen wurde auch bei anderen Tierarten gezeigt [vgl. Knower, 2003 S.186].

74 ‚Sex reversed‘ bzw. ‚sex reversal‘ bezeichnet eine Geschlechtsentwicklung, bei der ein als ‚typisch weiblich‘ oder ‚typisch männlich‘ betrachteter Chromosomensatz vorliegt, sich aber eine für das ‚andere Geschlecht‘ als gemäß betrachtete Entwicklung des Genitaltraktes und weiterer Merkmale vollzieht.

75 Koopman, 1991; vgl. O’Neill, 1996 S.39; Fausto-Sterling, 1989 S.326-329.

76 Vgl. Konferenzdiskussion bei: Reed, 1993 S.377; vgl. auch: Fausto-Sterling, 1989 S.326-329.

77 Koopman, 1991; vgl. Konferenzdiskussion bei: Reed, 1993 S.374/375; vgl. auch: Goodfellow, 1993 S.314; Hunter, 1995 S.48. Bei der Konferenzdiskussion [Reed, 1993 S.374/375] erwähnt Koopman eine Erfolgsquote, die leicht von der in dem Artikel Koopman et al. (1991) beschriebenen abweicht. Drei von elf Mäusen seien

Mäuse geblieben, die statt des murinen Sry-Gens das menschliche SRY-Gen erhalten hatten. Als mögliche Erklärung wurde hierfür herangezogen, dass auch kleine Unterschiede innerhalb der Aminosäuresequenz der konservierten HMG-Box bedeutsam für die Funktion des SRY-Proteins sein könnten und dass sich murines Sry und humanes SRY auch außerhalb der konservierten HMG-Box unterscheiden und damit funktionale Unterschiede entstünden.<sup>78</sup> Auf solche Unterschiede weisen weitere beschriebene Merkmale von Gen und Protein hin: Bei der Maus, aber nicht beim Menschen wurde eine ausgedehnte C-terminale CAG-Trinukleotid Wiederholungssequenz beschrieben. Deren Mutation im transgenen Mäuseexperiment führte dazu, dass Sry in Mäusen mit XX-Chromosomen keinen ‚sex reversal‘ induzieren konnte.<sup>79</sup> Beim Menschen wurde gezeigt, dass das SIP-1-Protein<sup>80</sup> mit sieben C-terminal lokalisierten Aminosäuren des menschlichen SRY-Proteins interagieren könne. Eine solche Interaktion von SRY-Protein-Homologen mit rekombinantem SIP-1-Protein bzw. Bestandteilen aus diesem konnte in vitro für mehrere Säugetiere, jedoch nicht für Kaninchen nachgewiesen werden.<sup>81</sup> Es lässt sich folgern, dass auch Bereiche des SRY-Proteins außerhalb der HMG-Box bedeutsam für dessen Funktionalität sein könnten und dass es Unterschiede zwischen den biochemischen Wirkmechanismen des SRY-Proteins der Maus und den SRY-Proteinen anderer Säugetiere (u.a. dem Menschen) geben könnte.

In weiteren Experimenten wurden solche Menschen untersucht, die XY-Chromosomen und einen unvollständig ausgeprägten männlichen Phänotyp, mit partieller und kompletter Hoden-Dysgenesie (partiell oder vollständiges Funktionsdefizit embryonaler Hoden), aufwiesen. Bei ihnen sollten Mutationen des SRY-Gens festgestellt werden. 10 bis 15% wiesen entsprechende Mutationen auf.<sup>82</sup> Ergänzend sind die Ergebnisse von Untersuchungen von Menschen mit

---

‚sex reversed‘ gewesen, was einer ‚Erfolgsquote‘ von knapp 30% entspricht – aber auf die gleichen Konsequenzen hinausläuft.

- 78 Koopman, 1991 S.120/121; O'Neill, 1996 S.39; vgl. Lovell-Badge, 2002 S.11. Experimente von R. Lovell-Badge et al. (2002) weisen darauf hin, dass die Ursache für die Nicht-Funktionalität von humanem SRY bei Mäusen außerhalb der HMG-Box zu suchen ist [Lovell-Badge, 2002 S.11/12; vgl. Polanco, 2007 S.18].
- 79 Bowles, 1999; Ronfani, 2004 S.1911; vgl. Koopman, 2001 S.29/30; Marshall Graves, 2001 S.670; Knowler, 2003 S.187; Waters, 2007 S.395.
- 80 Das SIP-1-Gen wird bezeichnet als: SRY-interacting protein 1; u.a. auch bezeichnet als: Solute carrier family 9, isoform 3, regulatory factor 2 (SLC9A3R2) und als: Sodium/hydrogen exchanger regulatory factor 2 (NHERF2); lokalisiert beim Menschen: 16p13.3 [OMIM, 2008 (Eintrag: 606553)].
- 81 Poulat, 1997; vgl. u.a. Marshall Graves, 2001 S.670. In neueren Experimenten wurde auch eine Interaktion von SIP-1-Protein mit murinem SRY-Protein gezeigt, wobei eine im SRY-Protein interne Erkennungssequenz (die noch genauer zu beschreiben sei) im Vgl. zu der beim Menschen C-terminal lokalisierten Sequenz postuliert wurde [Thevenet, 2005].
- 82 Vgl. u.a. Konferenzdiskussion bei: Reed, 1993 S.378/379; vgl. auch: Goodfellow, 1993 S.312/313; O'Neill, 1996 S.38; McElreavey, 1996 S.320-325; Sinclair, 1998

XX-Chromosomen anzuführen. Bei diesen wies nur eine Minderheit derer, die einen ‚unvollständigen männlichen Phänotyp‘ zeigten, das SRY-Gen auf. Die Mehrheit von ihnen hatte kein SRY-Gen im Genom. Aber auch bei einigen der untersuchten Menschen mit XX-Chromosomen und ‚vollständigem männlichem Phänotyp‘ war kein SRY-Gen feststellbar.<sup>83</sup>

Das Ergebnis müsste demnach lauten, dass SRY/Sry zwar einen Einfluss auf die Ausprägung von Hoden haben könnte, dass aber SRY/Sry auf keinen Fall einen TDF/Tdy mit dem hoch gefassten Anspruch der Auslösung der Hodenentwicklung sein kann. In dieser Weise wurden die Ergebnisse aber nicht formuliert, sondern es wurde die Bedeutung von SRY/Sry hervorgehoben, und es wurden nur wenige Beschränkungen der postulierten Bedeutung von SRY/Sry eingeräumt.

Allerdings wurden nun auch einige Zugeständnisse in Richtung Polykausalität gemacht. Unabhängig davon, ob man die oben beschriebenen Prozentzahlen von 25% bzw. 10-15% als hoch oder niedrig bewertete, wurde auch Anhänger/innen einer weitreichenden Bedeutung von SRY/Sry deutlich, dass das SRY/Sry-Gen nicht allein die Ausbildung von Hoden induziert oder gar ‚geschlechtsbestimmend‘ sein konnte.<sup>84</sup> In der Folge wurden weitere Gene bzw. Genprodukte als ‚downstream‘, also in einer hierarchischen Kaskade unterhalb von SRY/Sry wirkend, angenommen. Auch ‚upstream‘, in einer hierarchischen Kaskade oberhalb von SRY/Sry, wurden Genprodukte festgestellt, die die Exprimierung von SRY/Sry regulieren sollten. Mittlerweile wird verschiedentlich WT1 (Wilms’ tumor 1; vgl. *ausführlich* S.266ff) als die Transkription von SRY aktivierend (oder zumindest steigernd) angeführt.<sup>85</sup> Postuliert wird in einem solchen ‚upstream‘-Sinne auch, dass SF1 (Steroidogenic factor 1; vgl. *ausführlich* S.259ff) oder eine Kooperation zwischen den Proteinen SP1 (Transcription factor Sp1) und SF1 die Expression von SRY steigere.<sup>86</sup> ‚Zielgene‘ des SRY-Proteins, also Gene, auf die das SRY-Protein selbst wirken könnte, sind hingegen

---

S.501; Cotinot, 2002 S.159; Knowler, 2003 S.187/188; Harley, 2003 S.469; Ronfani, 2004 S.1908; DiNapoli, 2008 S.2.

83 McElreavey, 1993; McElreavey, 1996 S.325f; vgl. Jordan, 2002 S.4f. K. McElreavey (1996 S.325f) listete auf, dass bei „XX males without ambiguities“ bei 3 von 39 (8%) Untersuchten SRY abwesend war; dass bei „XX males with ambiguities“ bei 39 von 43 (91%) Untersuchten SRY abwesend war; und dass bei „XX true hermaphrodites“ bei 32 von 38 (84%) Untersuchten SRY abwesend war. Phänotypische Männer mit 46, XX-Chromosomensatz waren bereits seit Jahrzehnten im Blickpunkt der Forschung: vgl. u.a. Jones, 1971 S.193-196; Chapelle, 1972; vgl. Mittwoch, 1992 S.470f.

84 Vgl. u.a. McElreavey, 1993; McElreavey, 1996 S.326, 328; McElreavey, 1997; Sinclair, 1995; Sinclair, 1998 S.501; Vilain, 2000 u.a. S.9; Jordan, 2002 S.5ff; Erickson, 2004; Val, 2005.

85 Hammes, 2001; Hossain, 2001; Morrish, 2002 S.453; Matsuzawa-Watanabe, 2003; Wagner, 2003 S.1656; Harley, 2003 S.479-481; Polanco, 2007 S.15; Wilhelm, 2007a S.15/16.

86 Harley, 2003 S.479; Wilhelm, 2007a S.16.

bislang nicht beschrieben.<sup>87</sup> (Als Ziel des SRY-Proteins wird insbesondere das SOX9-Gen [SRY-related HMG-Box gene 9; vgl. *nachfolgend ausführlich, S.255ff*] hypothetisiert, experimentell konnte diese Hypothese aber bislang nicht unterlegt werden.)<sup>88</sup> Darüber hinaus werden mögliche Faktoren, die als Co-faktoren mit dem SRY-Protein interagieren könnten,<sup>89</sup> und posttranslationale Modifikationen – Phosphorylierungen und Acetylierungen – als bedeutsam für die Aktivität des SRY-Proteins herausgestellt.<sup>90</sup>

Allerdings wurde auch bei der Suche nach weiteren an der Geschlechtsdetermination beteiligten Genen SRY/Sry in einer Position belassen, in der es als ‚der TDF/Tdy‘ den eigentlichen induzierenden aktiven Entwicklungsschritt bei der Ausbildung von Hoden und eines männlichen Phänotyps darstellen sollte. Andere Faktoren sollten lediglich ergänzend wirken.<sup>91</sup>

### **Downstream von SRY – weitere Gene, die hierarchisch unterhalb von SRY als an der Hodenentwicklung beteiligt angenommen werden**

**SOX9:** Das menschliche SOX9-Gen (SRY-related HMG-Box gene 9)<sup>92</sup> ist eines der ersten autosomalen Gene, dem zusätzlich zu den ‚normal‘<sup>93</sup> auf den ‚Geschlechtschromosomen‘ lokalisierten Genen eine wichtige Bedeutung bei der Geschlechtsdetermination zugeschrieben wurde. SOX9 wird einer Gruppe von Genen zugeordnet, die für Proteine ‚codieren‘, die Ähnlichkeiten in der Aminosäuresequenz mit der konservierten HMG-Box-Region des SRY-Proteins aufweisen. Sie tragen daher ihren Namen: SRY-related HMG-Box (SOX). Die Sequenzübereinstimmung muss mehr als 60% betragen, um zu dieser Gruppe gezählt zu werden.<sup>94</sup>

Verortet wird das menschliche SOX9 auf dem autosomalen Chromosom 17 in der Region q24.3-q25.1. Dem SOX9-Protein wird, wie allen Mitgliedern der SOX-Gruppe, auf Grund einer HMG-Box eine Funktion als Transkriptionsfaktor

87 U.a. Ronfani, 2004 S.1911; Wilhelm, 2007a S.15.

88 Morrish, 2002 S.450; Polanco, 2007 S.16, 20; DiNapoli, 2008 S.3.

89 Als mit SRY-Protein interagierende Faktoren werden diskutiert: SIP-1, PC4 (activated RNA polymerase II transcription cofactor 4; auch bezeichnet als: SUB1, *S. cerevisiae*, homolog of; lokalisiert beim Menschen: 5p13.3 [OMIM, 2008 (Eintrag: 600503)]) und AR (androgen receptor, lokalisiert beim Menschen: Xq11.2-q12 [OMIM, 2008 (Eintrag: 313700)]) [vgl. Poulat, 1997; Koopman, 2001 S.29/30; Clarkson, 2002 S.110; Ronfani, 2004 S.1908; Polanco, 2007 S.19].

90 Desclozeaux, 1998; Thevenet, 2004.

91 Vgl. bspw. Drews, 1995 S.6/7; Parker, 1999; Knowler, 2003; Erickson, 2004; Val, 2005; Gilbert, 2006 S.532-535; Wilhelm, 2007a S.14-17; Schultka, 2008.

92 OMIM, 2008 (Eintrag: 608160).

93 Es können Translokationen (Ortsveränderungen) bspw. durch Rekombinationsergebnisse erfolgen und ein Gen so auf anderen Chromosomen nachweisbar sein.

94 Sinclair, 1998 S.501/502; Capel, 1998 S.505; Parker, 1999 S.420; Ronfani, 2004 S.1911.

zugeschrieben; zudem könnte es als Spleißfaktor wirken.<sup>95</sup> Mehrere vermeintliche Phosphorylierungsstellen weisen darauf hin, dass das SOX9-Protein erst durch posttranslationale Phosphorylierung eine aktivierte Form erhält.<sup>96</sup> Funktionell wird SOX9 eine wichtige Bedeutung bei der Entwicklung von Skelett, Knorpel und Bindegewebe und bei der Ausbildung von Hoden (und der Etablierung eines männlichen Phänotyps) zugeschrieben.<sup>97</sup> In neueren Arbeiten wird auch eine Bedeutung bei der Melanin-Produktion und, damit verbunden, bei der Pigmentierung der Haut postuliert.<sup>98</sup> Im Gegensatz zu SRY waren Homologe zu SOX9 nicht auf Säugetiere beschränkt, sondern fanden sich auch bei anderen Organismengruppen.<sup>99</sup>

Aus Experimenten mit transgenen Mäusen wurde bezüglich deren SOX9-Homolog (Sox9) beobachtet, dass bei beeinträchtigter Funktion des Sox9-Gens (vollständigem Verlust der Funktionalität von Sox9 *ausschließlich in den sich entwickelnden Keimdrüsen*)<sup>100</sup> ‚sex reversal‘ von einem männlichen zu einem weiblichen Phänotyp stattfindet.<sup>101</sup> Andere Experimente mit transgenen Mäusen zeigten, dass bei einer zusätzlichen Kopie des Sox9-Gens oder bei dessen ‚Überexpression‘ eine phänotypisch männliche Entwicklung erfolge, auch wenn ein als

95 Vgl. O'Neill, 1996 S.46/47; Sinclair, 1998 S.503; Gilbert, 2000 S.530; Gilbert, 2006 S.535; Koopman, 2001 S.39-43; Harley, 2003 S.473-475; Ronfani, 2004 S.1911; DiNapoli, 2008 S.2/3

96 Harley, 2003 S.475. Das SOX9-Protein weist sieben mögliche Phosphorylierungsstellen für Casein-Kinase II, fünf für Protein-Kinase C, zwei für Protein-Kinase A und eine für Tyrosin-Kinase auf [Harley, 2003 S.475]. Phosphorylierungen gehören zu den häufig vorkommenden posttranslationalen Modifikationen. Im Fall von SOX9 dienen sie eventuell der Ermöglichung des Imports in den Zellkern (wo dann SOX9 als Transkriptionsfaktor wirken könne), der Erhöhung der DNA-Bindungsaktivität und der Aktivität als Transkriptionsfaktor [Harley, 2003 S.475f].

97 Vgl. O'Neill, 1996 S.46/47; Sinclair, 1998 S.503; Gilbert, 2000 S.530; Gilbert, 2006 S.535; Koopman, 2001 S.39-43; Harley, 2003 S.476-478; Ronfani, 2004 S.1911; DiNapoli, 2008 S.2/3; OMIM, 2008 (Eintrag: 608160). Möglicherweise unterscheidet sich die Wirkungsweise des SOX9-Proteins bzgl. der Knorpelbildung von der bei der Geschlechtsdetermination. So wurde für die Knorpelbildung beschrieben, dass zwei SOX9-Protein-Moleküle dimerisierten (ggf. interagierten zwei solche SOX9-Protein-Dimere miteinander [Grenzer, 2007]); hingegen konnte solche Dimerisation in Bezug auf die Bedeutung bei der Geschlechtsentwicklung nicht beobachtet werden. Hier wurde beschrieben, dass ein SOX9-Protein-Monomer an die Enhancer-Region des SF1-Gens binde [Bernard, 2003].

98 Passeron, 2007.

99 Vgl. u.a. Koopman, 2001 S.44; Waters, 2007 S.394/395.

100 Es wurde eine solche begrenzte Veränderung vorgenommen, da der Funktionsverlust einer Genkopie von Sox9 keinen Effekt bei der Geschlechtsentwicklung zeigte (im Ggs. zu den Beobachtungen beim menschlichen SOX9, bei dem heterozygote Mutation von SOX9 zu ‚vollständigem sex reversal‘ führte), während der Funktionsverlust beider Genkopien letal wirke [vgl. Chaboissier, 2004 S.1892; Koopman, 2005 S.367].

101 Chaboissier, 2004; vgl. Koopman, 2005 S.367; Gilbert, 2006 S.535.

typisch weiblich betrachteter Chromosomensatz (40, XX) vorliege.<sup>102</sup> Ein männlicher Phänotyp konnte in diesem Fall auch erreicht werden, wenn kein funktionales Sry vorhanden war. Y. Qin et al. (2005) folgerten, dass Sox9 hinreichend für die Ausbildung eines männlichen Phänotyps (insbesondere mit Anspruch an die Entwicklung von Hoden und für die Zeugungsfähigkeit) sei.<sup>103</sup>

Untersuchungen von Menschen bestärkten die Annahme einer Bedeutung von SOX9/Sox9 bei der Geschlechtsdetermination. Aus Untersuchungen eines menschlichen Säuglings mit 46, XX-Chromosomensatz, ohne funktionales SRY, bei dem SOX9 durch die Duplikation eines Chromosomenabschnittes in einer zusätzlichen Kopie vorlag, postulierten B. Huang et al. (1999), dass SOX9 hinreichend für die Entwicklung embryonaler Hoden und die Ausbildung eines männlichen Phänotyps sei.<sup>104</sup> Allerdings wurde das neugeborene Kind auf Grund ‚unnormaler‘ männlicher äußerer Genitalien genauer untersucht, was als Einschränkung mitzudenken ist. Bei Menschen mit 46, XY-Chromosomensatz, die wegen „Campomele-Dysplasie“ (Skelettdysplasie, verbunden mit Verkrümmung und Verbiegung von Extremitäten; der Tod tritt oft in den ersten Lebensmonaten ein) in Behandlung waren und bei denen nur eine funktionelle Kopie von SOX9 nachgewiesen werden konnte, wurde in 72% der Fälle (36 von 50) ein weiblicher oder hermaphroditischer Phänotyp diagnostiziert.<sup>105</sup>

„Normalerweise“ werde Sox9 in der Genitalfurche von Mäusen mit XY-Chromosomen stärker als bei solchen mit XX-Chromosomen exprimiert. Konkret wurde eine Expression bei beiden geschlechtlich unterschiedenen Gruppen gleichermaßen beginnend bei 10,0 bzw. 10,5dpc gezeigt. Bei Mäusen mit XY-Chromosomen verstärkte sich die Expression zwischen 12,0 und 13,5dpc und hielt bis zum Ende der Untersuchungsspanne (14,5dpc) bzw. während der gesamten Embryonalentwicklung und nachgeburtlich an; bei Mäusen mit XX-Chromosomen war eine Expression von Sox9 in der Zeitspanne von 10,0/10,5dpc bis 11,5dpc nachweisbar, bei 11,5dpc fiel die Expression ab.<sup>106</sup> Beim Menschen zeigte sich bei XY-Chromosomen eine zwischen 41 und 44dpo beginnende Expression von SOX9, die bei 44dpo und 52dpo Höhepunkte erreichte und auf hohem Niveau bis zur 18. Schwangerschaftswoche anhält; bei Menschen mit

102 Bishop, 2000; Vidal, 2001; vgl. Gilbert, 2000 S.530; Morrish, 2002 S.450; Cotinot, 2002 S.161; Ronfani, 2004 S.1912; DiNapoli, 2008 S.2/3; OMIM, 2008 (Eintrag: 608160).

103 Vidal, 2001; Qin, 2005; vgl. DiNapoli, 2008 S.2/3.

104 Huang, 1999; vgl. Gilbert, 2000 S.530; Morrish, 2002 S.450; Jordan, 2002 S.6; Cotinot, 2002 S.160; Knowler, 2003 S.191; Ronfani, 2004 S.1911; Gilbert, 2006 S.535.

105 Vgl. O'Neill, 1996 S.46; Gilbert, 2000 S.530; Koopman, 2001 S.42; Cotinot, 2002 S.160; Ronfani, 2004 S.1911.

106 Swain, 1999; Morrish, 2002 S.450/451; Anttonen, 2005 S.16; vgl. auch: Ronfani, 2004 S.1911.

XX-Chromosomen zeigte sich eine Expression beginnend bei 48dpo, geringe Expressionslevel wurden bei 52dpo und nachfolgend festgestellt.<sup>107</sup>

Sox9 wurde dabei bei Mäusen mit XY-Chromosomen in solchen Zellen exprimiert, in denen zuvor Sry-Expression nachgewiesen werden konnte.<sup>108</sup> Daher wird eine Regulation der Expression von Sox9 durch das SRY-Protein angenommen, allerdings konnte dafür bislang kein beweiskräftiges Argument erbracht werden.<sup>109</sup> Auch widersprechen die Beobachtungen ausgebildeten männlichen Phänotyps bei Mäusen und Menschen bei Abwesenheit von SRY/Sry einer solchen Annahme.

In der Maus wird Sox9, zusammen mit Sf1 (Steroidogenic factor 1) und Wt1 (Wilms' tumor 1 gene), eine Bedeutung bei der Regulation von Amh zugeschrieben.<sup>110</sup>

*AMH*: Lokalisiert wird Amh (murin)/AMH (human) (Anti-Muellerian hormone; auch bezeichnet als Mis/Mif: Mullerian-inhibiting substance/factor; beim Menschen: AMH/MIS/MIF)<sup>111</sup> autosomal: das murine Amh auf Chromosom 10, das menschliche AMH auf Chromosom 19 (in der Region p13.3-p13.2). Expression von AMH/Amh wurde in Sertoli-Zellen und in embryonalen und adulten Hoden gezeigt. Bei Mäusen mit XY-Chromosomen finde die Expression beginnend ab 11,5 bzw. 12,5dpc und fortdauernd während der gesamten Embryonalzeit statt, mit der Geburt werde die Expression herunterreguliert.<sup>112</sup> Eine Funktion wird dem AMH-Protein bei der Rückbildung des Müllerschen Ganges zugeschrieben, der sich bei Abwesenheit von AMH zu Gebärmutter, Gebärmutterhals, oberer Vagina und Eileiter entwickle.<sup>113</sup> Expression von AMH/Amh wurde auch nachgeburtlich in ovariellen Follikel epithelzellen nachgewiesen. Hier wird eine wichtige Bedeutung des AMH-Proteins bei der Reifung der Ovarialfollikel angenommen, und es wird die Bedeutung von AMH-Protein bei der Ausbildung von Granulosazell-Tumoren untersucht.<sup>114</sup>

Auf Grund der Expression in Sertoli-Zellen und embryonalen Hoden wird AMH eine Bedeutung bei der Geschlechtsdifferenzierung zugeschrieben. Es wird postuliert, dass AMH im hodendeterminierenden Signalweg downstream von SRY einzuordnen sei. Ein direkter Einfluss von SRY/Sry auf die AMH-Expression wurde hingegen verworfen, da bei Mäusen Sry-Expression bereits 48h

107 Hanley, 2000.

108 Vgl. Gilbert, 2000 S.530.

109 Morrish, 2002 S.450; DiNapoli, 2008 S.3.

110 U.a. Koopman, 2001 S.46; Morrish, 2002 S.450; Knowler, 2003 S.193; Chaboissier, 2004; Ronfani, 2004 S.1911/1912.

111 OMIM, 2008 (Eintrag: 600957).

112 Münsterberg, 1991; vgl. Swain, 1999; Morrish, 2002 S.450/451; Anttonen, 2005 S.16.

113 Vgl. Gilbert, 2000 S.530; Cotinot, 2002 S.160/161.

114 Münsterberg, 1991; vgl. McElreavey, 1996 S.333; Morrish, 2002 S.450/451; Anttonen, 2005 S.16; Marca, 2007.

vor messbarer Amh-Expression nachweisbar war; der Abstand der Expression sei damit zu groß, als dass ein direkter Einfluss von Sry anzunehmen sei. Auch wurde ein weitreichender Einfluss von AMH bei der Ausbildung von Hoden verworfen, da zahlreiche Menschen mit 46, XY-Chromosomensatz und Mutationen im AMH-Gen bekannt sind, die über als ‚typisch männlich‘ betrachtete äußere Genitalien (allerdings mit oft nicht abgestiegenen Hoden) verfügten, wogegen deren innere Genitalien als ‚weiblich‘ eingeordnet wurden: Eileiter, Gebärmutter, Gebärmutterhals, obere Vagina.<sup>115</sup>

*SF1*: Als möglicher Faktor, der zwischen SRY/Sry und AMH/Amh zwischengeschaltet sein könnte, ist SF1/Sf1 – in Kooperation mit SOX9/Sox9 und GATA4/Gata4 (GATA-binding protein 4; vgl. ausführlich S.261ff) –<sup>116</sup> in der Diskussion.

Das Protein SF1 (Steroidogenic factor 1; auch genannt: Adrenal 4 binding protein [Ad4BP]; auch genannt: Nuclear receptor subfamily 5, Group A, Member 1 [NR5A1]; homolog zu: *Drosophila* Fushi-tarazu factor 1 [Ftz-F1])<sup>117</sup> wird bei Mäusen in allen primär steroidbildenden Geweben als exprimiert beschrieben. So werde es in der Nebenniere, in den testikulären Leydig-Zellen, in den ovariellen Follikel epithelzellen (später: Granulosazellen), in den ovariellen Thekazellen und im Corpus luteum (Gelbkörper) exprimiert;<sup>118</sup> eine Expression konnte auch u.a. in Teilen des Hypothalamus, in der Hirnanhangdrüse, in Haut und Milz gezeigt werden.<sup>119</sup> Bereits in der indifferenten Keimdrüse neun Tage (9-9,5 dpc) alter Mäuse-Embryonen war eine Expression des Sf1-Gens nachweisbar. Später, etwa um 13,5 bis 16,5dpc, gehe die Expression in Mäusen mit XX-Chromosomen auf ein niedriges Niveau zurück und kehre bei 18,5dpc wieder; hingegen dauere die Expression bei Mäusen mit XY-Chromosomen auch nach 13,5dpc an.<sup>120</sup> Verbunden mit der zeitlich frühen und variablen Expression des Sf1-Gens wurde die Annahme eines weitreichenden Einflusses bei der Geschlechtsdetermination. So sei Sf1 ggf. bei der Ausbildung der indifferenten Keimdrüse bedeutsam<sup>121</sup> und sei es zu einem späteren Zeitpunkt (ab 13,5 dpc bei Mäusen) zur Entwicklung von Hoden notwendig.

Beim Menschen zeigte sich keine den Beobachtungen bei Mäusen vergleichbare Absenkung der Expressionsrate des SF1-Gens bei vorhandenen XX-

115 McElreavey, 1996 S.333.

116 Vgl. Anttonen, 2005 S.17; auch: Val, 2005 S.619/620.

117 OMIM, 2008 (Eintrag: 184757).

118 Vgl. Parker, 1997 S.365/366; Parker, 1999 S.421/422; Val, 2003 S.3/4.

119 Vgl. Val, 2003 S.3-5.

120 Ikeda, 1994; vgl. Parker, 1997 S.365-367; Parker, 1999 S.422; Parker, 2002 S.21; Morrish, 2002 S.453; Val, 2003 S.3/4.

121 Vgl. u.a. Gilbert, 2000 S.530; Gilbert, 2006 S.536; Morrish, 2002 S.454; Jameson, 2003 S.58. Für eine andere Auffassung, dass Sf1 nicht für die frühe Ausbildung der Keimdrüse, aber für deren Differenzierung und Erhaltung notwendig sei, vgl.: Val, 2003 S.5.

Chromosomen. SF1 war hier sowohl bei Menschen mit XX-, als auch bei solchen mit XY-Chromosomen beginnend bei 32dpo bis zur 18. Woche der Embryonalentwicklung exprimiert, wenn auch zeit- und gewebespezifisch unterschiedlich stark.<sup>122</sup> (Bspw. zeigte sich SF1 in der sich herausbildenden Nebenniere um 33dpo stärker exprimiert als in der Genitalfurche; in Sertoli-Zellen werde SF1 im Vergleich zu vorangehenden Stadien und zu Leydig-Zellen weniger stark exprimiert.)<sup>123</sup>

Beim Menschen wird das SF1-Gen auf dem kurzen Arm des autosomalen Chromosoms 9 in der Region 33 (9p33) lokalisiert. Als Genprodukt wird ein aus 461 Aminosäuren bestehender, zu den Orphan nuclear receptors (Liganden-aktivierten Kernrezeptoren ohne identifizierten Liganden) gezählter Transkriptionsfaktor beschrieben. Postuliert wird, dass verschiedene funktionale Domänen das SF1-Protein in die Lage versetzen, DNA zu binden oder zur Stabilisierung der Bindung anderer Faktoren zu DNA beizutragen.<sup>124</sup> Dem SF1-Protein wird u.a. eine Beteiligung an der Regulation der Transkription der Gene AMH (bzw. MIS), DAX1 (dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenita, critical region on the X chromosome; vgl. ausführlich S.270ff), CYP11A1 (Cytochrome P450, Subfamily XIA, Polypeptide 1)<sup>125</sup>, STAR (Steroidogenic acute regulatory protein)<sup>126</sup> und von weiteren Genen, die für Hydroxylasen, Gonadotropine und P450-Aromatase (ein Enzym, das die Umwandlung von Androgenen in Östrogene katalysiert), codieren, zugeschrieben.<sup>127</sup>

Über die Regulation der Expression von SF1/Sfl ist hingegen wenig beschrieben. Ein möglicher Ligand, der die Aktivität des SF1-Proteins regulieren könnte, ist nicht bekannt (daher wird es zu den Orphan nuclear receptors gezählt). Zudem werden zahlreiche, ggf. gewebespezifisch unterschiedliche, Protein-Protein-Interaktionen (u.a. mit SOX9, WT1) postuliert, die ebenfalls Einfluss auf die Wirkung in zahlreichen Signalwegen haben dürften.<sup>128</sup> So wird es als denkbar beschrieben, dass die mögliche direkte Protein-Protein-Interaktion zwi-

122 Hanley, 1999 S.176/177; Hanley, 2001 S.58/59. Für die widersprechende Interpretation von P. Val et al. (2003), dass im Eierstock des Menschen wie in dem der Maus eine Verringerung der Expression von SF1 im Vgl. zum Hoden stattfindet, fehlt (auch in der von ihm hierfür angeführten Literatur) die Grundlage [vgl. Val, 2003 S.4].

123 Hanley, 1999 S.176/177.

124 Vgl. für die Beschreibung der Protein-Struktur und der funktionalen Domänen insbesondere: Ozisik, 2002 S.85/86; Jameson, 2003 S.58/59; Val, 2003 S.1-3.

125 OMIM, 2008 (Eintrag: 118485).

126 OMIM, 2008 (Eintrag: 600617).

127 Vgl. McElreavey, 1996 S.333/334; Parker, 1997 S.367/368; Sinclair, 1998 S.504; Morrish, 2002 S.453; Ozisik, 2002 S.86; Val, 2003 S.7/8; OMIM, 2008 (Eintrag: 184757).

128 Vgl. zu einer Bestandsaufnahme: Parker, 2002 S.27-29; Val, 2003 S.10-15.

schen SF1 und SOX9 bei der Aktivierung der Transkription von AMH bedeutsam ist.<sup>129</sup>

Eine ‚vermännlichende Wirkung‘ wird SF1 bei Leydig- und Sertoli-Zellen zugeschrieben. Die Bedeutung von SF1 bei der Ausbildung von Hoden beim Menschen wurde von der Untersuchung eines Menschen mit 46, XY-Chromosomensatz abgeleitet, bei dem SRY und SOX9 nicht vermindert exprimiert waren, bei dem aber eine Mutation im SF1-Gen mit unvollständig ausgebildeten Keimdrüsen bei vollkommen ausgebildeten Strukturen des Müllerschen Ganges einherging.<sup>130</sup> Diese Auffassung wurde in weiteren Untersuchungen von Menschen mit 46, XY-Chromosomensatz mit vollständiger oder partieller Hoden-Dysgenese oder mit verminderter Androgenbildung bei ‚normaler‘ Nebennierenfunktion unterlegt. Eine Mutation von SF1 wird in diesen neueren Studien in 13% bzw. 18,5% der ‚Fälle‘ bei solchen medizinisierten Patient/innen beschrieben.<sup>131</sup>

Es wird angenommen, dass eine – spätere, spezifisch erhöhte – Expression des SF1-Gens direkt oder indirekt durch SRY beeinflusst (aktiviert) wird. Das exprimierte SF1-Protein bewirke anschließend als Transkriptionsfaktor die Ausschüttung von AMH (aus den Sertoli-Zellen) und Testosteron (aus den Leydig-Zellen). AMH und Testosteron würden ihrerseits die Ausbildung als typisch männlich betrachteter Genitalien und die Regression des Müllerschen Ganges – und damit eine Unterdrückung ‚weiblicher Entwicklung‘ – bewirken.<sup>132</sup>

*GATA4 und FOG2:* In In-vitro-Experimenten wurde gezeigt, dass das SF1-Gen durch GATA4-Protein (Gen: GATA-binding protein 4; beim Menschen lokalisiert auf: 8p23.1-p22)<sup>133</sup> aktiviert werden kann. Ebenso könne die Transkription des AMH-Gens durch Bindung von GATA4-Protein an dessen Promotor initialisiert werden, wobei für eine vollständige Aktivierung der Expression von AMH die synergistische Aktivierung durch SF1-Protein und GATA4-Protein nötig sei.<sup>134</sup> GATA4 wird als ein Zinkfinger-Protein beschrieben, das, wie alle Mitglieder der Familie, über eine GATA-Konsensussequenz verfügt. Funktionalität erlange es über Bindung eines Co-Faktors der FOG-Familie (FOG: Friend of GATA). Bei der Geschlechtsdetermination wurde ein Zusammenwirken von GATA4 und FOG2 (Friend of GATA 2; alternative Bezeichnung: Zinc finger protein, Multitype 2 [ZFPM2]; beim Menschen lokalisiert: 8q23)<sup>135</sup> und eine Bedeutung von ihnen insbesondere bei der Hodenentwicklung angenommen –

129 Santa Barbara, 1998.

130 Achermann, 1999; vgl. Ozisik, 2002 S.87/88; Gilbert, 2006 S.536.

131 Lin, 2007; Köhler, 2008.

132 Vgl. McElreavey, 1996 S.334; Gilbert, 2000 S.525, 530; Gilbert, 2006 S.536.

133 OMIM, 2008 (Eintrag: 600576).

134 Vgl. Anttonen, 2005 S.17; Val, 2005 S.619/620.

135 OMIM, 2008 (Eintrag: 603693).

Annahmen, denen mittlerweile auch widersprochen wird bzw. die zumindest ergänzt werden.<sup>136</sup>

Ausgehend von einem Expressionsmuster bei Mäusen, bei dem sich die Expression von Gata4, in den somatischen Zellen der undifferenzierten Gonaden beginnend, bei Exemplaren mit XY-Chromosomen während der gesamten weiteren Embryonalentwicklung und nachgeburtlich fortsetzt (hochreguliert in Sertoli-Zellen), wird von einigen Wissenschaftler/innen angenommen, dass das GATA4-Protein im Komplex mit dem FOG2-Protein an der Aktivierung des Amh-Gens in embryonalen Hoden beteiligt ist.<sup>137</sup> Auch sei der GATA4-FOG2-Komplex möglicherweise an der Regulation des Sry-Gens beteiligt, zumindest zeigte sich die Sry-Expression in Mäuse-Experimenten bei Tieren mit homozygoter Mutation von Gata4 und homozygotem Fehlen von Fog2 bei 11,5dpc (dem gewöhnlichen Peak einer Sry-Expression) deutlich – auf etwa 25% – reduziert.<sup>138</sup> Allerdings gingen die untersuchten Mäuse stets noch in der Embryonalphase wegen eines nicht ausreichend gebildeten Herzens zu Grunde. In der embryonalen Geschlechtsentwicklung zeigte sich, dass die Entwicklung von Sertoli-Zellen gehemmt war und dass wichtige Faktoren für die Steroid-Biosynthese nicht exprimiert wurden. Den Phänotyp der Gonaden interpretierten S. G. Tevosian et al. (2002) als eher XX-Gonaden als XY-Gonaden ähnlich.<sup>139</sup> Andere Ergebnisse aus Mäuse-Experimenten wiesen auf eine Bedeutung eines GATA4-FOG2-Komplexes zum Zeitpunkt 13,5dpc bei der Regulation des Dmrt1-Gens (Doublesex- and mab3-related transcription factor 1; vgl. ausführlich S.264f) hin.<sup>140</sup> Unter anderem auf Grund dieser Ergebnisse wurde GATA4-FOG2 als wichtig bei der Geschlechtsentwicklung, und zwar für die Ausbildung von Hoden, herausgestellt. Gleichwohl wurde auch eine Expression in den zunächst undifferenzierten Gonaden von Mäusen mit XX-Chromosomen in der entsprechenden Zeitspanne, beginnend bei 11,5dpc, gezeigt. Die Expression werde dort aber ab etwa 13,5dpc reduziert, um in adulten Eierstöcken wieder hochreguliert zu werden.<sup>141</sup>

M. Anttonen (2005) zeigte hingegen teilweise andere Expressionsmuster, die ihn auch zu anderen Interpretationen veranlassten: Gata4 werde in den somatischen Zellen der indifferenten Keimdrüse (bei 10,5dpc) exprimiert. Auch bei 12,5dpc, nachdem die Sry-Expression bereits eingesetzt hatte, wurden Gata4 und Fog2 sowohl bei vorhandenen XX-Chromosomen als auch bei XY-Chromosomen exprimiert. Aber während Mäuse mit XX-Chromosomen während der gesamten sich anschließenden Embryonalentwicklung eine erhöhte Expression

136 Vgl. für einen guten Überblick zu dem Gen GATA4 und Protein GATA4 und deren Einordnung sowie zu strukturellen Merkmalen des GATA4-Proteins und dessen möglichen Funktionen: Anttonen, 2005; Viger, 2008.

137 Vgl. Anttonen, 2005 S.16/17.

138 Tevosian, 2002.

139 Tevosian, 2002.

140 Lei, 2004 S.384ff.

141 Tevosian, 2002 S.4628; vgl. Anttonen, 2005 S.16.

von *Gata4* und *Fog2* aufwiesen, war bei Mäusen mit XY-Chromosomen die Expression des *Fog2*-Gens in den Sertoli-Zellen der sich differenzierenden Hoden ab 13,5dpc reduziert, ab 15,5dpc war in Sertoli-Zellen keine Expression mehr nachweisbar. *Gata4* wurde hingegen auch bei XY-Chromosomen exprimiert.<sup>142</sup> Anttonen (2005) folgerte daraus, dass das FOG2-Protein die Ausbildung von Hoden unterdrücke und die Ausbildung von Eierstöcken unterstütze, wohingegen GATA4 (ohne FOG2) die Transkription von *Sry* und *Amh* aktiviere und damit die Entwicklung von Hoden befördere. Auch in menschlichem embryonalem Eierstockgewebe zeigte Anttonen (2005) die Expression des GATA4-Gens und des FOG2-Gens.<sup>143</sup> Aktuell wird für etwa zwei Dutzend murine Gene postuliert, dass GATA4-Protein eine Bedeutung bei deren Regulation einnehmen könne, neben *Sry* und *Amh* u.a. auch bei *Sox9*, *Dmrt1* und *Star*.<sup>144</sup>

Vielfältige Funktionen im Eierstockgewebe wurden für das GATA4-Protein bei der Ausbildung von Ovarialfollikeln (jedoch noch nicht von Primordialfollikeln) beschrieben. Zudem könne GATA4 die Transkription von gegen Apoptose gerichteten Genen steigern und damit eine Rolle beim Schutz insbesondere von Granulosazellen und Zellen des Herzens vor Apoptose bewirken. Damit sei GATA4-Protein auch bei der Entwicklung von Tumoren bedeutsam.<sup>145</sup>

Neben GATA4 wird auch anderen GATA-Proteinen eine Bedeutung bei der Geschlechtsentwicklung zugeschrieben, so GATA1, GATA2, GATA6.<sup>146</sup>

*FGF9*: Ebenfalls aus Maus-Experimenten wurde ein weiterer Faktor als downstream von *Sry* wirkend postuliert. Dabei handelt es sich um *Fgf9* (Fibroblast growth factor 9; Mensch: *FGF9*)<sup>147</sup>. Das Genprodukt von *FGF9*/*Fgf9* wird der Gruppe der Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGF) zugeordnet. In dieser Gruppe werden einkettige Polypeptide zusammengefasst, denen Signalfunktionen bei Zellwachstum und Zelldifferenzierung zugeschrieben werden. Wirksam würden sie durch die Bindung an spezifische Rezeptoren (bekannt: *FGFR1-4*, weitere durch alternatives Spleißen), wodurch sie intrazelluläre Signalwege in Gang setzten. Bedeutungen von Fibroblasten-Wachstumsfaktoren werden sowohl in der Embryonalentwicklung als auch bei Gewebereparaturmechanismen in adulten Organismen beschrieben.

142 Anttonen, 2005 S.38/39; vgl. Viger, 2008.

143 Anttonen, 2005 S.39/40. Eine Reduktion der Expression von *Fog2* in solchen Zellen, in denen *Sry* exprimiert wurde, zeigten auch S. G. Tevosian et al. (2002), obgleich diese daraus die Notwendigkeit der Interaktion zwischen GATA4 und FOG2 zur Aktivierung der Transkription des *Sry*-Gens ableiteten [Tevosian, 2002]. Auch R. S. Viger et al. (2008) folgerten, dass GATA-Proteine, insbesondere GATA4, eine ‚Schlüsselrolle‘ bei der embryonalen Eierstockdifferenzierung spielen müsse [Viger, 2008].

144 Vgl. für eine Übersicht: Viger, 2008 S.31/32.

145 Laitinen, 2000; Anttonen, 2005 insbesondere S.40-49; Viger, 2008.

146 Vgl. Anttonen, 2005; Viger, 2008.

147 OMIM, 2008 (Eintrag: 600921).

FGF9/Fgf9 wird autosomal im Genom lokalisiert (Mensch: 13q11-q12). Es wird eine Wirkung auf die Embryonalentwicklung von Lunge, Extremitäten und anteriorer Hypophyse sowie bei der Proliferation und Migration von Zellen bei der Differenzierung der unspezifischen Gonadenanlage zu Hoden angenommen. Begründet wird dies damit, dass Fgf9-negative Mäuse mit XY-Chromosomen einen weiblichen Phänotyp zeigten; frühe Faktoren der – testikulären – Differenzierung von Sertoli-Zellen wurden nicht (so das Dhh-Gen [desert hedgehog, lokalisiert beim Menschen: 12q13.1])<sup>148</sup> oder vermindert (das Amh-Gen) expriert.<sup>149</sup>

Auch Mäuse mit XX-Chromosomen die mit FGF9-Protein behandelt wurden, zeigten keine Expression von Faktoren der Sertoli-Zell-Differenzierung. Daraus schlossen die Forschenden, dass Fgf9 nicht hinreichend dafür sei, downstream gelegene Entwicklungsschritte einer ‚männlichen Entwicklung‘ auszulösen, sondern dass upstream von Fgf9 gelegene Faktoren für die Entwicklung ebenso notwendig seien. Sie betonten die Bedeutung von Sry.<sup>150</sup> (Die Expression des Sry-Gens zeigte sich zudem von der Abwesenheit von Fgf9 unbeeinflusst – daher auch die Verortung von Fgf9 downstream von Sry.)<sup>151</sup>

Während Fgf9 zunächst sowohl in Mäusen mit XX-Chromosomen, als auch in solchen mit XY-Chromosomen vorhanden sei, werde es nach einem bestimmten Zeitpunkt (11,5 dpc) in Mäusen mit XX-Chromosomen herunterreguliert, wogegen die Expression in Mäusen mit XY-Chromosomen andauere. Angenommen wird, dass das FGF9-Protein in Mäusen mit XY-Chromosomen an FGFR2 bindet und damit intrazelluläre Signalwege in Gang setzt.<sup>152</sup> So postulierten Y. Kim et al. (2006a), dass zwar SOX9-Protein für die Expression von Fgf9 notwendig sei, das Umgekehrte gelte aber nicht. Allerdings beeinflussten sich SOX9- und FGF9-Protein in einer positiven Rückkopplung gegenseitig, wirke FGF9-Protein also auch stimulierend auf die Sox9-Gen-Expression. Auch wirke FGF9 stimulierend auf die Expression von Dhh und Amh.<sup>153</sup> In Mäusen mit XX-Chromosomen werde die Expression des Fgf9-Gens durch WNT4 (Wingless-type MMTV integration site family, Member 4; vgl. ausführlich S.272ff) repressiert.<sup>154</sup>

*DMRT1*: Homolog zu doublesex (dsx) in *Drosophila* und zu mab-3 in *Caenorhabditis* wird dem menschlichen DMRT1 (Doublesex- and mab3-related trans-

148 OMIM, 2008 (Eintrag: 605423); vgl. Val, 2005 S.623.

149 Vgl. u.a. Ronfani, 2004 S.1913; Ross, 2005 S.21; Kim, 2006a.

150 Vgl. Ross, 2005 S.21.

151 Kim, 2006a S.1002.

152 Colvin, 2001; Kim, 2007; vgl. Cotinot, 2002 S.161/162; Ross, 2005 S.21; Gilbert, 2006 S.535/536; Wilhelm, 2007a S.18/19.

153 Kim, 2006a S.1005; vgl. Kim, 2006b S.2295/2296.

154 Kim, 2006a S.1005; Kim, 2006b S.2295-2297.

cription factor 1)<sup>155</sup> eine Bedeutung bei der Hodenentwicklung zugeschrieben. Lokalisiert auf Chromosom 9 in der Region p24.3, ‚codiere‘ das Gen für ein Produkt mit einer DNA-bindenden Domäne und könne damit als Transkriptionsfaktor wirken. Exprimiert werde das *Dmrt1*-Gen bei Mäusen embryonal ausschließlich in der Genitalfurche, zunächst in der indifferenten Gonade um 10,5dpc. Während sich die Expression nach etwa 12,5dpc bei Mäusen mit XX-Chromosomen vermindere und bei 15,5dpc nur noch schwach nachweisbar sei, dauere sie bei Mäusen mit XY-Chromosomen in Sertoli-Zellen und Keimzellen der Hoden an.<sup>156</sup> Das *DMRT1*-Gen wird daher als gonaden- und geschlechtsspezifisch beschrieben: Eine höhere Expressionsrate wird mit der Entwicklung von Hoden (insbesondere von Sertoli-Zellen), eine niedrigere Expressionsrate mit der Ausbildung von Eierstöcken in Verbindung gebracht. Homologe zu *DMRT1* wurden außer bei *Drosophila* und *Caenorhabditis* auch bei einigen Säugetieren, wie etwa Mäusen, bei Vögeln und Reptilien, beschrieben, so dass davon ausgegangen wird, dass es einen evolutionär konservierten Bestandteil der Geschlechtsdetermination, zumindest bei Wirbeltieren, darstellt.<sup>157</sup>

*Einige weitere Gene/Genprodukte:* Ebenfalls für die Hodenentwicklung bedeutsam hypothesisiert werden *DMRT3* (Doublesex- and mab3-related transcription factor 3), auf Grund eines ähnlichen zeitlichen Expressionsmusters wie bei *DMRT1*,<sup>158</sup> und *SOX8* (SRY-related HMG-Box gene 8; lokalisiert: 16p13.3).<sup>159</sup> *SOX8* ist wie *SOX9* ein *SOX*-Protein. Die Expression des murinen Gens *Sox8* werde bei Mäusen ca. 12h nach der Erhöhung der Expression von *Sox9* gesteigert und finde zeitlich vor der Expression von *Amh* statt. *SOX8*-Protein könne, wie *SOX9*, an den Promotor von *Amh* binden, ebenso könne es mit dem *SF1*-Protein interagieren. Eine Wirkung wird, aus Experimenten mit Mäusen, in der Verstärkung der Wirkung von *SOX9* angenommen; Mäuse mit nicht-funktionalem *SOX8* zeigten allerdings keinen Effekt bei der Geschlechtsentwicklung, sondern lediglich eine geringere Körpergröße. *Sox8* wird bei Mäusen in zahlreichen Geweben und Organen, wie dem Nervensystem, in Muskeln, dem Knorpel, der Nebenniere, der Niere, dem Hoden, dem Auge, dem Ohr und der Nase, exprimiert.<sup>160</sup> Eine spezifisch geschlechtliche Bedeutung erscheint damit als fraglich. Auch weiteren Genen, wie bspw. *ATRX* (*ATR-X* gene; alpha-

155 OMIM, 2008 (Eintrag: 602424).

156 Raymond, 1999; vgl. Morrish, 2002 S.455.

157 Vgl. Koopman, 2001 S.38; Morrish, 2002 S.455; Cotinot, 2002 S.163; Erickson, 2004 S.1937; Wilhelm, 2007a S.19; Blecher, 2007 S.3058; OMIM, 2008 (Eintrag: 602424).

158 Vgl. Wilhelm, 2007a S.19.

159 OMIM, 2008 (Eintrag: 605923).

160 Vgl. Schepers, 2003; Chaboissier, 2004; Ronfani, 2004 S.1912; Koopman, 2005 S.369; Val, 2005 S.621; Wilhelm, 2007a S.18; OMIM, 2008 (Eintrag: 605923).

thalassemia/mental retardation syndrome gene; lokalisiert: Xq13)<sup>161</sup> und einigen Insulin-Rezeptor-Genen (murin: Ir [insulin receptor], Igflr [insuli-like growth factor 1 receptor], Irr [insuli receptor-related receptor]), wird eine Bedeutung bei der Etablierung eines männlichen Phänotyps zugeschrieben;<sup>162</sup> Menschen mit XY-Chromosomen mit Mutationen von ATRX zeigten einen mehr oder weniger vollständigen ‚sex reversal‘;<sup>163</sup> in Mäusen mit XY-Chromosomen bildete sich bei Nicht-Funktionalität der drei benannten Insulin-Rezeptor-Gene ein als weiblich betrachteter Phänotyp aus.<sup>164</sup>

### **Upstream von SRY – Gene die hierarchisch oberhalb von SRY eingeordnet werden, denen also eine Bedeutung bei der Ausbildung der Genitalfurche, der indifferenten Keimdrüse zugeschrieben wird**

*WT1*: Auch upstream von SRY/Sry werden mittlerweile weitere Faktoren angenommen: Das murine Wt1 und das menschliche WT1 wurden als wichtige Regulatoren von Sry/SRY postuliert;<sup>165</sup> als weitere wichtige Ziele des WT1-Proteins in der Geschlechtsentwicklung sind die Gene Wnt4, Dax1 und indirekt die Gene Sox9 und Amh in der Diskussion.<sup>166</sup> Das menschliche WT1-Gen (Wilms' tumor 1 gene)<sup>167</sup> wird auf dem autosomalen Chromosom 11 in der Region p13 lokalisiert. Mittlerweile werden zahlreiche Genprodukte von WT1 beschrieben, die Transkriptionsfaktoren darstellten. Es werden vier verschiedene (Haupt)Isoformen des WT1-Proteins unterschieden. Insgesamt mehr als zwei Dutzend bekannte Isoformen des WT1-Proteins verdeutlichen die Komplexität der Expression des WT1-Gens und der Aktivität des WT1-Proteins.<sup>168</sup> Unterschiede der Isoformen zeigten sich beispielsweise in den Bindungseigenschaften zu DNA (und ggf. RNA). Die Expression des WT1/Wt1-Gens wurde embryonal bereits zum Zeitpunkt der indifferenten Gonadenanlage, beginnend bei 9,5dpc bei Mäusen bzw. 32dpo bei Menschen, in der Urniere (Mesonephros), im Keimepithel und der Genitalfurche gezeigt.<sup>169</sup> Bereits vor 9,5dpc wurde bei Mäusen eine

161 OMIM, 2008 (Eintrag: 300032).

162 Vgl. u.a. Ronfani, 2004 S.1913/1914.

163 Vgl. McElreavey, 1997 S.344; Cotinot, 2002 S.163; Brennan, 2004 S.512; OMIM, 2008 (Eintrag: 300032).

164 Vgl. Brennan, 2004 S.513; Ross, 2005 S.21.

165 Hammes, 2001; Hossain, 2001; Matsuzawa-Watanabe, 2003; Wagner, 2003 S.1656.

166 Vgl. Wagner, 2003 S.1656.

167 OMIM, 2008 (Eintrag: 607102).

168 Vgl. Scharnhorst, 1999; Parker, 1999 S.423; Bowles, 2001 S.1025.1; Cotinot, 2002 S.162; Clarkson, 2002 S.106; Wagner, 2003 S.1654; Ronfani, 2004 S.1913; Val, 2005 S.618/619.

169 Armstrong, 1993; Rackley, 1993; vgl. Swain, 1999; Hanley, 1999; Parker, 1999 S.424; Morrish, 2002 S.452-454.

starke Expression von Wt1 im mütterlichen Uterus festgestellt.<sup>170</sup> Beim Menschen war eine starke Expression von WT1 bis zur 15. bzw. 18. Embryonalwoche in verschiedenen Geweben des Embryos nachweisbar, so in der Urniere, in der sich entwickelnden Niere (Metanephros) und in Bereichen sich entwickelnder Hoden und Eierstöcke.<sup>171</sup> Bei Ausfall des Wt1-Gens in Mäusen zeigten sich ‚Abnormalitäten‘ in den Keimdrüsen, den Nieren, dem Herzen, der Lunge, der Milz, den Nebennieren, die meist ein Zugrundegehen des Embryos bewirkten oder früh nachgeburtlich zum Tod führten.<sup>172</sup> Beim Menschen wurden im Zusammenhang mit Mutationen des WT1-Gens die Entstehung von Nierentumoren im Kindesalter (Wilms-Tumore); nicht ‚normal‘ ausgebildete Genitalien, ggf. verbunden mit Wilms-Tumor („Denys-Drash-Syndrom“); vollständige Hoden-Dysgenese, verbunden mit chronischen Nierenerkrankungen („fokal segmentale Glomerulosklerose“), und weitere ‚nicht normale‘ Nierenentwicklungen („Frasier-Syndrom“) beschrieben.<sup>173</sup> Über Funktionen von WT1-Protein in der Myogenese und bei der Ausbildung der Netzhaut wird spekuliert.<sup>174</sup>

Genauer untersucht und von besonderem Interesse sind zwei der Isoformen des WT1-Proteins. Sie entstehen durch alternatives Spleißen des Exons 9 und unterscheiden sich in der Aminosäuresequenz in drei Aminosäuren (Lysin [K], Threonin [T], Serin [S]; Kurzschreibweise: KTS). Die +KTS- und die –KTS-Varianten des WT1-Proteins zeigten unterschiedliche Bindungseigenschaften zu Nukleinsäure und zu verschiedenen Proteinen. Auf die Bedeutung der +KTS-Variante wurde aus Untersuchungen von Menschen mit „Frasier-Syndrom“ geschlossen. Auf Grund einer (heterozygot vorhandenen [homozygot im Mäuse-Experiment letal]<sup>175</sup>) Mutation zeigte sich bei Menschen mit „Frasier-Syndrom“ eine verminderte Bildung der +KTS-Isoform des WT1-Proteins. Das Verhältnis zwischen +KTS- und –KTS-Isoform verschob sich. Trotz eines als typisch männlich eingeordneten 46, XY-Chromosomensatzes würden Menschen mit „Frasier-Syndrom“ einen weiblichen Phänotyp ausbilden.<sup>176</sup> Auch bei Mäusen ließen sich entsprechende Beobachtungen bei durch heterozygote Mutation verursachter Verminderung der Menge der +KTS-Isoform feststellen, wogegen vermindertes WT1(–KTS)-Protein tiefgreifende Auswirkungen auf das Ausbilden embryonaler Nieren und Gonaden (sowohl ‚weiblicher‘ als auch ‚männlicher‘) überhaupt hatte.<sup>177</sup>

170 Rackley, 1993; Rackley, 1995.

171 Armstrong, 1993; Rackley, 1993; vgl. Swain, 1999; Hanley, 1999; Parker, 1999 S.424; Morrish, 2002 S.452–454.

172 Vgl. Wagner, 2003 S.1653.

173 Vgl. u.a. Klamt, 1998.

174 Vgl. OMIM, 2008 (Eintrag: 607102).

175 Vgl. Bowles, 2001 S.1025.1; OMIM, 2008 (Eintrag: 607102).

176 Barbaux, 1997; Klamt, 1998; vgl. Parker, 1999 S.423–425; Cotinot, 2002 S.162; Ronfani, 2004 S.1913.

177 Hammes, 2001; vgl. Bowles, 2001 S.1025.2/1025.3; Clarkson, 2002 S.107; Ronfani, 2004 S.1913; Val, 2005 S.619.

Diskrepanzen zwischen Mensch und Maus zeigen sich anscheinend an anderer Stelle und verweisen darauf, dass gerade das sensible Verhältnis von +KTS- und -KTS-Isoformen (und weiteren Isoformen) des WT1-Proteins von Bedeutung sein könnte;<sup>178</sup> und dass weitere Forschungen notwendig sind. Während bei Mäusen beschrieben wurde, dass WT1(+KTS)-Protein für die Aktivierung der Transkription von Sry wichtig sei,<sup>179</sup> und aus den Beschreibungen des „Fraser-Syndroms“ Ähnliches für den Menschen durchaus schlüssig zu folgern sei, postulierten A. Hossain et al. (2001) aus In-vitro-Experimenten, dass das WT1(-KTS)-Protein an den menschlichen SRY-Promotor binden und die Transkription induzieren könne.<sup>180</sup> Zudem wirke das menschliche WT1(-KTS)-Protein als Transkriptionsfaktor, zusammen mit SF1, an der Regulation von AMH mit.<sup>181</sup>

Die Annahme, dass sowohl +KTS- als auch -KTS-Isoformen Bedeutung bei der Geschlechtsdetermination haben könnten, wird dadurch gestützt, dass auch bei Mäusen WT1(-KTS)-Protein hierbei als wichtig postuliert werden konnte. So wirke es, zusammen mit LHX9-Protein, als Transkriptionsfaktor des Sf1-Gens,<sup>182</sup> ggf. wirke es auch aktivierend auf die Transkription von Wnt4 und von Dax1.<sup>183</sup> Damit wird eine Bedeutung des WT1-Proteins sowohl bei der Regulation von Genen, die dem hodendeterminierenden Signalweg zugerechnet werden, als auch solchen, die dem eierstockdeterminierenden Signalweg zugeschrieben werden, als möglich betrachtet. Eine Begründung für die Bedeutung der beiden besonders intensiv beschriebenen Isoformen des WT1-Proteins wird in verschiedenen Arbeiten für die Maus ausgeführt: Während das WT1(-KTS)-Protein direkt Transkription befördere,<sup>184</sup> zeige das WT1(+KTS)-Protein eine größere Affinität zu RNA (als zu DNA) und könne damit möglicherweise posttranskriptional bspw. Sry mRNA stabilisieren<sup>185</sup> oder in Verbindung mit Spleißosomen an der Prozessierung von RNA mitwirken.<sup>186</sup>

*M33:* Als weiteres Gen upstream von SRY/Sry ist M33 (Mouse, Homolog of; auch benannt: Chromobox homolog 2, Drosophila polycomb class [CBX2])<sup>187</sup>,

178 Die mögliche Beziehung/Balance zwischen +KTS- und -KTS-Isoformen visualisierten K.-D. Wagner et al. (2003) sehr anschaulich als Modell einer Waage und der möglichen Funktionen der einzelnen Isoformen: Wagner, 2003 S.1655, 1657.

179 Hammes, 2001; Wagner, 2003 S.1656; vgl. Val, 2005 S.619.

180 Hossain, 2001; vgl. Morrish, 2002 S.453; Clarkson, 2002 S.106-108; Wagner, 2003 S.1656.

181 Nachtigal, 1998; vgl. Morrish, 2002 S.453; Wagner, 2003 S.1656.

182 Wilhelm, 2002; vgl. Parker, 1999 S.426/427; Wagner, 2003 S.1656; Wilhelm, 2007a S.12/13.

183 Vgl. Kim, 1999; Wagner, 2003 S.1656.

184 Vgl. Bowles, 2001 S.1025.1; Morrish, 2002 S.452; Harley, 2003 S.480; Val, 2005 S.619; Wilhelm, 2007a S.12/13.

185 Vgl. Parker, 1999 S.423/424; Bowles, 2001 S.1025.2; Wagner, 2003 S.1655; Val, 2005 S.619; Wilhelm, 2007a S.16.

186 Vgl. Bowles, 2001 S.1025.1; Morrish, 2002 S.452; Harley, 2003 S.480.

187 OMIM, 2008 (Eintrag: 602770).

ein murines Homolog zu dem Polycomb-Gen in *Drosophila*, in der Diskussion. Das menschliche Homolog wird auf 17q25 (in der Nähe von SOX9) lokalisiert. M33 wird eine Bedeutung als Transkriptionsfaktor bei der Differenzierung von Hoden zugeschrieben, gleichwohl werden auch Wirkungen bei der Ausbildung von Eierstöcken angenommen. Es wird daher upstream von SRY/Sry verortet. Mäuse mit einer homozygoten Mutation im M33-Gen zeigten bei 40, XX-Chromosomensatz die Ausbildung kleiner Eierstöcke, wohingegen solche Mäuse mit 40, XY-Chromosomensatz einen partiellen oder vollständigen ‚sex reversal‘ hin zu einem weiblichen Phänotyp zeigten. Möglicherweise ist M33 an der Regulation der Transkription des Sfl-Gens in Milz und Nebenniere beteiligt. Allerdings ist M33 bisher weder beim Menschen noch bei Mäusen oder anderen Tieren genauer studiert worden.<sup>188</sup>

**LHX9:** Ein weiteres Gen, dem upstream von SRY/Sry Bedeutung bei der Geschlechtsdetermination zugeschrieben wird, ist LHX9 (LIM homeobox gene 9).<sup>189</sup> Autosomal lokalisiert auf Chromosom 1 in der Region q31-q32, ‚codiert‘ LHX9 einen Transkriptionsfaktor, der – wie andere Gene der LHX-Familie – eine Homöodomäne<sup>190</sup> und zwei Cystein-reiche LIM-Domänen enthält und mit diesen in Protein-Protein-Interaktionen involviert ist. Im Mäuseexperiment mit nicht-funktionalem Lhx9 wurden keine Keimdrüsen (weder Eierstöcke noch Hoden) ausgebildet, der sich herausbildende Phänotyp wurde als ‚weiblich‘ benannt. Aus der Beobachtung, dass sich die Expression des SF1-Proteins auf ein Minimum reduziert zeigte, wurde postuliert, dass das LHX9-Protein an der Aktivierung der Transkription des Sfl-Gens beteiligt sein könnte. Das LHX9-Protein könnte zusammen mit der –KTS-Isoform des WT1-Proteins die Transkription von Sfl regulieren und damit der Expression von Sry zeitlich vorausgehen.<sup>191</sup>

**LIM1:** LIM1 (LIM homeobox gene 9; beim Menschen lokalisiert: 11p13-p12), auch bekannt als LHX1,<sup>192</sup> enthält ebenfalls eine Homöodomäne. In Mäuse-Experimenten führte ein gezieltes Ausschalten von Lim1 dazu, dass Kopfstrukturen nicht ausgebildet wurden und der Embryo früh einging. Im Falle des Überdauerns von Embryonen waren bei diesen keine Nieren und Gonaden ausgebildet. Es wird angenommen, dass LIM1 Bedeutung bei der Ausbildung der

188 Vgl. Koopman, 2001 S.37; Cotinot, 2002 S.162; Erickson, 2004 S.1937; Wilhelm, 2007a S.13.

189 OMIM, 2008 (Eintrag: 606066).

190 Die Homöobox oder Homöodomäne ist eine für 60 Aminosäuren ‚codierende‘ konservierte DNA-Sequenz. Ihren Namen führt sie, da sie zuerst in s.g. homöotischen Genen (Genen, die früh die Ausbildung spezifischer Körperbestandteile [Extremitäten, Augen etc.] beeinflussen) von *Drosophila* beschrieben wurde.

191 Vgl. Heikkilä, 2002 S.28/29; Wilhelm, 2007a S.13; OMIM, 2008 (Eintrag: 606066).

192 OMIM, 2008 (Eintrag: 601999).

Genitalfurche hat, insbesondere bei der Ausbildung von Müllerschem und Wolffschem Gang.<sup>193</sup>

*EMX2*: Auch EMX2 (Empty spiracles, *Drosophila*, 2, homolog of)<sup>194</sup> werde bereits sehr früh in der Geschlechtsentwicklung, noch vor der Expression von SRY/Sry, exprimiert. Das menschliche EMX2-Gen wird auf Chromosom 10 in der Region q26.1 lokalisiert und ‚codiert‘ für einen Transkriptionsfaktor mit einer Homöodomäne. Einfluss habe es insbesondere bei der Ausbildung von Strukturen des Zentralen Nervensystems sowie bei der Entwicklung des Urogenitaltraktes. Im Maus-Experiment bildeten Mäuseembryonen ohne funktionales *Emx2* weder Keimdrüsen noch Genitaltrakt aus. Daher wird *Emx2* als sehr früh in die Geschlechtsentwicklung involviert angenommen.<sup>195</sup>

### **Jenseits von Passivität: Auch für Eierstockentwicklung werden – mittlerweile verbreitet – genetische Faktoren als notwendig betrachtet**

*DAX1*: Im Jahr 1980 wurde bei zwei Geschwistern ein 46, XY-Chromosomensatz beschrieben, der mit einem ‚weiblichen Phänotyp‘ einherging.<sup>196</sup> Während sich das Y-Chromosom als der Norm der biologischen Wissenschaft entsprechend darstellte, zeigten sich auf dem X-Chromosom diesbezüglich Veränderungen. So war ein Bereich auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms dupliziert. Dieser Bereich wurde in der Folge mit der Entwicklung eines ‚weiblichen Phänotyps‘ (mit Eierstöcken) in Verbindung gebracht und als die Entwicklung eines ‚männlichen Phänotyps‘ (mit Hoden) verhindernd beschrieben, wobei die Wirkung abhängig von der Anzahl der vorhandenen funktionalen Kopien dieses Bereichs (also dosisabhängig) sei.

1994 wurde für diese Region das Gen *DAX1* (dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenita, critical region on the X chromosome, gene 1; auch bezeichnet als: Nuclear receptor subfamily 0, Group B, Member 1 [NR0B1])<sup>197</sup> beschrieben. *DAX1* wird auf Chromosom X in der Region p21.3-p21.2 lokalisiert und ‚codiert‘ für ein aus 470 Aminosäuren bestehendes Protein, das zu den Orphan nuclear receptors (Liganden-aktivierten Kernrezeptoren ohne identifizierte Liganden) gezählt wird.<sup>198</sup> *DAX1*-Protein beinhaltet als charakteristische Strukturen C-terminal eine DNA-bindende Domäne und N-terminal ein mehrfach wiederkehrendes Aminosäure-Motiv, das in Protein-Protein-Interaktionen invol-

193 Vgl. Migeon, 2000 S.113; Koopman, 2001 S.36; Cotinot, 2002 S.158; Heikkilä, 2002 S.28; Wilhelm, 2007a S.14.

194 OMIM, 2008 (Eintrag: 600035).

195 Koopman, 2001 S.36; Wilhelm, 2007a S.13; OMIM, 2008 (Eintrag: 600035).

196 Vgl. u.a. Gilbert, 2000 S.530; Yao, 2005 S.88; Gilbert, 2006 S.538.

197 OMIM, 2008 (Eintrag: 300473).

198 Vgl. Jameson, 2003 S.56/57; OMIM, 2008 (Eintrag: 300473).

viert sein könnte. DAX1 wirke transkriptionsregulierend und unterdrücke die Transkription anderer Kernrezeptoren, wie SF1, die Östrogenrezeptoren ER $\alpha$  und ER $\beta$ , den Androgenrezeptor und den Progesteronrezeptor. Gegebenenfalls wirke DAX1 auch posttranskriptional, indem es RNA oder Polyribosomen bindet und an deren Transport in den Zellkern beteiligt ist.<sup>199</sup>

Expression von Dax1 wurde bei Mäusen embryonal für zahlreiche Gewebe und Organe beschrieben. So werde es in der Hirnrinde, der Wirbelsäule, dem Thymus, dem Herzen, der Lunge, den Eierstöcken, den Hoden, der Nebennieren-drüse, dem Hypothalamus, der Milz und den Nieren exprimiert.<sup>200</sup> Bei Mäusen mit XY-Chromosomen finde die Expression von Dax1 in einer Zeitspanne von 10,5 bis 12,5dpc statt; bei Mäusen mit XX-Chromosomen finde sie beginnend bei 10,5dpc mit zeitlich variierender Quantität bis zum Ende der Embryonalzeit und nachfolgend auch nachgeburtlich statt.<sup>201</sup> Auch beim Menschen finde eine (geringe) Expression von DAX1 bereits früh statt, in der indifferenten Gonadenanlage ab 33dpo. Auf niedrigem Niveau halte diese Expression bis zur 18. bzw. 15. Schwangerschaftswoche sowohl in embryonalen Hoden als auch embryonalen Eierstöcken an.<sup>202</sup> Bezüglich des Expressionsmusters zeigen sich also Unterschiede zwischen Mäusen und Menschen.<sup>203</sup>

Als Funktion wurde für das DAX1-Protein, insbesondere aus Beobachtungen beim Menschen, aber auch aus Experimenten mit transgenen Mäusen, eine antagonistische Wirkung zur Hodenentwicklung, als direkter oder indirekter Repressor von SRY/Sry, postuliert, wohingegen es die Ausbildung von Eierstöcken befördere. Damit wurde durch die Beschreibung von DAX1 auch die These erschüttert, dass die Ausbildung eines ‚weiblichen Phänotyps‘ ohne weiteres Zutun – passiv – verlaufe.<sup>204</sup>

Durch neuere Arbeiten wird die streng binäre Wirkung von DAX1/Dax1 – der Unterdrückung von Hodenentwicklung und Unterstützung von Eierstockentwicklung – in Zweifel gezogen, bzw. es wird eine unterschiedliche Wirkung des Dax1-Gens in Mäusen und des DAX1-Gens in Menschen als möglich impliziert.

199 Vgl. Meeks, 2003a S.1029/1030; Iyer, 2004; Ludbrook, 2004 S.117/118; Niakan, 2005 S.73; Wilhelm, 2007a S.19; McCabe, 2007.

200 Bae, 1996; vgl. Goodfellow, 2001 S.63; Morrish, 2002 S.454; Niakan, 2005 S.75.

201 Swain, 1999; Anttonen, 2005 S.16, 18; vgl. Jordan, 2002 S.5; Morrish, 2002 S.454.

202 Hanley, 2000; Hanley, 2001 S.58/59.

203 Hanley, 2000.

204 Vgl. u.a. McElreavey, 1997 S.343, 344; Swain, 1998; Gilbert, 2000 S.530; Hanley, 2003 S.480, 481; Iyer, 2004 S.69; Yao, 2005 u.a. S.88; Val, 2005 S.621/622; Gilbert, 2006 S.537/538; Kim, 2006b S.2294. Eine solche Vorstellung, der Eierstockentwicklung und der Ausbildung eines als weiblich betrachteten Phänotyps als passive Prozesse, hatten bereits 1986 E. M. Eicher und L. L. Washburn in Zweifel gezogen. Sie stellten heraus, dass Eierstöcke wie andere Organe sehr komplex seien und daher aktive genetische Signalwege zu deren Ausbildung existieren müssten [Eicher, 1986 S.328/329, 341/342; vgl. Fausto-Sterling, 1988 (1985) S.119, 129; Rieder, 2003 (2000) S.118; Yao, 2005 S.88; Rosario, 2009].

Bei Experimenten an Mäusen mit nicht-funktionalem Dax1 zeigte sich – entgegen den Beobachtungen zur Wirkung von DAX1 beim Menschen – bei XX-Chromosomen kein Effekt bei der Eierstockentwicklung und der Zeugungsfähigkeit.<sup>205</sup> Bei Mäusen mit XY-Chromosomen führte nicht-funktionales Dax1 zu verkleinerten, unvollständig entwickelten Hoden und zu Sterilität.<sup>206</sup> Letzteres zeigte sich auch bei der Untersuchung von Menschen: Bei einer Patient/in mit als männlich betrachtetem Phänotyp und Sterilität sowie Nebennierenrindenhypoplasie (adrenal hypoplasia congenita, AHC)<sup>207</sup> war eine Deletion im Bereich des DAX1-Gens nachweisbar.<sup>208</sup> Die Mechanismen und Funktionen, die DAX1/Dax1 bei der Behinderung sowie Unterstützung der Hodenentwicklung und der Spermatogenese zukommen könnten, sind bislang kaum diskutiert. E. R. B. McCabe (2007) postuliert diesbezüglich, dass auf Grund der sehr großen Variabilität auftretender Phänotypen bei Menschen mit Nebennierenrindenhypoplasie eine große Komplexität anzunehmen sei, bei der weitere Genfaktoren und Umweltfaktoren die Wirkung von DAX1/Dax1 beeinflussen.<sup>209</sup> Auf solche Komplexität weist auch hin, dass mittlerweile zwei unterschiedliche Spleiß-Varianten von DAX1 – DAX1 und DAX1A – beschrieben werden.<sup>210</sup> Auch könnten spezifische Expressionslevel zu spezifischen Zeitpunkten bedeutsam sein.<sup>211</sup>

*WNT4*: WNT4 (Wingless-type MMTV integration site family, Member 4)<sup>212</sup>, lokalisiert auf dem autosomalen Chromosom 1 in der Region p35, wird als ein in die Ausbildung ‚weiblichen Phänotyps‘ involviertes Gen betrachtet. Es wird angenommen, dass das Genprodukt u.a. die Transkription des DAX1-Gens aktivieren<sup>213</sup> und – für Mäuse postuliert – die des Fgf9-Gens unterdrücken könnte.<sup>214</sup> Das WNT4-Protein wird der WNT-Familie<sup>215</sup> zugeordnet. Es wird als cysteinreiches Glycoprotein beschrieben, das als extrazelluläres Signalmolekül fungiere und während der Embryonalentwicklung verbreitet exprimiert werde, so in

205 Vgl. Koopman, 2001 S.37; Cotinot, 2002; Iyer, 2004 S.69/70; Yao, 2005 S.88; Camerino, 2006 S.290; Kim, 2006b S.2294; Wilhelm, 2007a S.19.

206 Meeks, 2003a; Meeks, 2003b; Iyer, 2004 S.69; Bouma, 2005; vgl. Koopman, 2001 S.37; Cotinot, 2002; Jameson, 2003 S.57; Brennan, 2004 S.513/514; Yao, 2005 S.88; Val, 2005 S.622; Camerino, 2006 S.290; Kim, 2006b S.2294; Wilhelm, 2007a S.19, 21.

207 OMIM, 2008 (Eintrag: 300200).

208 Seminara, 1999; vgl. Jameson, 2003 S.57; Iyer, 2004 S.69.

209 McCabe, 2007.

210 Vgl. Iyer, 2004 S.61; McCabe, 2007 S.181. DAX1A bezeichnet ein Protein, bestehend aus 401 Aminosäuren.

211 Vgl. u.a. Ludbrook, 2004 S.119/120.

212 OMIM, 2008 (Eintrag: 603490).

213 Vgl. u.a. Anttonen, 2005 S.18; OMIM, 2008 (Eintrag: 603490).

214 Kim, 2006a S.1005.

215 Einführende Informationen zu weiteren Mitgliedern der WNT-Familie finden sich bei: Heikkilä, 2002 S.40ff; Kunow, 2007 S.7-13.

Nieren, Keimdrüsen, Müllerschem Gang, Nebennieren, Brust- und Hirnanhangdrüse.<sup>216</sup>

S. Vainio et al. (1999) untersuchten in Experimenten mit transgenen Mäusen solche, in denen Wnt4 mutiert war. Dabei zeigten solche transgenen Mäuse mit XX-Chromosomen eine ‚Vermännlichung‘: Während der Müllersche Gang abwesend war, setzte der Wolffsche Gang die Entwicklung fort.<sup>217</sup> Hingegen zeigten Mäuse mit XY-Chromosomen bei nicht-funktionalem Wnt4 keinen Effekt in der Geschlechtsentwicklung. Aus diesen Beobachtungen folgerten Vainio et al. (1999), dass Wnt4 zunächst in allen Individuen von Bedeutung, für die Ausbildung des Müllerschen Ganges notwendig sei. Bei mutiertem Wnt4 könne dieser nicht gebildet werden, und es könnten sich damit aus diesem auch nicht Eileiter, Gebärmutter und obere Vagina differenzieren.<sup>218</sup> Mäuse mit homozygot mutiertem Wnt4 starben kurz nach der Geburt an Nierendefekten.<sup>219</sup> In weiteren Studien wurde auch eine Bedeutung von Wnt4 bei der Keimzellentwicklung postuliert,<sup>220</sup> und es konnte bei mutiertem Wnt4 die Expression von Genen, die zur Biosynthese von Testosteron notwendig seien, gezeigt werden.<sup>221</sup> Die Keimdrüsen (Eierstöcke) bildeten Testosteron und wiesen teilweise Strukturen von Hoden auf.<sup>222</sup> Kim et al. (2006a; 2006b) folgerten aus Mäuse-Experimenten, dass das WNT4-Protein die Expression des Fgf9-Gens unterdrücke und damit eine ‚männliche Entwicklung‘ verhindere.<sup>223</sup>

Untersuchungen der Expression von Wnt4 stützen die Annahme einer Beteiligung an der Geschlechtsentwicklung zeitlich: So wurde im Bereich der Genitalfurche eine Expression von Wnt4 bei Mäusen mit XY-Chromosomen von 9,5dpc bis etwa 12,0dpc gezeigt; bei Mäusen mit XX-Chromosomen beginne die Expression bei 9,5dpc, halte während der gesamten Embryonalentwicklung an und finde auch nachgeburtlich statt.<sup>224</sup>

Ergebnisse aus der Untersuchung eines Menschen mit XY-Chromosomen und ‚sex reversal‘ zum ‚weiblichen Phänotyp‘ weisen ebenfalls auf eine Bedeutung von WNT4 hin. So wurde bei dem betreffenden Menschen eine Duplikation festgestellt, von der das WNT4-Gen betroffen war. B. K. Jordan et al. (2001) postulierten, dass eine ‚Überexpression‘ von WNT4 auch bei vorhandenem Y-

216 Vgl. Heikkilä, 2005 S.4016.

217 Vainio, 1999; Heikkilä, 2002 S.49-51.

218 Vainio, 1999; Heikkilä, 2002 u.a. S.56; vgl. Gilbert, 2000 S.531; Gilbert, 2006 S.538; Camerino, 2006 S.290; Kunow, 2007 S.9; Wilhelm, 2007a S.20/21; Blecher, 2007 S.3059.

219 Vainio, 1999; vgl. Kunow, 2007 S.9.

220 Heikkilä, 2002 S.51.

221 Heikkilä, 2002 S.51; Heikkilä, 2005.

222 Heikkilä, 2002 S.51, 56; Heikkilä, 2005; vgl. Kim, 2006b S.2294.

223 Kim, 2006a S.1005; Kim, 2006b S.2295-2297.

224 Heikkilä, 2002 S.49; Anttonen, 2005 S.16; vgl. Val, 2005 S.625.

Chromosom eine ‚weibliche Entwicklung‘ bewirke und dass WNT4, zusammen mit DAX1, an der Ausbildung eines ‚weiblichen Phänotyps‘ beteiligt sei.<sup>225</sup>

*FOXL2*: Ein weiteres Gen, über das ebenfalls bereits in Ansätzen geforscht wurde und zu dem einige Aussagen getroffen werden können, ist FOXL2 (Forkhead transcription factor).<sup>226</sup> Das menschliche FOXL2-Gen wird autosomal auf dem Chromosom 3 in der Region q23 lokalisiert. Beschrieben wurde FOXL2 in Verbindung mit dem Blepharophimose-Ptois-Epicanthus-inversus-Syndrom (BPES), einer ‚Erkrankung‘, unter der seltene Stellungen des Augenlids gefasst werden. BPES wird teilweise mit Mutationen in der Region 3q23 in Verbindung gebracht. Veränderungen des Augenlids, verbunden mit heterozygoten Mutationen im FOXL2-Gen seien in einigen Fällen von BPES mit unvollständiger Eierstockentwicklung assoziiert. Bei Ziegen mit XX-Chromosomen zeigte sich bei einer Mutation in der Region 1q43, die u.a. das FOXL2-Homolog betraf, ein ‚kompletter sex reversal‘ zum ‚männlichen Phänotyp‘.<sup>227</sup> Hiervon ausgehend, und in Verbindung mit auch bei Mäusen beobachteten – allerdings nachgeburtlichen – Effekten eines vollständigen Funktionsverlustes von Foxl2 auf die Eierstockentwicklung,<sup>228</sup> folgerten C. Ottolenghi et al. (2007b), dass FOXL2/Foxl2 möglicherweise einen wichtigen Einfluss beim ‚Umschalten‘ zwischen Hoden- und Eierstockentwicklung haben könnte. Sie spekulierten, dass FOXL2/Foxl2 direkt oder indirekt die Transkription von SOX9/Sox9 unterdrücken könnte,<sup>229</sup> sofern FOXL2/Foxl2 zuerst exprimiert werde. Werde hingegen zuerst SOX9/Sox9 exprimiert, solle dieses die Transkription von FOXL2/Foxl2 unterdrücken.<sup>230</sup> Eine andere Interpretation nahmen H. H.-C. Yao (2005) und D. Wilhelm et al. (2007a) vor: Ergebnisse aus Mäuse-Experimenten rezipierend, die bei homozygot ausgeschaltetem Foxl2 in Summe bezüglich der Geschlechtsentwicklung lediglich Verzögerungen der Eizell- und Follikelentwicklung ergeben hatten,<sup>231</sup> führten sie aus, dass bei vollständigem Funktionsverlust von Foxl2 bei

225 Jordan, 2001; vgl. Gilbert, 2006 S.538; Wilhelm, 2007a S.21.

226 OMIM, 2008 (Eintrag: 605597).

227 Crisponi, 2001; Baere, 2003; Beysen, 2008; vgl.: Cotinot, 2002; Yao, 2005 S.88; Val, 2005 S.624; Baron, 2005; Wilhelm, 2007a S.21; Blecher, 2007 S.3060; OMIM, 2008 (Eintrag: 605597).

228 Vgl. Baron, 2005 S.380; Ottolenghi, 2005 S.2054, 2059; Ottolenghi, 2007b S.22.

229 Hinweise (veränderte Expressionslevel von Sox9) hierfür beschrieb die Arbeitsgruppe in einem anderen Artikel: Ottolenghi, 2005 S.2054/2055.

230 Ottolenghi, 2007b insbesondere S.22-24.

231 Vgl. Schmidt, 2004; Uda, 2004. Auch C. Ottolenghi et al. (2005) beschrieben bzgl. Eizell- und Follikelentwicklung lediglich Verzögerungen, die als Folge homozygoter Mutation von Foxl2 aufträten. Hingegen betonten sie, dass bei homozygoter Mutation von Foxl2 u.a. Sox9 (als ein der männlichen Geschlechtsentwicklung zugeordnetes Gen) verstärkt exprimiert werde. Eine entsprechende Erhöhung der Expression von Sox9 bei homozygoter Mutation von Foxl2 beschrieben sie für Mäuse nachgeburtlich (für die Differenzierung nicht die Determination von Gonaden), spekulierten aber aus den Studien an Ziegen und Men-

Mäusen mit XX-Chromosomen keine ‚Störungen‘ der ‚frühen Eierstockentwicklung‘ aufgetreten seien, so dass *Foxl2* als ‚eierstockdeterminierender Faktor‘ (engl. ovary determining factor, ODF) auszuschließen sei.<sup>232</sup>

So widersprechen sich die Auffassungen über die Bedeutung von *FOXL2*/*Foxl2* teilweise. In jedem Fall trifft auch bei *FOXL2*/*Foxl2* eine weitreichende Interpretation einer Bedeutung im Sinne eines alleinigen ‚eierstockdeterminierenden Faktors‘ nicht zu.

*RSPO1*: Nachdem *DAX1*, *WNT4* und *FOXL2* nicht eindeutig mit ‚weiblicher‘ Geschlechtsdetermination in Verbindung gebracht werden konnten, werden aus einer herkömmlichen Perspektive weitere Gene vorgeschlagen, die eine ‚weibliche‘ Geschlechtsdetermination, insbesondere assoziiert mit Eierstockentwicklung, in einem zuvor ausschließlich der ‚männlichen Entwicklung‘ vorbehaltenen Sinne, ‚anschalten‘ sollen.<sup>233</sup> In einem solchen Sinne wird von D. Wilhelm (2007b) *RSPO1* (R-spondin family, member 1)<sup>234</sup>, autosomal lokalisiert auf 1p34.3, vorgeschlagen. Die Wahl fiel auf dieses Gen, nachdem gezeigt wurde, dass sich bei menschlichen Patient/innen aus zwei Familien mit chromosomal als weiblich betrachtetem Genotyp (46, XX-Chromosomensatz) bei nicht-funktionalem *RSPO1* ein als männlich betrachteter Phänotyp ausbildete. Bei diesen Patient/innen zeigte sich neben ‚funktionalen Hoden‘ – allerdings waren die Patient/innen steril – auch eine Maskulinisierung äußerer und innerer Genitalien; zudem zeigte sich eine verstärkte palmoplantare<sup>235</sup> Hornschichtbildung, und teilweise traten Plattenepithelkarzinome der Haut auf.<sup>236</sup>

schen, dass bei anderen Säugetierarten die Wirkung auch vorgeburtlich in der mehrheitlich als für die Geschlechtsdetermination als wichtig beschriebenen Zeit stattfinden könnte [Ottolenghi, 2005 S.2054-2057; vgl. Ottolenghi, 2007b S.22f].

232 Yao, 2005 S.88; Wilhelm, 2007a S.21.

233 K. McElreavey et al. (1993) postulierte einen Antagonisten zu dem *SRY*/*Sry*-Gen, der ‚hodendeterminierende Gene‘ herunterreguliere und damit eine weibliche Entwicklung bewirke; das *SRY*/*Sry*-Gen würde dessen Synthese unterdrücken bzw. dessen Aktivität hemmen [McElreavey, 1993]. Das Postulat McElreaveys et al. (1993) kann als Annahme eines aktiven Entwicklungsschritts (dem ggf. in hierarchischer Kaskade weitere folgen könnten; hierzu findet sich keine Aussage) auch zur Ausbildung von Eierstöcken und ‚weiblichem Phänotyp‘ gelesen werden, obgleich hier die Wirkung auf die Unterdrückung des *SRY*/*Sry*-Gens – also gewissermaßen auf eine ‚Verhinderung männlicher Entwicklung‘ – beschränkt wurde. Die Suche nach einem ‚eierstockdeterminierenden Gen‘ (‚ovary-determining‘, vgl.: Eicher, 1986 S.341/342; Mittwoch, 1992 S.473/474; Yao, 2005 S.91) wird in dem Review von H. H.-C. Yao (2005) pointiert herausgearbeitet: Yao, 2005; vgl. auch: Ottolenghi, 2007b insbesondere S.15/16, 22-24.

234 OMIM, 2008 (Eintrag: 609595).

235 Palmoplar: die Handflächen und Fußsohlen betreffend.

236 Parma, 2006; vgl. Wilhelm, 2007b. S. Tomaselli et al. (2008) beschrieben eine Patient/in mit 46, XX-Chromosomensatz, die als ‚mit echtem Hermaphroditismus‘ (ovotesticular DSD [DSD: „Disorders of Sex Development“, engl., „Störungen der Geschlechtsentwicklung“]) klassifiziert wurde und bei der eine Mutation des

Die Wirkung von RSPO1 bei der Ausbildung eines ‚männlichen Phänotyps‘ wurde durch eine andere Untersuchung aber wieder in Frage gestellt: Es wurde hier eine Mutation von RSPO1 bei einem Menschen nachgewiesen, der bei einem 46, XY-Chromosomensatz einen als männlich betrachteten Phänotyp aufwies und zwei Kinder hatte. Das weist darauf hin, dass ein Funktionsverlust von RSPO1 zwar bei XX-Chromosomensatz, nicht aber bei XY-Chromosomensatz einen nachweisbaren (sichtbar zu machenden) Einfluss auf die Ausbildung eines als männlich betrachteten Phänotyps haben könnte. Das Genprodukt RSPO1 wird mit diesen Untersuchungen als notwendig für die Ausbildung eines als weiblich betrachteten Phänotyps herausgestellt.<sup>237</sup>

Expressionsanalysen aus Mäuse-Experimenten orientieren auf eine größere Komplexität der Wirkung eines RSPO1-Proteins. *Rspo1* wurde bei Mäusen nicht nur in der Genitalfurche in einer für die Geschlechtsdetermination als relevant betrachteten Zeit um 12,5 dpc exprimiert, sondern bereits ab 10 dpc in zahlreichen Geweben und Körperregionen. Zum Zeitpunkt 12 dpc wurde *Rspo1* bspw. auch rings um Strukturen der Nasenhöhle exprimiert.<sup>238</sup> Gleichwohl wurde auch in Mäuse-Experimenten die Expression in der Genitalfurche bestätigt; bei Nicht-Funktionalität von *Rspo1* zeigte sich ein unvollständiger ‚sex reversal‘. So bildeten sich bei Mäusen mit 40, XX-Chromosomensatz und homozygoter Nicht-Funktionalität von *Rspo1* teilweise männliche Strukturen des Genitaltraktes aus und wurde in den Eierstöcken eine ‚erhöhte Expression‘ von Testosteron festgestellt. Die Autor/innen folgerten, dass für die Ausbildung eines vollständigen als weiblich betrachteten Phänotyps *Rspo1* notwendig sei. Sie folgerten weiter, dass das RSPO1-Protein an der ‚Unterdrückung‘ der Ausbildung eines als männlich betrachteten Phänotyps beteiligt sei und dass es dabei womöglich eng mit WNT4 interagiere (ggf. dessen Expression stimuliere).<sup>239</sup>

## **Zusammenfassende Darstellung der als in die Geschlechtsdetermination involviert betrachteten Gene bzw. Genprodukte**

In der im Folgenden angeführten Tabelle (vgl. Tab. 1) werden die zuvor ausführlich und differenziert dargestellten Betrachtungen zu häufig als in die Geschlechtsdetermination involviert beschriebenen Genen und Genprodukten

---

RSPO1-Gens festgestellt wurde, die einen partiellen Funktionsverlust des RSPO1-Proteins bewirke. Die Ergebnisse deuteten Tomaselli et al. (2008) in dem schon ausgeführten Sinne, wobei sie sich bereits bei der Hypothese darauf beschränkten, nach einem einzelnen Gen zu suchen, das den festgestellten als abweichend eingeordneten Phänotyp (neben ‚gestörter Entwicklung der Genitalien‘, wurden auch ‚Verhornung der Haut‘, ‚Hördefekt‘ etc. beschrieben) begründen sollte [Tomaselli, 2008 u.a. S.224].

237 Parma, 2006; vgl. Wilhelm, 2007b.

238 Kamata, 2004; vgl. OMIM, 2008 (Eintrag: 609595).

239 Tomizuka, 2008; vgl. Wilhelm, 2007b S.316/317.

zusammengefasst. Damit wird ein vergleichender Überblick ermöglicht, der allerdings auf Grund der Kürze notwendigerweise nicht in der Lage ist, die Differenziertheit und teilweise Widersprüchlichkeit der in den vorangegangenen Betrachtungen vorgestellten Ergebnisse von Einzelstudien aufzunehmen. In einer sich anschließenden graphischen Darstellung wird ein Modell des möglichen netzwerkartigen Zusammenwirkens von Genen bzw. Genprodukten visualisiert.

*Tab. 1: Überblick über die häufig für Geschlechtsdetermination als wichtig beschriebenen Gene bzw. Genprodukte. (Die Tabelle stellt dabei nur einige, nämlich die hier zuvor betrachteten, Gene dar und ist nicht als vollständige Gesamtübersicht zu verstehen.)*

| Gen                                                                      | Genort<br>(human) | humane Proteinfunktion<br>(murin in Klammern)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Datenbank-<br>Eintrag, vgl.<br>OMIM<br>(2008) |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| <i>Exprimierte Gene in der undifferenzierten geschlechtlichen Anlage</i> |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                               |
| WT1                                                                      | 11p13             | Transkriptionsfaktoren, wobei mehr als zwei Dutzend verschiedene Isoformen bekannt sind, die unterschiedliche Wirkungen entfalten; WT1 ist ggf. an der Regulation der Transkription von SRY, AMH und SF1 beteiligt; zudem könnte es wichtig bei der Ausbildung der Nierenfunktion, bei der Myogenese und ggf. bei der Ausbildung der Netzhaut sein<br>(Maus: Ggf. ist WT1-Protein auch an der Regulation von Wnt4 und Dax1 beteiligt; ggf. stabilisiert es posttranskriptional Sry mRNA; ggf. unterschiedliche Wirkung der Isoformen von Maus und Mensch) | 607102                                        |
| SF1                                                                      | 9p33              | Kernrezeptor / Transkriptionsfaktor, SF1 wird eine Bedeutung bei der Ausbildung der indifferenten Keimdrüse zugeschrieben; außerdem sei es beteiligt an der Regulation von DAX1, CYP11A1, STAR, P450 Aromatase, von Hydroxylasen und Gonadotropinen;                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 184757                                        |

|                                                                                              |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                |                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
|                                                                                              |                            | insbesondere bewirke es die Expression von AMH und die Bildung von Testosteron<br>(Maus: Zunächst in allen steroidbildenden Geweben exprimiert, gehe die Expression von Sf1 bei XX-Chromosomen nach 12,5 dpc zurück)                                                           |                          |
| LHX9                                                                                         | 1q31-q32                   | Transkriptionsfaktor, genauere Untersuchungen stehen aus<br>(Maus: Beteiligung an der Ausbildung von Hoden und Eierstöcken zugeschrieben; ggf. an der Regulation der Transkription von SF1 beteiligt)                                                                          | 606066                   |
| LIM1<br>(LHX1)                                                                               | 11p13-p12                  | (Maus: Transkriptionsfaktor; Bedeutung wird bei der Ausbildung von Kopfstrukturen sowie von Nieren und Genitalfurche zugeschrieben)                                                                                                                                            |                          |
| EMX2                                                                                         | 10q26.1                    | Transkriptionsfaktor, genauere Untersuchungen stehen aus<br>(Maus: Einflüsse bei der Ausbildung des Zentralen Nervensystems und bei der Entwicklung des Urogenitaltraktes zugeschrieben; Mäuse ohne funktionales EMX2-Protein bildeten weder Keimdrüsen noch Genitaltrakt aus) | 600035                   |
| M33                                                                                          | 17q25                      | Transkriptionsfaktor, genauere Untersuchungen stehen aus<br>(Maus: Einfluss sowohl bei Hoden- als auch bei Eierstockentwicklung, daher wird angenommen, dass M33 upstream von SRY wirke)                                                                                       | 602770                   |
| <i>Gene, die als an einem ,hodendeterminierenden Signalweg' beteiligt beschrieben werden</i> |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                |                          |
| GATA4/<br>ggf. mit dem Co-Faktor FOG2                                                        | 8p23.1-p22<br>(FOG2: 8q23) | (insbesondere Maus: Transkriptionsfaktor, Expression in der indifferenten Keimdrüse; anschließend ggf. Aktivierung der Transkription von Sry und von Amh und damit Bedeutung bei der                                                                                           | 600576<br>(FOG2: 603693) |

|       |               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |        |
|-------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|       |               | Hodenentwicklung [dies ggf. zusammen mit FOG2]; ggf. zusammen mit FOG2 Bedeutung bei der Eierstockentwicklung; zudem Bedeutung bei der Entwicklung des Herzens und bei der Ausbildung von Ovarialfollikeln beschrieben)                                                                                                                                                                    |        |
| SRY   | Yp11.3        | Transkriptionsfaktor, als bedeutsam bei der Ausbildung von Hoden beschrieben                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 480000 |
| SOX9  | 17q24.3-q25.1 | Transkriptionsfaktor, ggf. Spleißfaktor; bedeutsam bei der Ausbildung von Skelett und Bindegewebe und bei der Ausbildung von Hoden, ggf. auch bei der Melanin-Produktion; Untersuchungen von Mensch und Maus weisen darauf hin, dass SOX9 hinreichend für die Ausbildung von Hoden und einen als männlich betrachteten Phänotyp ist (dies gelte auch bei Abwesenheit von funktionalem SRY) | 608160 |
| AMH   | 19p13.3-p13.2 | Hormon; Bedeutung wird AMH bei der Rückbildung des Müllerschen Ganges zugeschrieben; in späteren Embryonalphasen wird AMH Bedeutung bei der Ausbildung von Ovarialfollikeln zugeschrieben                                                                                                                                                                                                  | 600957 |
| SF1   | 9p33          | vgl. oben                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 184757 |
| FGF9  | 13q11-q12     | (Maus: Signalmolekül; Bedeutung in der Embryonalentwicklung sowie in adulten Organismen bei Gewebereparaturmechanismen; Beteiligung an der Ausbildung von Hoden beschrieben)                                                                                                                                                                                                               | 600921 |
| DMRT1 | 9p24.3        | (Maus und verschiedene andere Organismenarten: Transkriptionsfaktor; hohe Expressionsraten von DMRT1-Homologen in den einzelnen Organismenarten werden mit der Ausbildung                                                                                                                                                                                                                  | 602424 |

|                                                                                                 |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|                                                                                                 |              | von Hoden, niedrige Expressionsraten mit der Ausbildung von Eierstöcken in Verbindung gebracht)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |        |
| DMRT3                                                                                           | 9p24.3       | (Maus und verschiedene andere Organismenarten: Transkriptionsfaktor; auf Grund eines ähnlichen Expressionsmusters wie bei DMRT1-Homologen in verschiedenen Organismenarten wird auch für DMRT3-Homologe eine Bedeutung bei der Ausbildung von Hoden postuliert)                                                                                                                                                                                                    | -      |
| SOX8                                                                                            | 16p13.3      | (Maus: Transkriptionsfaktor; die Bedeutung wird in einer Steigerung der Wirkung von SOX9-Protein gesehen; ggf. interagiere auch SOX8-Protein mit Amh und Sfl; exprimiert wird SOX8 in zahlreichen Geweben und Organen)                                                                                                                                                                                                                                             | 605923 |
| ATRX                                                                                            | Xq13         | Helikase, Bedeutung bei der Ausbildung von Hoden zugeschrieben                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 300032 |
| DAX1                                                                                            | Xp21.3-p21.2 | Kernrezeptoren / Transkriptionsfaktoren; zwei verschiedene Isoformen (DAX1, DAX1A) sind beschrieben; Bedeutung wird bei der Eierstockentwicklung angenommen, es wird aber auch antagonistische und unterstützende Wirkung bei Hodenentwicklung und Spermatogenese beschrieben (Maus: Auch hier wurde antagonistische und unterstützende Wirkung von DAX1 bei der Hodenentwicklung gezeigt, hingegen zeigte sich kein Einfluss auf die Ausbildung von Eierstöcken.) | 300473 |
| <i>Gene, die als an einem ‚eierstockdeteminierenden Signalweg‘ beteiligt beschrieben werden</i> |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |        |
| DAX1                                                                                            | Xp21.3-p21.2 | vgl. oben                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 300473 |

|            |                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                       |
|------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| WNT4       | 1p35                    | Signalmolekül; möglicherweise aktiviert WNT4-Protein die Expression von DAX1; angenommen wird, dass WNT4 für die Ausbildung des Müller-schen Ganges notwendig sei, später an der Entwicklung von Eierstöcken mitwirke und antagonistisch zur Ausbildung von Leydig-Zellen wirke (Maus: Neben der möglichen Aktivierung von Dax1 wurde auch die Repression von Fgf9 durch das WNT4-Protein beschrieben.) | 603490                |
| GATA4-FOG2 | 8p23.1-p22 (FOG2: 8q23) | vgl. oben                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 600576 (FOG2: 603693) |
| FOXL2      | 3q23                    | Transkriptionsfaktor; FOXL2 könnte für die vollständige Eierstockentwicklung bedeutsam sein (Maus: Bei nicht-funktionalem Foxl2-Gen konnte kein Einfluss auf die Eierstockentwicklung festgestellt werden.)                                                                                                                                                                                             | 605597                |
| RSPO1      | 1p34.3                  | Transkriptionsfaktor; entfaltet möglicherweise in Kooperation mit anderen Faktoren antagonistische Wirkung auf die Entwicklung von Hoden (Maus: Rspo1-Gen wird in der frühen Embryonalentwicklung in zahlreichen Geweben und Körperregionen – nicht nur in der Genitalfurche – exprimiert.)                                                                                                             | 609595                |

Eine relativ komplexe graphische Darstellung der Wirkung von Genen bzw. Genprodukten bei der Geschlechtsdetermination *von Mäusen* (vergleichbar differenzierte Betrachtungen für menschliche Geschlechtsdetermination fanden sich nicht) stellte J. T. Klattig (2006) dar (vgl. Abb. 6, S.282). Sie soll hier zur Veranschaulichung herangezogen werden. Die entnommene Abbildung zeigt zum einen die Komplexität von in Netzwerken wirkenden Genen bzw. Genprodukten, sie macht zum anderen deutlich, wie wenige der Interaktionen bisher tatsächlich als ‚sicher‘ beschrieben werden – lediglich die durchgezogenen Linien verweisen

auf Interaktionen zwischen Genen/Genprodukten, die deutlich gezeigt wurden und als ‚sicher‘ gelten.

Allerdings ist, wie aus den vorangegangenen Ausführungen deutlich wurde, die Positionierung von einigen Genen/Genprodukten in der Abbildung fraglich und zu überdenken (dies u.a. bei Gata4, Fog2, Dax1, Foxl2), und es ist davon auszugehen, dass einzelne Gene/Genprodukte die Funktion anderer teilweise oder vollständig ersetzen können (dies erschien in den vorangegangenen Beschreibungen u.a. bzgl. der Gene Sry und Sox9 als möglich).

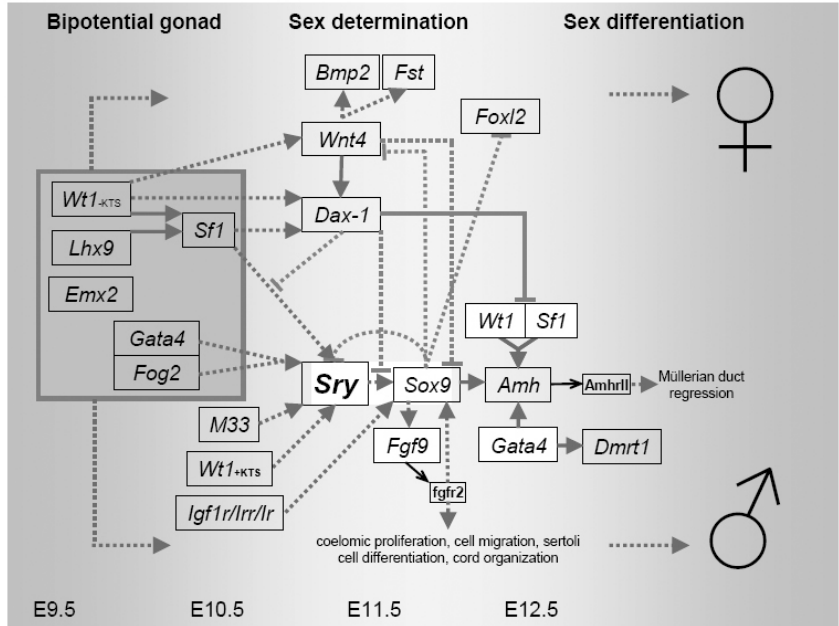


Abb. 6: Entnommen aus: Klattig, 2006, S.5. Dargestellt sind Interaktionen von Genen und Genprodukten, die bei Mäusen als in die Ausbildung der ‚bipotenten Gonade‘ und die Geschlechtsdetermination involviert betrachtet werden, zu den Zeitpunkten der Embryonalentwicklung (E) 9,5 bis 12,5 dpc (Geschlechtsdifferenzierung erscheint randständig, ohne mögliche Interaktionen aufzuzeigen). Pfeile verweisen auf aktivierende, die übrigen und dunkleren Verbindungslinien auf hemmende Wirkungen. Durchgezogene Linien verweisen auf Interaktionen, die deutlich gezeigt wurden, gestrichelte Linien auf solche Interaktionen, die indirekt erfolgen könnten oder lediglich angenommen werden. ♀ verweist auf ‚weibliche Geschlechtsdetermination und -differenzierung‘, ♂ verweist auf ‚männliche Geschlechtsdetermination und -differenzierung‘.

### 3. Die Gene sind es nicht – weitere die Geschlechtsdetermination beeinflussende Faktoren

Bis zu dieser Stelle wurden Chromosomen und Gene angeführt, die in der Geschlechtsdetermination als wichtig betrachtet werden. Die Darstellungen waren ausführlich, um herauszustellen, dass es auch bei den unterschiedlichen als wichtig betrachteten Genen und Genprodukten widersprüchliche ‚Erkenntnisse‘ und Leerstellen in den Forschungen gibt und dass, auch wenn man der Annahme einer größeren Bedeutung von Genen bei Geschlechtsdetermination folgt, diese Gene als in komplexen Netzwerken interagierend verstanden werden müssen. Gleichzeitig geben die dargestellten Chromosomen und Gene auch aus Sicht der forschenden Biolog/innen nur einen kleinen Ausschnitt der Chromosomen und Gene wieder, die an der Geschlechtsdetermination beteiligt sind – insofern wäre auch aus Sicht dieser Biolog/innen die abschließend aufgeführte Liste an der Geschlechtsdetermination beteiligter Gene zu erweitern.

Im Folgenden sollen einige weiterführende Kritiken an auf Chromosomen und Genen basierten, zudem geschlechtlich dichotom ausgerichteten Theorien der Geschlechtsdetermination vorgebracht werden. Begonnen wird mit einer Kritik an der Auswahl einiger Chromosomen als ‚Geschlechtschromosomen‘, da – wie ersichtlich wurde – nur wenige Gene, die als wichtig für die Geschlechtsdetermination gelten, regelmäßig („normal“) auf ‚Geschlechtschromosomen‘ lokalisiert sind.

Sodann wird anhand des Beispiels einer Gen-Expressionsanalyse, ihrer Inhalte und Methoden ausgeführt, wie Vorannahmen dichotomer Geschlechtlichkeit in die Forschung eingehen und ihr Ergebnis prägen.

Abschließend wird der Blick geweitet. Es wird dargestellt, welchen Faktoren neben Chromosomen und Genen bislang Beteiligung an Geschlechtsdetermination eingeräumt wird. Dabei werden u.a. epigenetische<sup>240</sup> maternale, hormonelle und ‚Umweltfaktoren‘ genauer betrachtet.

### Chromosomen in dichotom geschlechterdifferenzierenden Beschreibungen

Chromosomen werden in der Nomenklatur in ‚Gonosomen‘ (‚Geschlechtschromosomen‘) und ‚Autosomen‘ (‚Körperchromosomen‘) unterteilt, je nachdem, ob sie als geschlechterdifferent festgestellt werden konnten oder nicht. So komme bei männlichen Individuen des Menschen und vieler Säugetierarten regelmäßig („normalerweise“) ein X- und ein Y-Chromosom vor, wohingegen bei weiblichen Individuen zwei X-Chromosomen regelmäßig vorzufinden seien.

240 Vgl. S.296ff in diesem Kapitel; der Begriff ‚epigenetisch\*‘ bezieht sich auf Epigenetik [engl. epigenetics], nicht auf Epigenese [engl. epigenesis] und ist in diesem Zusammenhang mit einem „\*“ gekennzeichnet.

Die Benennung als ‚Geschlechtschromosomen‘ legt nahe, dass dort die wesentlichen chromosomalen (bzw. genetischen) Merkmale lokalisiert seien, die zu einer weiblichen oder einer männlichen Entwicklung führen könnten. Hierzu gibt es gegenläufige Beschreibungen, die andere Möglichkeiten intendieren.

Bereits aus den oben ausgeführten Beschreibungen geht hervor, dass selbst die bislang näher untersuchten Gene, denen Beiträge zur Geschlechtsdetermination zugeschrieben werden, nur in den seltensten Fällen regelmäßig (‚normalerweise‘) auf so genannten ‚Geschlechtschromosomen‘ lokalisiert sind. Vielmehr finden sie sich beim Menschen regelmäßig auf den autosomalen Chromosomen 1, 3, 8, 9, 10, 11, 13, 16, 17, 19 lokalisiert, und lediglich DAX1 und SRY werden auf den ‚Geschlechtschromosomen‘ X oder Y verortet.<sup>241</sup>

Dem regelmäßig auf dem X-Chromosom lokalisierten DAX1-Gen werden ohnehin Bedeutungen sowohl bei der Ausbildung von Eierstock- als auch von Hodengewebe zugeschrieben. Die Beteiligung von DAX1 an der Ausbildung von sowohl als weiblich wie auch als männlich betrachteten Gonaden weist darauf hin, dass die Geschlechtsdetermination nicht einfach von dem Vorkommen dieses ‚geschlechtschromosomal‘ lokalisierten Gens abhängig sein kann.

Das Y-Chromosom wurde als vermeintlich zusätzlicher Faktor in der regelmäßigen chromosomalen Ausstattung ‚männlicher Individuen‘ genaueren Untersuchungen unterzogen. Schließlich wurde das SRY-Gen auf dem Y-Chromosom lokalisiert, das als ‚hodendeterminierender Faktor‘ den eigentlichen geschlechtsdeterminierenden Faktor darstellen sollte. Aber auch hier wurden mittlerweile zahlreiche Einwände vorgebracht: So zeigte sich auch bei einigen Mäusen und Menschen mit einem als typisch weiblich betrachtetem Chromosomensatz (XX) und auch bei abwesendem SRY/Sry-Gen ein als männlich zugewiesener Phänotyp ausgebildet. (Dieser wurde zum Teil mit dem autosomal lokalisierten SOX9/Sox9-Gen in Verbindung gebracht.) Hingegen bildete sich bei vorhandenem SRY-Gen bzw. Sry-Gen bei Menschen und Mäusen mit als typisch männlich betrachtetem Chromosomensatz (XY) zuweilen ein als weiblich betrachteter Phänotyp aus, der zum Teil mit einer dosisabhängigen Expression des DAX1/Dax1-Gens in Verbindung gebracht wurde.

Einige Wissenschaftler/innen stellen in der Säugetierevolution eine Verringerung der Zahl vermeintlicher Gene auf dem Y-Chromosom fest und postulieren, dass das Y-Chromosom bei Säugetieren in Zukunft gänzlich verschwinden könnte.<sup>242</sup> Eine möglicherweise so verlaufende Entwicklung des Verlusts des Y-Chromosoms wird durch Ergebnisse an einigen Säugetieren gestützt, gleichzeitig sprechen diese Ergebnisse gegen eine für Säugetiere universelle einseitig am Y-

241 Die angeführten Chromosomen beziehen sich auf die zuvor betrachteten Gene und deren ‚normale‘ Lokalisation, weitere Gene auf weiteren Chromosomen wären hinzuzufügen.

242 Vgl. u.a. Marshall Graves, 2002a S.93-95; Marshall Graves, 2002b S.63; vgl. auch: Rosario, 2009 S.276.

Chromosom orientierte Geschlechtsdetermination. So wurden bei den Japanischen Landratten *Tokudaia osimensis osimensis* und *Tokudaia osimensis spp.* und bei den zu den Wühlmäusen gehörenden Mull-Lemmingen *Ellobius lutescens* und *Ellobius tancrei* weder ein Y-Chromosom noch ein SRY-Gen-Homolog festgestellt. Der Chromosomensatz war zwischen ‚weiblichen‘ und ‚männlichen‘ Individuen nicht zu unterscheiden.<sup>243</sup>

Bei Vogelarten – und anderen Tierarten –<sup>244</sup> fand sich die heterologe Kombination der ‚Geschlechtschromosomen‘ Z und W, im Gegensatz zu Maus und Mensch, regelmäßig nicht beim ‚männlichen Geschlecht‘, sondern beim ‚weiblichen Geschlecht‘. Das ‚männliche Geschlecht‘ hatte regelmäßig zwei gleichartige ‚Geschlechtschromosomen‘ Z. Daher wurde auch bei Vögeln eine zu der der Säugetiere unterschiedliche Nomenklatur der ‚Geschlechtschromosomen‘ gewählt: Z- und W-Chromosom statt X- und Y-Chromosom. Fehlende Homologien zwischen Vogel-Z- und Mensch-X-Chromosom legten eine solche differenzierende Nomenklatur nahe.<sup>245</sup> Weitere Beispiele von Tieren, bei denen kein Y-Chromosom nachgewiesen werden konnte oder diesem eine bestimmende Funktion bei der ‚Hodendetermination‘ abgesprochen werden musste, finden sich zahlreich bspw. bei Insekten-, Amphibien- und Reptilienarten – sie sollen hier aber nicht Thema sein.<sup>246</sup> All das erhellt, dass auch das Y-Chromosom nicht als

243 Just, 1995; Soullier, 1998; Baumstark, 2000 S.4, 13/14; Sutou, 2001; vgl. u.a. Wilhelm, 2007a S.17. Bisher wird die Forschung darauf orientiert, den evolutionären Verlust des Y-Chromosoms nachzuweisen und zeitlich zu bestimmen sowie Vorschläge für Gene zu unterbreiten, die das SRY-Gen in der zugewiesenen Position des ‚hodendeterminierenden Gens‘ bei diesen Arten vertreten würden. Postuliert wird, dass Abschnitte des Y-Chromosoms evolutionär durch Translokation auf andere Chromosomen übergegangen sein könnten – hierfür gibt es Anzeichen, allerdings zeigten sich die möglicherweise ehemalig Y-lokalisierten Gene bei Einzeluntersuchungen (jeweils sehr kleiner Stichprobenzahl) von *Tokudaia osimensis osimensis* und *Tokudaia osimensis spp.* auf dem X-Chromosom sowohl weiblicher als auch männlicher Zelllinien [Sutou, 2001; Arakawa, 2002]. Ein SRY-Gen-Homolog konnte trotz Suche nirgendwo im Genom der aufgeführten *Ellobius*- und *Tokudaia*-Arten nachgewiesen werden [Just, 1995; Sutou, 2001; Arakawa, 2002; Nakamura, 2007]. Y. Arakawa et al. (2002) postulierten vor diesem Hintergrund eine größere Bedeutung autosomaler Gene bei der Geschlechtsdetermination (wobei ihr Fokus der Suche auf Hodendeterminierung gerichtet ist) [Arakawa, 2002].

244 Vgl. für eine Übersicht: Ezaz, 2006 u.a. S.R737; Manolakou, 2006.

245 Vgl. hierzu, mit einem evolutionärem Blick möglicher oder unmöglicher gemeinsamer Vorfahren des ‚ZW-‘ und ‚XY-Systems‘: Ezaz, 2006 u.a. S.R736.

246 Vgl. zu Theorien der Geschlechtsdetermination verschieden nach Tierklassen (und Tierarten) u.a. Mittwoch, 1986 S.113-117; Capel, 1998 S.497-499; Scherer, 2002 S.229-231; Morrish, 2002 S.447-449, 451; Ezaz, 2006; Manolakou, 2006; vgl. auch die Beiträge verschiedener Autor/innen in: Scherer, 2001 S.71ff; vgl. explizit zu verschiedenen Theorien der Geschlechtsdetermination bei Amphibienarten: Eggert, 2004; vgl. zu verschiedenen Theorien der Geschlechtsdetermination bei Reptilienarten: Sarre, 2004. Es werden unter Bezugnahme auf die als wichtig betrachteten an der Geschlechtsdetermination beteiligten Faktoren unterschieden:

singulärer, die Geschlechtsdetermination bestimmender Faktor betrachtet werden kann.

Die Möglichkeiten numerischer<sup>247</sup> und struktureller<sup>248</sup> Chromosomenaberrationen, die den ganzen Organismus oder nur einige Zellpopulationen<sup>249</sup> betreffen

umwelt determinierte Geschlechtsbestimmung (bspw. durch Temperatur), maternal determinierte Geschlechtsbestimmung und verschiedene Möglichkeiten chromosomal und genetisch determinierter Geschlechtsbestimmung [vgl. für einen Überblick und eine genauere Einteilung: Beye, 2004 S.1-3; Gempe, 2006 S.6-8].

- 247 Numerische Chromosomenaberrationen werden auch als ‚Aneuploidie‘ bezeichnet. Sie bezeichnen zahlenmäßige Veränderungen des Chromosomenbestandes im Vergleich zum als ‚normal‘ betrachteten Chromosomenbestand. Dabei können einzelne Chromosomen oder der ganze Chromosomensatz zahlenmäßig verändert sein. Für einige teilweise als pathologisch und teilweise als unauffällig (unauffällig, da ein ‚normaler‘, als männlich oder weiblich betrachteter, Phänotyp vorhanden ist; die Unauffälligkeit der Genitalien trifft bspw. bei vielen Fällen von „Klinefelter-Syndrom“ zu [vgl. Sax, 2002 S.176; Lee, 2007; Schaaf, 2007 S.264-267; Visootsak, 2006]) beschriebene Aneuploidien der Chromosomen X und Y beim Menschen vgl. u.a.: Schaaf, 2007 S.258-267.

- 248 In der Meiose, in geringerem Maße in der Mitose, kommt es regelmäßig (‚normal‘) zu Rekombinationsereignissen. Einerseits werden in der Meiose die elterlichen Chromosomen in der Anaphase der ersten Reifeteilung und die Chromatiden (Chromosomenabschnitte) in der zweiten Reifeteilung zufällig verteilt; andererseits kommt es in der frühen Prophase (Pachytän) der ersten Reifeteilung regelmäßig zu Chromosomenbruchstück austausch (crossing over). Den Crossing-over-Ereignissen wird eine wichtige Bedeutung bei der Neukombination von DNA zugeschrieben. Zwei auf einem Chromosom weit voneinander entfernt lokalisierte Gene werden dabei während der Meiose mit hoher Wahrscheinlichkeit – nahe 100% – voneinander getrennt. Bei diesen Crossing-over-Ereignissen kann es dazu kommen, dass kleinere oder größere Bereiche auf einem Chromosom verlorengehen (Deletion), vervielfältigt werden (Duplikation) oder verlagert werden (Translokation). Translokationen können balanciert (d.h. ohne Deletion oder Duplikation) oder unbalanciert (d.h. mit Deletion oder Duplikation) auftreten, sie können zwischen homologen oder nicht-homologen Chromosomen stattfinden. Bei Translokationsereignissen zwischen nicht-homologen Chromosomen kann bspw. ein ‚codierender‘ Bereich (bspw. das Gen SRY oder Teile davon) auf ein anderes Chromosom verlagert werden und dort funktional oder nicht-funktional sein. Ggf. gelangt so ein Gen in den Einflussbereich eines anderen Promotors und kann damit verstärkt, vermindert, in anderen Geweben oder zeitlich zum ‚Ursprungsort‘ different etc. transkribiert werden.

- 249 Es wird von ‚Mixoploidie‘ gesprochen, wenn in einem Organismus Zellpopulationen mit einem numerisch unterschiedlichen Chromosomenbestand (bspw. einige Zellen bezüglich eines Chromosoms oder des gesamten Chromosomensatzes diploid, andere Zellen des gleichen Organismus diesbezüglich triploid) angetroffen werden [vgl. u.a. Schaaf, 2007 S.246, 263, 266; Oktem, 2007]. Des Weiteren können ‚Chimären‘ oder ‚Mosaiken‘ auftreten. Bei diesen weisen Gewebe oder Zellpopulationen eines Organismus eine unterschiedliche chromosomale oder genetische Zusammensetzung auf. Bspw. wird von einer ‚Chimäre‘ gesprochen, wenn in einem Organismus Zellen mit zwei X-Chromosomen neben solchen mit einem X- und einem Y-Chromosom vorliegen; von einer ‚Chimäre‘ kann aber auch nach einer Gewebetransplantation gesprochen werden. Bei ‚Chimären‘ entstammen die chromosomal bzw. genetisch unterschiedlichen Gewebe bzw. Zell-

können, und die Möglichkeiten spezifischer Aktivierung und Inaktivierung größerer Chromosomenbereiche sind weitere Momente, die nahelegen, dass die statische Betrachtung von Chromosomen als Faktoren, durch die bereits die – zudem binäre – Geschlechtsdetermination vollzogen bzw. vorgeschrieben sei, so sehr simplifiziert, dass sie nicht mehr in der Lage ist, sich tatsächlich ablaufenden physiologischen Prozessen anzunähern.

## Gene in dichotom geschlechterdifferenzierenden Beschreibungen

Die oben aufgestellte Liste (vgl. Tab. 1, S.277ff) enthält nur einen kleinen Teil derjenigen Gene und Genprodukte, die als an der Geschlechtsdetermination beteiligt betrachtet werden müssen. In Arbeiten jüngerer Datums wurden, dank effektiverer Techniken, Zellen der Genitalfurche, der indifferenten Gonade und der sich differenzierenden Gonade auf ihre exprimierten Gene untersucht. Arbeitsgruppen nutzten verschiedene Techniken, um die Expression von Genen in spezifischen Geweben zu zeigen und ggf. Differenzen zwischen als ‚männlich‘ und als ‚weiblich‘ ausgeführten Expressionsmustern zu erhalten.<sup>250</sup> Einige nutzten transgene Mauslinien, in die sie die DNA-Sequenz fluoreszierender Proteine eingebracht hatten, um spezifisch nur ‚gefärbte‘ Zellen aussortieren und analysieren zu können.

Davon ausgehend, wurden mittlerweile von verschiedenen Arbeitsgruppen Hunderte Gene als in den indifferenten und sich differenzierenden Gonaden von Mäusen in der fraglichen Zeit der Geschlechtsdetermination exprimiert beschrieben. Ob diese Gene einen Einfluss auf Geschlechtsdetermination haben könnten, ist eine andere Frage, die mit der Feststellung der stattfindenden Expression noch nicht beantwortet ist. Damit ist klar, dass die oben beschriebenen Gene und Genprodukte nur einen kleinen Ausschnitt wiedergeben, mit dem es sich bei der Geschlechtsdetermination auseinanderzusetzen gilt. Erschienen schon die Angaben zu den oben angeführten Genen und Genprodukten an vielen Stellen lückenhaft und widersprüchlich, so ist über die übrigen Hunderte von Genen noch weitaus weniger oder gar nichts beschrieben. Dies und dichotom-geschlechtliche Voraussetzungen bei der ‚Gen-Suche‘ werden im folgenden Punkt deutlicher:

---

populationen verschiedenen Zygoten (bzw. Organismen); hingegen haben bei ‚Mosaiken‘ sich chromosomal bzw. genetisch unterscheidende Gewebe bzw. Zellpopulationen ihren Ursprung in einer gemeinsamen Zygote [vgl. u.a. Hunter, 1995 S.239ff]. (Allerdings werden die Begriffe ‚Chimäre‘ und ‚Mosaik‘ in der wissenschaftlichen Literatur häufig synonym verwendet.)

250 Sie nutzten Real time PCRs (vgl. Fußnote 251, S.288), in situ hybridization screens, subtraction screens, microarrays und in silico subtractions.

## Beispiel einer Gen-Expressionsanalyse, methodische Probleme und begrenzte Aussagekraft

Expressionsanalysen wie die im Folgenden dargestellte werden in der Forschung eingesetzt, um bislang nicht beschriebene Gene mit Beteiligung an Geschlechtsdetermination zu identifizieren und genaueren Untersuchungen zuzuführen. Dabei wird die Beteiligung dieser Gene an entweder eierstock- oder hodendeterminierenden Signalwegen vorausgesetzt. Nur Gene, deren Expression sich zu einem spezifischen Zeitpunkt zwischen Eierstock und Hoden deutlich (nicht unbedingt signifikant) unterscheidet, werden – als potenziell an Geschlechtsdetermination beteiligt – genauer untersucht. Vorannahmen und Methoden in einer solchen Expressionsanalyse werden im Folgenden an einem viel zitierten Beispiel dargestellt und einer kritischen Analyse unterzogen.

Als Beispiel einer Expressionsanalyse wird die Arbeit von S. Nef et al. (2005) eingehender betrachtet. Die Arbeit findet sich in der Folge häufig rezipiert, sie nutzte Methoden, die bei heutigen Expressionsanalysen im Rahmen von Fragestellungen zu Geschlechtsdetermination gebräuchlich sind. Methodisch orientierten Nef et al. (2005) auf Mikroarrays, mit der Besonderheit, dass transgene Mäusezelllinien zur Untersuchung kommen. Selbstverständlich variiert die Methodenzusammenstellung von Studie zu Studie, so verzichten bspw. einige Forschende auf Transgenierung, andere bevorzugen Real time PCR<sup>251</sup> oder WISH<sup>252</sup> zur Expressionsanalyse,<sup>253</sup> so dass Kritiken nicht eins zu eins übertragbar sind. Allerdings können die hier gemachten Kritiken an Vorannahmen und einige derjenigen zu den Analysebedingungen vielfach auch auf diese methodisch anders orientierten Studien angewandt werden. An der Studie von Nef et al. (2005) wird exemplarisch dargestellt, wie geschlechtliche Vorannahmen in Forschungen eingehen und dass bisher angewandte Methoden weitreichende Ungenauigkeiten aufweisen, die bei der Vorstellung der Ergebnisse nicht oder unzureichend in Rechnung gestellt werden.

- 
- 251 ‚PCR‘ (‚Polymerase-Kettenreaktion‘) ist eine Vervielfältigungsmethode für Nukleinsäuren (also für DNA und RNA). Bei der ‚Real time PCR‘ werden im Vergleich zu einer herkömmlichen ‚PCR‘ zusätzlich die Mengen vorhandener Nukleinsäure bestimmt (quantifiziert). Die Mengenbestimmungen erfolgen mit Hilfe von Fluoreszenz-Messungen direkt während des PCR-Zyklus, daher ‚real time‘. (Eine hohe spezifische Abstimmung der Analysebedingungen ist notwendig.)
- 252 Mit der WISH (whole mount in situ hybridization) kann direkt im Gewebe (in situ, an Ort und Stelle) die Expression eines Gens bestimmt werden. Damit wird eine räumliche und zeitliche Einordnung der Expression möglich. (Eine hohe spezifische Abstimmung der Analysebedingungen ist notwendig.)
- 253 Ein Beispiel für ein Vorgehen analog zu dem von Nef et al. (2005) und Cederroth et al. (2007) ist das bei Beverdam et al. (2006). Für die Untersuchung von Zellen unabhängig von der Sfl-Expression vgl. u.a.: Small, 2005. Für einen anders gearbeiteten Ansatz und gleichzeitige Anknüpfungspunkte zu methodischer Kritik vgl.: Bouma, 2004. Für weitere teilweise vom Vorgehen von Nef et al. (2005) abweichende Expressionsanalysen und einer Kritik an diesen vgl. Cederroth, 2007 S.5.

Die Arbeitsgruppe um Nef et al. (2005) untersuchte *Zellen der Gonaden transgener Mäuse, die Sfl-Promotor-Aktivität aufwiesen (Sfl<sup>+</sup>)*. Zur Selektion brachten sie die DNA-Sequenz für ein fluoreszierendes Protein in den Einflussbereich des Sfl-Promotors. Wird Sfl – ein Gen, das als bedeutsam bei der Geschlechtsdetermination beschrieben und dort als spezifisch in somatischen Zellen der sich entwickelnden Keimdrüsen exprimiert betrachtet wird – nun exprimiert und Sfl-Protein gebildet, so sind in solchen transgenen Mäusen Sfl<sup>+</sup>-Zellen auf Grund ihrer Fluoreszenz von den übrigen Zellen unterscheidbar und detektierbar. Die Expression von Sfl<sup>+</sup>-Zellen untersuchten Nef et al. (2005) in einem zeitlichen Rahmen von 10,5 bis 13,5dpc, einer Zeitspanne, in der Sfl – insbesondere in somatischen Zellen der Keimdrüsen – exprimiert werde. Nach dem Zeitpunkt 13,5dpc werde die Expression von Sfl in Gonaden von Mäusen mit XX-Chromosomen regelmäßig („normalerweise“) herunterreguliert, so dass durch diesen Zeitpunkt die Untersuchung begrenzt wird, um ein einigermaßen vergleichbares Bild zwischen den Expressionsmustern von Mäusen mit XX-Chromosomen und solchen mit XY-Chromosomen zu erhalten (vgl. zu *Sfl* ausführlich S.259ff).

Nef et al. (2005) nutzten zur *Geschlechtseinordnung der Mäuse*, deren Expressionsmuster sie untersuchen wollten, den gentechnischen Nachweis von zwei Genmarkern (Primern) für Gene, die regelmäßig („normal“) auf dem Y-Chromosom lokalisiert sind (für die Gene: Sry, Zfy), mittels PCR. Sry- und Zfy-positive Proben (Sry<sup>+</sup>/Zfy<sup>+</sup>) wurden so als ‚männliche‘, solche ohne Nachweisbarkeit dieser Gen-Marker (Sry<sup>-</sup>/Zfy<sup>-</sup>) als ‚weibliche‘ deklariert.

Als Zeitpunkte der Feststellung der Expressionsmuster wählten Nef et al. (2005) 10,5dpc, 11,0dpc, 11,5dpc, 12,5dpc und 13,5dpc. Zu diesen Zeitpunkten wurden jeweils drei unabhängige Proben für jede der zwei vergeschlechtlichten Gruppen analysiert (wobei jede dieser Proben Gewebe mehrerer Mäuse-Embryonen enthielt, vgl. unten, S.290f). Da es gerade bei solchen Expressionsanalysen um eine Frage von wenigen Stunden und Tagen innerhalb der Embryonalentwicklung geht, in denen sich weitreichende Veränderungen vollziehen dürften, ist eine *genaue Zuordnung zu den Entwicklungsstadien* notwendig. So stellt ‚days post coitum‘ (dpc), eine Orientierung am Zeitpunkt der Begattung oder der Befruchtung, eine sehr ungenaue Einordnung dar. Dies in Betracht ziehend, orientierten sich Nef et al. (2005) an weiteren gebräuchlichen Bestimmungen der Zeit, die die Embryonalentwicklung bereits durchlaufen hat. Bei jüngeren Embryonen, bis etwa 13dpc, wurden ‚tail somites‘ (ts; ‚Ursegmente‘) distal der Hintergliedmaßen bestimmt. Von etwa 13 bis 14dpc wurde die Morphologie der Vorder- und Hintergliedmaßen betrachtet. Während Nef et al. (2005) Embryonen mit 8ts ± 2ts als Stadium 10,5dpc, mit 14 ± 2ts als 11,0dpc, mit 19 ± 2ts als 11,5dpc und mit

$30 \pm 3$ ts als 12,5dpc betrachteten,<sup>254</sup> weichen im Vergleich die Definitionen der Stadien bei G. J. Bouma et al. (2004), die ebenfalls die Einordnung genauer benannten, davon bereits ab. Bei Bouma et al. (2004) entspricht  $\sim 8$ ts dem Stadium 10,5dpc,  $\sim 18$ ts dem Stadium 11,5dpc und  $\sim 28$ ts dem Stadium 12,5dpc.<sup>255</sup> Auch A. Beverdam et al. (2006) orientierten sich an dieser Einteilung, ohne sie genauer auszuführen.<sup>256</sup> Deutlich wird, dass bereits über unterschiedliche Kriterien zur Bestimmung des Zeitpunktes der Embryonalentwicklung und über die zur Zuordnung genutzten Intervalle Differenzen in den Ergebnissen zwischen den Arbeitsgruppen – und innerhalb einer Arbeitsgruppe zwischen verschiedenen untersuchten Individuen – entstehen. Mit 12ts und 16ts gehörten bei Nef et al. (2005) zwei Embryonen der gleichen zeitlichen Einordnung an, wiesen aber deutliche Entwicklungsunterschiede auf. Gleichzeitig müssen sich auch nicht alle Organe und Gewebe in einem Individuum vollständig synchron entwickeln, so dass beim Vergleich verschiedener Embryonen bspw. bei 12ts ein unterschiedlicher Stand der Entwicklung der Gonaden gegeben sein kann.

Für die sich anschließenden Analysen von Mikroarrays war *ausreichend RNA (mindestens 50ng totalRNA für jede einzelne Probe)* erforderlich, um die zur Nachweisbarkeit erforderliche RNA-Menge aus etwa 50.000 bis 100.000 Zellen (hier: Sfl<sup>+</sup>-Gonaden-Zellen) in einer Probe zu haben. Ein Embryo je untersuchtem Stadium war für eine solche RNA-Menge nicht ausreichend, so dass je nach Stadium der Embryonalentwicklung RNA aus den Sfl<sup>+</sup>-Gonaden-Zellen von unterschiedlich vielen Embryonen gewonnen wurde. So waren für das Stadium 10,5dpc etwa 20 Embryonen nötig, wogegen für 13,5dpc nur noch etwa fünf Embryonen herangezogen werden mussten, um die erforderliche Zellzahl zu erlangen. Die Genitalfurchen der Embryonen wurden entnommen, daraus eine Zellsuspension hergestellt und die Sfl<sup>+</sup>-Zellen mit Hilfe eines FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting; fluoreszenzaktivierte Zellsortierung) zur weiteren Bearbeitung selektiert.

Das Erstellen von ‚Mischproben‘, um ausreichend Zellen zur Bestimmung der Expressionsrate zu erhalten, ebnet individuelle Unterschiede ein. Auch die aus den bisherigen methodischen Entscheidungen (bspw. aus den Intervallen der Bestimmung des Zeitpunktes der Embryonalentwicklung) resultierenden Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen werden ‚unsichtbar‘. Damit wird verhindert, dass im weiteren Verlauf der Untersuchung individuelle Entwicklungsunterschiede festgestellt und ggf. individuell spezifische Expressionsmuster erstellt werden können. Auch individuell vorkommende unterschiedliche Expressionsraten können nicht erfasst werden, stattdessen ist es möglich, dass bspw. eine hohe Expressionsrate in Zellen eines Embryos möglicherweise niedrige

254 Nef, 2005 S.362.

255 Bouma, 2004 S.146.

256 Beverdam, 2006 S.428.

Expressionsraten in anderen Embryonen überdeckt; statt „Effekte biologischer Variabilität“ zu minimieren – wie die Forschenden ihre Vorgehensweise erläutern –,<sup>257</sup> könnte es vielversprechender für Forschungsvorhaben sein, Variabilität und Individualität in den Blickpunkt zu rücken bzw. zumindest nachvollziehbar zu belassen.

Ebenfalls wird es mit dieser von Nef et al. (2005) gewählten Durchführung unmöglich, die Eingruppierung der Individuen in vergeschlechtlichte Gruppen nach den Genmarkern für die Gene *Sry* und *Zfy* zu validieren. Somit ist es erstaunlich, dass selbst trotz der Vielzahl von unterschiedlichen Individuen, deren Gewebe sich in einer einzelnen Probe befand, beim Vergleich der Ergebnisse von drei so erstellten Proben *innerhalb einer Geschlechtergruppe zu einem bestimmten Zeitpunkt der Embryonalentwicklung* teilweise noch erhebliche Varianzen der Expressionsraten einzelner Gene/Genmarker beschrieben werden konnten.<sup>258</sup> Dies ist ein Hinweis auf möglicherweise bedeutsame (geschlechtsunabhängige) individuelle Expressionsunterschiede der untersuchten Individuen oder auf eine divergierende Probenbehandlung.

*Die eigentliche Bestimmung der Expression fand in einem Mikroarray mit Hybridisierung statt.*<sup>259</sup> Mikroarrays werden genutzt, um mRNA-Mengen spezifischer Gene nachzuweisen. In automatisierten Verfahren kann so die Expression einiger Tausend Gene gleichzeitig analysiert werden. Hierzu wird mRNA aufgereinigt und in cRNA oder cDNA umgeschrieben. Diese werden mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert, um über das Spektrum und die Stärke der Fluoreszenz schließlich auf die Menge der mRNA und damit auf die Expressionsrate zu schließen. cRNA oder cDNA werden, i.d.R. automatisiert, auf Glasträger aufgebracht, auf denen bereits bekannte spezifische cDNA-Sequenzen (so genannte Sonden), jeweils spezifisch für Teile der Sequenz eines Gens, aufgebracht sind (diese Glasträger mit Sonden werden als Array bezeichnet und sind oft industriell vorgefertigt erhältlich). Die zu untersuchende cRNA oder cDNA bindet spezifisch an diese Sonden. Nach einer Inkubationszeit wird die nicht-gebundene cRNA bzw. cDNA abgewaschen, so dass Sonden und daran gebundene cRNA

257 Nef, 2005 S.363. Vor allem widerspricht eine solche Aussage eigentlich dem Ansatz der Untersuchung von Nef et al. (2005), die doch gerade Differenzen in den Blick nehmen möchte – allerdings solche, die als ‚geschlechtlich‘ gelten und damit offenbar vorausgesetzt (statt zumindest untersucht) werden.

258 Vgl. Nef, 2005 S.372/373.

259 Zur teilweisen Validierung wurden von Nef et al. (2005) weitere Untersuchungen durchgeführt, die allerdings nur am Rande des aufgeführten Artikels eine Rolle spielen und daher nicht näher betrachtet werden. Für eine kritische Betrachtung der hierzu angewendeten Real time PCR und der WISH vgl.: Bouma, 2004 S.144, 146.

bzw. cDNA zurückbleiben.<sup>260</sup> Über Stärke (und Spektrum) des Fluoreszenzsignals kann anschließend zu jeder Position auf dem Array bestimmt werden, ob und wieviel cRNA bzw. cDNA gebunden wurde. Zur Auswertung und Expressionsbestimmung ist allerdings noch die Normalisierung des erhaltenen Fluoreszenzmusters notwendig, um der unterschiedlichen Qualität der Extraktion von mRNA und den unterschiedlich fortgeschrittenen Abbaueffekten (Degradation) von RNA und DNA in den verschiedenen Proben Rechnung zu tragen. Deutlich wird, dass jede Probe Unterschiede zu anderen Proben aufweisen kann, da schon in der Probenvorbereitung Anreicherung und Reinigung der mRNA in unterschiedlicher Qualität erfolgt sein können und somit pro Probe unterschiedliche Mengen und unterschiedliche Qualität von cRNA bzw. cDNA (ggf. unterschiedlich stark degradiert) zur Verfügung stehen. Mit den softwaregestützten Normalisierungsberechnungen wird lediglich eine Annäherung an mögliche Expressionswerte und -muster erreicht. G. J. Bouma et al. (2004) weisen darauf hin, dass allein durch ‚Pipettierfehler‘ und schlechte ‚RNA und/oder cDNA Qualität‘ „substanzuelle Unterschiede“ zwischen einzelnen Proben innerhalb einer Arbeitsgruppe und zwischen den Ergebnissen verschiedenen Arbeitsgruppen entstehen können.<sup>261</sup>

Nef et al. (2005) untersuchten ihre Proben auf das Vorhandensein von 34.000 Genmarkern (spezifisch jeweils für ein Transkript eines Gens, wobei teilweise mehrere Marker auf ein und dasselbe Gen verwiesen), die als die oben benannten Sonden fungierten.<sup>262</sup> Hiervon wurden 47% in den Sfl<sup>+</sup>-Zellen der Gonaden exprimiert. Bei etwa zehn Prozent (2306) der exprimierten Gen(marker) zeigte sich ein differentes Bild zwischen Sry<sup>-</sup>/Zfy<sup>-</sup> bzw. ‚weiblichen‘ Mäusen und Sry<sup>+</sup>/Zfy<sup>+</sup> bzw. ‚männlichen‘ Mäusen. Eine solche Differenz wurde als gegeben angesehen, wenn die Expressionsrate in einer der zwei Gruppen gegenüber der anderen 1,5-fach erhöht war. Während bei 10,5dpc nur 14 Gen(marker)<sup>263</sup> ein solch differentes Bild zeigten (acht waren bei Sry<sup>+</sup>/Zfy<sup>+</sup>-Mäusen erhöht exprimiert; sechs waren es bei Sry<sup>-</sup>/Zfy<sup>-</sup>-Mäusen), waren es bei 11,0dpc 17 Gen(marker) (elf bei Sry<sup>+</sup>/Zfy<sup>+</sup>-Mäusen; sechs bei Sry<sup>-</sup>/Zfy<sup>-</sup>-Mäusen), bei 11,5dpc 86 Gen(marker) (61 bei Sry<sup>+</sup>/Zfy<sup>+</sup>-Mäusen; 25 bei Sry<sup>-</sup>/Zfy<sup>-</sup>-Mäusen),

260 Vgl. zur Veranschaulichung der Methoden des Mikroarrays und der Hybridisierung eine gelungene online verfügbare Animation: <http://www.bio.davidson.edu/Courses/genomics/chip/chip.html> (letzter Zugriff: 26.03.2009).

261 Bouma, 2004 S.146. Bouma et al. (2004) treffen diese Aussage speziell für die Real time PCR; da aber auch in den hier für Nef et al. (2005) beschriebenen Verfahren zahlreiche Anreicherungs- und Aufreinigungsschritte der RNA stattfinden, lassen sich diese Feststellungen übertragen.

262 Sie verwendeten „Mouse genome 430 2.0 Array“ der Firma Affymetrix (High Wycombe, UK) [Nef, 2005 S.363].

263 Der Begriff ‚Gen‘ ist hier zur Feststellung von Differenz nicht treffend, da in dem ausgeführten Array mehrere der 34000 Genmarker auf ein ‚Gen‘ verweisen konnten. So repräsentieren die bei 10,5dpc 14 als different beschriebenen Genmarker (Nef et al. [2005] nutzten dennoch die Bezeichnung Gen) lediglich sieben Gene.

bei 12,5dpc 1138 Gen(marker) (592 bei  $Sry^+/Zfy^+$ -Mäusen; 546 bei  $Sry^-/Zfy^-$ -Mäusen) und bei 13,5dpc 1948 Gen(marker) (919 bei  $Sry^+/Zfy^+$ -Mäusen; 1029 bei  $Sry^-/Zfy^-$ -Mäusen). (C. R. Cederroth et al. [2007] aus der Arbeitsgruppe S. Nefs stützten sich auf die gleiche Datenbasis und führten daher die gleichen Zahlen an. Bei anderen Untersuchungen zeigen sich hingegen auch bei gleicher oder ähnlicher Methodenwahl Abweichungen zur Anzahl der zu den spezifischen Zeitpunkten exprimierten Gene/Genmarker, so bei Beverdam et al. [2006]. Bei Beverdam et al. [2006] zeigten sich zum Zeitpunkt 11,5dpc 266 Gen[marker] in Gonaden von  $Zfy^+$ -Mäusen und 242 Gen[marker] in Gonaden von  $Zfy^-$ -Mäusen verstärkt exprimiert [Beverdam et al. (2006) nutzten zur Geschlechtseinordnung der Proben den Nachweis des  $Zfy$ -Gens mittels PCR].)

Keines der zu dem frühen Zeitpunkt von 10,5dpc bei Nef et al. (2005) exprimierten Gene gehört dabei zu den oben (vgl. Tab. 1, S.277ff) und damit in der Literatur ausführlich beschriebenen Genen. Alle der in Gonaden von  $Sry^+/Zfy^+/(Sfl^+)$ -Mäusen höher exprimierten Gene waren auf dem Y-Chromosom lokalisiert: Dies waren *Smcy*, *Uty*, *Ddx3y*, *Eif2s3y*.<sup>264</sup> Alle in Gonaden von  $Sry^-/Zfy^-/(Sfl^+)$ -Mäusen erhöht exprimierten Gene waren auf dem X-Chromosom lokalisiert: *Xist*, *Utx*, *Erdr1*. Hingegen wurden 506 auf dem X-Chromosom lokalisierte Gene (oder Genmarker) nicht in unterschiedlichem Maße exprimiert.

Deutlich wird aus solchen Analysen die – im Vergleich zu den bislang in der Literatur beschriebenen in die Geschlechtsdetermination (und -differenzierung) involvierten Genen – große Anzahl der exprimierten Gene, deren Expression untersucht werden muss. Auch ihre Genprodukte sind bzgl. ihrer Struktur, möglicher Modifikationen, Interaktionen mit anderen Proteinen, DNA oder RNA und ihrer möglichen Funktion (ggf. bei der Geschlechtsdetermination) genauer zu betrachten. Ersichtlich wird auch, dass Gene oft nicht in einem On-Off-Modus entweder exprimiert oder nicht exprimiert werden; vielmehr erfolgt die Expression oft in unterschiedlicher Quantität.<sup>266</sup> Auch wenn Gene bei einigen Individuen hinauf- oder herabreguliert werden, so wird auch bei den anderen Individuen eine Expression weiterhin stattfinden, wenn auch nicht in demselben Maße. U.a. bei den Beschreibungen des *DAX1*-Gens wurde dies dargestellt. Für die Anzahl

264 Die hier aufgeführte Anzahl der Gene entspricht nicht den oben erwähnten acht Gen(markern), da mehrere Genmarker auf ein Gen verwiesen. Gleiches gilt für die nachfolgend aufgeführten drei Gene, die nicht mit der Zahl sechs für different exprimierte Gen(marker) übereinstimmt, die oben benannt wurde.

265  $Sfl^+$  ist hier korrekt, zur Erinnerung: Nef et al. (2005) untersuchten nur solche Zellen der Gonaden transgener Mäuse, die *Sfl*-Promotor-Aktivität aufwiesen ( $Sfl^+$ ).

266 Vgl. beispielhaft: Nef, 2005 S.371-373; vgl. u.a.: Ottolenghi, 2007b S.17/18. Gene können auch gar nicht exprimiert werden. Dies geschieht u.a. dann, wenn sie durch Methylierungen und spezifische Faltungen der DNA unzugänglich für die an der Transkription beteiligten Faktoren sind. Das Inaktivieren von Genen wird als ‚Silencing‘ bzw. ‚Gene-Silencing‘ bezeichnet (vgl. nachfolgend ausführlicher, S.296ff).

funktionaler Genkopien und die Quantität der Expression wurde hier ein Einfluss auf den ausgebildeten Phänotyp beschrieben. Für andere Gene liegen ebenfalls Befunde vor, die einen Einfluss der Quantität der Expression auf die Ausprägung des Phänotyps nahelegen.<sup>267</sup>

Unterschiede in den Expressionsmustern können individuell sein, von äußeren Rahmenbedingungen abhängen (bspw. von maternalen Hormonkonzentrationen) oder vielleicht auch ‚geschlechtlich‘ (allerdings wäre erst noch zu zeigen, ob binär) sein. *Bedeutsam sind gewählte Voraussetzungen und Analysebedingungen.* Einen wichtigen Faktor, der die Untersuchungsergebnisse beeinflusst, wird bei den hier vorgestellten Untersuchungen die *vergeschlechtlichte Vorauswahl* darstellen. Mit der Eingruppierung der Proben nach Markern für ein oder zwei Y-chromosomal lokalisierte Gene (Sry, Zfy) werden diese Gene in der Geschlechtsunterscheidung bereits vor Beginn der Expressionsanalyse zentral gesetzt: Das erwartete Resultat wird damit im Forschungsprozess schon vorausgesetzt. Jede bereits vor der Expressionsanalyse vorgenommene geschlechtliche Einteilung in (zwei) Gruppen (anhand welcher Merkmale auch immer) führt dazu, dass andere Interpretationen der Resultate als binär-geschlechtliche nicht möglich sind.

Ebenfalls eine beeinflussende Vorauswahl stellt die *Orientierung an Sfl-exprimierenden Zellen* dar; diese waren auf Grund der Fluoreszenz herausgefiltert worden. Bereits die Orientierung an der Quantität der Expression von Sfl führt dazu, dass zahlreiche Zellen nicht der Untersuchung zugeführt werden (dies war beabsichtigt, um nicht sämtliche Zelltypen der undifferenzierten und sich differenzierenden Gonaden unspezifisch untersuchen zu müssen)<sup>268</sup>. Damit erhält man – als erwünschten oder unerwünschten – Effekt das Abbild einer ggf. Sfl-Protein-abhängigen Expression weiterer Gene. Der Nachweis der Expression des Sfl-Gens stellt sich auch gerade deshalb als problematisch heraus, da darüber spekuliert wird, dass das Sfl-Gen durch SRY aktiviert werden und ‚hodendeterminierende‘ Wirkungen entfalten könnte (vgl. zu *Sfl ausführlich S.259ff*). Zugleich zeigten sich deutlich divergierende Expressionsmuster von Sfl im Vergleich von Maus und Mensch – während es bei der Maus in verschiedenen Untersuchungen als geschlechtsdifferent exprimiert beschrieben wurde, zeigte sich keine solche Differenz bei Untersuchungen von Menschen. Eine Orientierung an der Sfl-Expression erscheint damit in besonderem Maße als ungeeignet. Einflüsse auf das Expressionsmuster durch das Nutzen transgener Organismen sind ebenfalls nicht auszuschließen.

Auch in einem Gewebe wird nicht in allen Zellen gleichermaßen die Expression eines Gens hinauf- oder herunterreguliert. Vielmehr kann sich durch eine starke Expression in einigen Zellen oder in Zellen eines angrenzenden Gewebes

267 Vgl. beispielhaft: Bouma, 2007 u.a. S.14994.

268 Für die Untersuchung von Zellen unabhängig von der Sfl-Expression vgl.: Small, 2005.

ein *Gradient von höherer zu niedrigerer Konzentration* eines Genproduktes ausbilden und sich darüber eine, ebenfalls zu differenzierende, Wirkung in diesem ganzen Gewebe – bspw. die Aktivierung weiterer Faktoren – oder auch außerhalb des exprimierenden Gewebes entfalten. Eine solche Wirkungsweise und deren Bedeutung wurde beispielhaft für die Ausbildung posteriorer und anteriorer Regionen sowie ventraler und dorsaler Regionen in den ersten Embryonalphasen verschiedener Organismen beschrieben.<sup>269</sup> Möglicherweise spielen gerade ausgebildete Gradienten bei der Geschlechtsdetermination eine wesentliche Rolle. Dies kann mit der Zusammenfassung von Zellen und der Betrachtung eines Durchschnittes nicht berücksichtigt werden – ein Mangel, der durch die WISH nur teilweise ausgeglichen werden kann (auch hier wäre eine intensive Fehleranalyse nötig, die an dieser Stelle nicht vorgenommen werden soll, da die WISH bei Nef et al. [2005] eher randständig zur Anwendung kommt)<sup>270</sup>.

Die bereits angesprochene Orientierung an den Genen *Sry*, *Zfy* (und der Expression des *Sf1*-Gens) begrenzt mögliches Wissen, gibt aber auch Aufschluss über Vorannahmen, die bewusst oder unbewusst in den Untersuchungsprozess einfließen. So bemühen sich die erwähnten Autor/innen zwar, explizit herauszustellen, dass nun auch die ‚weibliche Geschlechtsentwicklung‘ als aktiver Prozess erkannt wurde, ihre Untersuchungen sind indes nicht so angelegt. Sie orientieren sich zur geschlechtlichen Unterscheidung der Versuchsgruppe weiterhin ausschließlich an Markern, die in Tradition auf dem als männlich determinierend betrachteten Y-Chromosom lokalisiert werden und denen wichtige Funktionen bei der Hodendetermination zugeschrieben wurden. Die diesbezüglich positiven Individuen werden der Gruppe der ‚männlichen Mäuse‘ zugeordnet, alle übrigen bleiben in die Gruppe der ‚weiblichen Mäuse‘. Deutlich wird, dass die lange bestehende Favourisierung männlichen Geschlechts fortwirkt. Selbst bei die Eierstockdetermination fokussierenden Untersuchungen, wie derjenigen von Nef et al. (2005), die unter dem Titel *„Gene expression during sex determination reveals a robust female genetic program at the onset of ovarian development.“*<sup>271</sup> veröffentlicht wurde, bleiben Faktoren zentral, die bei ‚männlicher Geschlechtsentwicklung‘ als bedeutsam betrachtet werden.

Nachdem weithin angenommen wird, dass nicht jeweils ein Gen allein die Ausbildung von Eierstock- und Hodengewebe bewirkt, werden Expressionsanalysen – wie die dargestellte – als wirksames Instrument begriffen, um zunächst viele

269 Vgl. für *Drosophila melanogaster* u.a.: Lewin, 1998 S.945-976.

270 Die WISH wird nicht näher analysiert, da sie für die Ergebnisse der Expressionsanalyse von Nef et al. (2005) eine randständige Position einnimmt und lediglich zur Validierung der Ergebnisse der Mikroarrays herangezogen wird. Einige Anregungen für eine Kritik finden sich bei: Bouma et al. (2004).

271 Engl., „Die Gen-Expression während der Geschlechtsdetermination verweist auf ein robustes weibliches genetisches Programm bei der einsetzenden Eierstockentwicklung“.

potenzielle weitere Gene, die an der Ausbildung von Eierstock- *oder* Hodengewebe beteiligt sind, zu identifizieren.<sup>272</sup> Diesen Zweck erfüllen die Untersuchungen mehr oder weniger gut (einige Kritikpunkte auch hieran wurden in den vorausgegangenen Ausführungen dargestellt), mehr leisten sie nicht. Wissentlich oder unwissentlich setzen solche Untersuchungen bereits voraus, dass sich die Expressionsmuster in Eierstock- *oder* Hodengewebe dichotom geschlechtsspezifisch unterscheiden. Erst aus dem Vergleich der Expressionsmuster dieser beiden Gewebe identifizieren sie die Gene, die als in einem der Gewebe spezifisch, also als ‚erhöht‘ im Vergleich zum anderen Gewebe, exprimiert beschrieben werden.<sup>273</sup> Oder aber die Untersuchungen gehen – wie in dem vorangestellten Beispiel geschehen – gar bereits von als geschlechtsspezifisch verschieden exprimiert beschriebenen Genen aus, nutzen diese zur Gewebeselektion und versuchen weitere Gene, die entweder auf Eierstock- *oder* Hodenentwicklung hinwirken könnten, herauszufinden. Damit erfüllen solche Expressionsanalysen die Aufgabe, weitere dichotom geschlechtsspezifisch exprimierte Gene zu identifizieren, sie einer genaueren Analyse zuzuführen und sie ggf. in eine Signalkaskade oder in ein Netzwerk der Eierstock- *oder* Hodenentwicklung einzubinden. Schon gegenüber Genen, die in Eierstock- *und* Hodengewebe *gleichermaßen* exprimiert werden, sind so angelegte Expressionsanalysen ‚blind‘, auch wenden sie sich der eigentlichen Frage nach der Geschlechtsentwicklung und ob diese stets in eine von zwei angenommenen Richtungen verlaufen muss, nicht zu. Trotz Ergebnissen aus der Erforschung von ‚Intersexualität‘, die die Annahme sich vollständig dichotom unterscheidender Eierstock- *oder* Hodenentwicklung in Zweifel ziehen, wurde die Forschungsfrage bisher nicht erweitert. Als geradezu paradox erscheint es, sieht man auf die Auseinandersetzungen um die Bedeutung von Keimdrüsen oder (Erb-)Anlagen in den 1920er Jahren (vgl. *Kapitel II, S.200ff*) zurück, dass derzeit in der Genetik die Entwicklung von Eierstock- *oder* Hodengewebe dermaßen zentral gesetzt wird und dass diese Gewebe als einzig die weitere ‚geschlechtsspezifische Entwicklung‘ bestimmend betrachtet werden.

### **Was ist ein ‚Gen‘? – Ohne Zelle ‚nichts‘. Komplexe zelluläre Prozesse (und umgebende Einflüsse) bestimmen, welche DNA-Sequenzen zu ‚Genen‘ werden und welche ‚Informationen‘ aus einem solchen ‚Gen‘ gezogen werden**

In den vorangegangenen Ausführungen blieben die Begriffe ‚Chromosom‘ und ‚Gen‘ unhinterfragt. Als ‚Chromosomen‘ werden ‚Erbkörperchen‘ bezeichnet, die sich im Zellkern befinden und anfärbbar sind. Die als ‚Erbinformation‘ betrachtete DNA tritt in Chromosomen im Komplex mit Proteinen auf. ‚Gene‘ stellen einzelne Nukleinsäuresequenzen der DNA dar, die in RNA-Sequenzen und

272 Koopman, 2002 u.a. S.240/241.

273 Koopman, 2002 u.a. S.240/241.

schließlich Aminosäure-Sequenzen übertragen werden können.<sup>274</sup> Dabei übersteigt die Zahl der resultierenden Aminosäure-Sequenzen die Zahl der ‚Gene‘ – der DNA-Sequenzen – um ein Vielfaches. In Expert/innenkreisen wird der Begriff ‚Gen‘ allerdings sehr unterschiedlich definiert und verwendet. Mal werden mit ‚Gen‘ nur die erwähnten DNA-Sequenzen bezeichnet, mal werden auch Assoziationen der Eins-zu-eins-Übertragbarkeit in RNA-Sequenzen und in Aminosäure-Sequenzen daran geknüpft; manchmal werden Assoziationen bis hin zum tatsächlichen körperlichen Erscheinungsbild eines Merkmals auf eine DNA-Sequenz rückbezogen und mit dem Begriff ‚Gen‘ bezeichnet.<sup>275</sup>

Die Notwendigkeit, den Begriff ‚Gen‘ genauer zu betrachten, wird nachfolgend noch deutlicher werden. Bis in die 1990er Jahre wurde – und in populären Auffassungen, die durchaus von ‚Expert/innen‘ auch aus ökonomischen und Status-Erwägungen<sup>276</sup> heraus angereizt werden, wird noch immer –<sup>277</sup> von der DNA ein Bild gezeichnet, nach dem in ihr wie in einem Buch alle Informationen zur Ausbildung und Funktion des Organismus ‚aufgeschrieben‘ seien. Gene sollten Abschnitte der DNA darstellen, die bestimmte Informationen beinhalteten. Die „Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese“ aus den 1940er Jahren wurde zwar ab Ende der 1950er Jahre durch die Unterscheidung von „Strukturgenen“ (diese würden Proteine ‚codieren‘, die am Aufbau des Organismus beteiligt seien) und „Regulatorgenen“ (diese würden die Expression einzelner Strukturgene regulieren) abgelöst, und es wurde auch bald angenommen, dass in unterschiedlichen Geweben und Organen differenziell unterschiedliche Gene ‚angeschaltet‘ seien.<sup>278</sup> Allerdings blieb ein Verständnis vorherrschend, bei dem im einfachsten Fall ein Gen für ein phänotypisch sichtbar werdendes Merkmal ‚codieren‘ sollte. In komplizierteren Fällen wurde die hierarchische Aufeinanderfolge mehrerer Gene und ihrer Wirkungen zur Ausbildung von Merkmalen angenommen.<sup>279</sup> (Diese Annahmen wurden bei den Beschreibungen der Geschlechtsdetermination ersichtlich. Zunächst wurde das Gen SRY zentral gesetzt. Nachdem offensichtlich wurde, dass die ‚Entscheidung‘ zwischen Hodenentwicklung und Eierstockentwicklung nicht allein auf dem Gen SRY beruhen könne, wurden weitere Gene erkannt und in hierarchische, weitgehend lineare Signalwege eingebunden [vgl. Kapitel III, S.245ff].)

274 Bei Viren kann auch ein Bereich der RNA als ‚Gen‘ bezeichnet werden, insofern ist die angeführte Definition auf Prokaryonten und Eukaryonten zu beschränken.

275 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.8/9, 66-98; Duden, 2001.

276 Vgl. u.a. Lewontin, 1992 (1991) S.51ff; Lemke, 2006 (2002) S.35/36; auch: Voß, 2008 S.238/239.

277 Vgl. zu den Beiträgen von Expert/innen in der populärwissenschaftlichen Diskussion zur Bedeutung von DNA und Genen: Bock von Wülfinen, 2007; vgl. auch: Lemke, 2006 (2002) S.35/36.

278 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.66-82.

279 Vgl. für Kritiken an solch simplifizierenden Vorstellungen u.a.: Lewontin, 1992 (1991); Lewontin, 2002 (2000); Rollo, 1995 (1994); Keller, 2001 (2000); vgl. kritisch auch: Duden, 2001; Lemke, 2006 (2002).

Dieses einfache Genmodell wurde bereits vielfältig erschüttert. So scheinen nur wenige Prozent – geschätzt vier bis fünf Prozent –<sup>280</sup> der DNA-Sequenz des Menschen tatsächlich zunächst in RNA-Sequenz und ggf. später in Aminosäure-Sequenz übertragen zu werden. Die übrigen 95 % der DNA-Sequenz werden nicht in eine RNA-Sequenz übertragen. Zuweilen wurde diese DNA daher als „Müll-DNA“ bezeichnet, mittlerweile werden ihr aber verschiedene Funktionen, u.a. die Beeinflussung des Maßes der Expression von DNA-Sequenzen, zugeschrieben.<sup>281</sup> Einen nicht geringen Anteil der nicht-„codierenden“ DNA-Sequenz, beim Menschen etwa 35 bis 40 %, machen transposable Elemente aus.<sup>282</sup> Sie zeichnen sich dadurch aus, dass sie ihren Ort im Genom verändern und sich dabei ggf. replizieren können. Dabei können bei der Integration in einen „codierenden“ DNA-Bereich Mutationen (bspw. Veränderungen des „Leserasters“) entstehen, ggf. angrenzende „codierende“ DNA-Bereiche dupliziert werden oder ein „codierender“ DNA-Bereich unter den Einfluss des Promotors<sup>283</sup> des Transposons gelangen. Allerdings wird nur ein geringer Anteil der transposablen Elemente der menschlichen DNA-Sequenz als zum „Springen“ fähig beschrieben, die übrigen seien inaktiviert.<sup>284</sup> *Deutlich wird, dass DNA keinen beständigen, unveränderlichen ‚Text‘ darstellt, den es nur zu ‚lesen‘ gilt, vielmehr ist sie innerhalb des Organismus in Veränderung begriffen. Außerdem wird bereits hier ersichtlich, dass Prozesse notwendig sind, um in der Zelle bzw. im Organismus aus einer DNA-Sequenz erst einmal verwertbare ‚Information‘ für eine RNA-Sequenz zu machen.*

Auch liegt die DNA in eukaryontischen Zellen nicht „frei“ und „offen“ im Zellkern vor und „wartet“ nur auf ihre Expression. *Vielmehr tritt DNA dort als Chromatin auf.* Im Chromatin bilden je etwa 200bp (bp, Abkürzung für Basenpaare) DNA mit Histon-Proteinen einen Komplex – ein so genanntes Nucleosomen. Die Nucleosomen sind in einer helikalen Reihe angeordnet, durch eine weitere „Aufwicklung“ wird ein Packungsverhältnis um den Faktor 1.000 bis 10.000 erreicht, weitere Proteine – Nichthistone – treten hinzu. In dieser gepackten Form sind die meisten DNA-Sequenzen für die Transkription strukturell unzugänglich.<sup>285</sup> Erst wenn und an den Stellen, an denen die Chromatin-Struktur – durch komplexe Mechanismen – umgestaltet (gelockert) wird, ist es überhaupt

280 Vgl. u.a. Bestor, 1998 S.188; Shapiro, 2002 S.119; Allis, 2007 S.44. In den 4 bis 5 % sind sowohl Exons als auch Introns enthalten.

281 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.81-89.

282 Vgl. u.a. Bestor, 1998 S.188-190; Mikkelsen, 2007 S.169. „Transposons“ bezeichnen bewegliche Elemente, s.g. „springende Gene“. Um die Beschreibung beweglicher Elemente in der DNA-Sequenz hat sich B. McClintock verdient gemacht. Mehr als 30 Jahre nach ihren diesbezüglichen Beschreibungen erhielt sie dafür 1983 den Nobelpreis für Medizin.

283 Bereich der DNA-Sequenz zur Transkriptionsregulation.

284 Vgl. u.a. Bestor, 1998 S.188-190; Mikkelsen, 2007; vgl. ausführlich zu Transposons: Lewin, 1998 S.455-480.

285 Die Aussage wird auf „meist“ beschränkt, da Ausnahmen beschrieben wurden; vgl. für einen Überblick: Grewal, 2007.

möglich, dass ein Gen zur Expression gelangt.<sup>286</sup> Auch der *Methylierungsstatus* scheint für die Ermöglichung oder Verhinderung der Transkription von Bedeutung zu sein. Einerseits scheinen Modifikationen, darunter Methylierungen, der Histon-Proteine für die Chromatinorganisation bedeutsam zu sein.<sup>287</sup> Andererseits wird auch der Methylierung von DNA-Sequenzen/Genen Bedeutung für die Transkription beigemessen. So würden methylierte DNA-Sequenzen/Gene in den meisten Fällen nicht zur Expression gelangen; vor der Transkription müsse daher eine Demethylierung erfolgen.<sup>288</sup> Auch für die benannten transposablen Elemente wird der Einfluss der Methylierung als bedeutsam dafür beschrieben, dass die meisten nicht aktiv, also nicht beweglich seien.<sup>289</sup> Wenn Methylierungen der DNA erfolgen, so erfolgen sie an der Basenfolge 5'-CG-3' (5'-Cytosin-Guanin-3'). Dies ist hier insofern relevant, als für methyliertes Cytosin dieser Bereiche eine erhöhte Mutationsrate beschrieben wird. Sie seien so genannte ‚Mutation hotspots‘. Es fänden hier Basen-Substitutionen (von Cytosin zu Thymin) besonders häufig statt.<sup>290</sup> Insofern könnte der Methylierung, neben einem Einfluss auf die Ermöglichung der Transkription von DNA-Sequenzen/Genen, auch eine Bedeutung dabei zukommen, DNA-Sequenz zu verändern.

Wird schließlich ein DNA-Bereich/Gen exprimiert, so ist keineswegs etwas über das entstehende Transkript und dessen Funktionalität ausgesagt. Zunächst wirken bei der Übertragung einer DNA-Sequenz in eine mRNA-Sequenz komplexe Mechanismen mit. *So sind verschiedene Molekülkomplexe daran beteiligt, die Transkription zu regulieren (‚Regulation‘), sie zu initiieren (‚Initiation‘), mit ihr fortzufahren (‚Elongation‘) und sie schließlich spezifisch abubrechen (‚Termination‘).*<sup>291</sup> Involviert sind ebenfalls komplexe ‚Reparaturmechanismen‘,

286 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.120-123; Turner, 2001 S.44-100; Gilbert, 2000 S.109/110; Gilbert, 2006 S.101/102; Lewin, 1998 (1997) S.617ff; Lewin, 2008 S.757ff, 796ff; Jablonka, 2005 (1995) S.90-99, 94/95; Allis, 2007 S.29-41. Vgl. zur Betonung von Prozesshaftigkeit bei der Ermöglichung der Expression, bei Transkription und bei Translation und der Beteiligung komplexer Mechanismen an diesen Prozessen auch: Lewontin, 1992 (1991) S.48-51; Lemke, 2006 (2002) S.32-39. Auch K. Rieder (2003 [2000]) betont die Bedeutung von Prozesshaftigkeit und Wechselwirkungen, verbleibt aber bei deren Beschreibungen weitgehend auf der Ebene von DNA und Genen und belässt es bei der Heraushebung der Bedeutung von DNA und Genen [vgl. Rieder, 2003 (2000) S.138-149].

287 Vgl. u.a. Allis, 2007 S.36-39, 42; ausführlich: Kouzarides, 2007; Berger, 2007.

288 Vgl. Laird, 1999; Turner, 2001 S.196-205; Bird, 2002; Lewin, 1998 (1997) S.704-706; Lewin, 2008 S.632-635; Allis, 2007 S.41/42; Li, 2007.

289 Vgl. Bestor, 1998 S.190ff; Bird, 2002 S.10/11.

290 Vgl. u.a. Yang, 1996; Li, 2007 S.352. Für die mögliche Bedeutung der Veränderung der Methylierung bei der Entwicklung und Ausbreitung von Tumoren vgl. u.a.: Esteller, 2005.

291 Vgl. einführend: Lewin, 1998 (1997) S.649-710; Lewin, 2008 S.609-666.

die daran beteiligt sind, eine spezifische (Un-)Genauigkeit der Transkription herzustellen.<sup>292</sup>

Das nun erhaltene *Primärtranskript* (die pre-mRNA, dt. prä-mRNS, auch bezeichnet als hnRNA [heterogenous nuclear RNA]) erfährt in der Folge *Modifikationen*, bevor es der Translation im Cytoplasma zur Verfügung stehen kann. Bei diesen Modifikationen des Primärtranskripts, die alle im Zellkern stattfinden, handelt es sich um die *3'-seitig stattfindende Polyadenylierung*, die *5'-seitig stattfindende Anlagerung einer ‚Cap-Struktur‘* (engl., für ‚Kappe‘) und das *Spleißen*. Bei der Polyadenylierung werden, orientiert an spezifischen Erkennungssequenzen der pre-mRNA, bei Eukaryonten etwa 200 Adenin-Nucleotide ohne Matrize an das 3'-Ende der pre-mRNA-Sequenz angehängt. Es wird vermutet, dass die Poly(A)-Sequenz Einfluss auf die Stabilität der späteren mRNA hat. Manche pre-mRNAs erfahren keine Polyadenylierung.<sup>293</sup> An das 5'-Ende der pre-mRNA wird eine so genannte ‚Cap-Struktur‘ angelagert. Die Nukleotid-Sequenz der ‚Cap-Struktur‘ variiert dabei nach pre-mRNA. Sie wird als notwendig betrachtet, um die pre-mRNA zu stabilisieren, ihren Transport aus dem Zellkern ins Cytoplasma zu gewährleisten und den Ribosomen für die Translation die Anlagerung zu ermöglichen. Mit der Anlagerung der ‚Cap-Struktur‘ sind Methylierungen der pre-mRNA verbunden.<sup>294</sup> Ein weiterer Mechanismus posttranskriptionaler Modifikation bei Eukaryonten, ebenfalls im Zellkern stattfindend, ist das ‚Spleißen‘. Dabei werden einzelne Sequenzbereiche des Primärtranskripts ‚herausgeschnitten‘ und ‚verworfen‘ (Introns). Die verbleibenden Bereiche (Exons) werden miteinander verknüpft – und erst die so prozessierte mRNA bildet das Transkript, das später im Cytoplasma als Matrize für die Übertragung in eine Aminosäure-Sequenz zur Verfügung steht. Durch eine besondere Form des ‚Spleißens‘, das ‚alternative Spleißen‘, können bzgl. der Sequenz aus einem Primärtranskript zahlreiche verschiedene prozessierte mRNA-Transkripte gebildet werden. Beim ‚alternativen Spleißen‘ werden bei einigen pre-mRNAs neben Introns auch Exons des Primärtranskripts ‚verworfen‘, so dass durch Auslassung aus einer pre-mRNA unterschiedliche mRNAs gebildet werden können.<sup>295</sup> U.a. wird ‚alternativem Spleißen‘ eine Bedeutung bei der Geschlechtsentwicklung bei *Drosophila melanogaster* zugeschrieben.<sup>296</sup> Nach Abschluss der Modifikationen

292 Vgl. einführend: Lewin, 1998 (1997) S.409-428; Lewin, 2008 S.499-520; vgl. auch: Keller, 2001 (2000) S.42-49.

293 Vgl. Lewin, 1998 (1997) S.138/139, 736-738; Lewin, 2008 S.139/140, 695-697.

294 Vgl. Lewin, 1998 (1997) S.139-141; Lewin, 2008 S.138/139.

295 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.82-89; Lewin, 1998 (1997) S.141-143, 711-740; Lewin, 2008 S.667-705; Gilbert, 2000 S.130-133; Gilbert, 2006 S.125-130.

296 Vgl. Lewin, 1998 (1997) S.727-729; Lewin, 2008 S.686-688; Gilbert, 2000 S.133; Gilbert, 2006 S.129. Hiervon ausgehend hypothesisieren Lalli et al. (2003), dass Spleißen auch bei Säugetieren bei der Geschlechtsentwicklung Bedeutung haben könnte, in dem Sinne, dass bspw. SRY-Protein als Spleiß-Faktor wirken könnte [Lalli, 2003]. Die Bedeutung von Spleißen auch für Faktoren, denen Einfluss auf

ist ein *Transport der pre-mRNA ins Cytoplasma* notwendig, wobei die Translokation in komplexen Mechanismen über ‚Erkennungssequenzen‘ der mRNA vermittelt wird – ohne Translokation kann keine Translation erfolgen. Allerdings muss sich nicht notwendigerweise nach Transkription und Modifikationen eine Translation anschließen. Oft wird die resultierende ‚reife‘ mRNA rasch (innerhalb weniger Minuten) abgebaut, teilweise ohne dass auch nur eine einzige Translation erfolgt ist.<sup>297</sup> Gewebespezifisch kann mRNA aber auch viele Stunden überdauern.<sup>298</sup>

*Bei der Translation sind ebenfalls zahlreiche Molekülkomplexe in die Regulation, Initiation, Elongation und Termination involviert.* Und auch die Translation kennzeichnet keinesfalls den Endpunkt der Übertragung einer DNA-Sequenz über eine mRNA-Sequenz in eine Aminosäure-Sequenz. Stattdessen setzen auch *nach der Translation (posttranslational) verschiedene Modifikations-Mechanismen an*, mit denen aus einer Aminosäure-Sequenz mehrere Peptide oder Proteine unterschiedlicher Faltungen und unterschiedlicher chemischer funktioneller Gruppen gebildet werden.<sup>299</sup> *So können Teile des Peptids/Proteins abgespalten werden (ein weithin bekanntes Beispiel ist das Insulin), einzelne Aminosäuren können an- oder zwischengelagert werden, es können weitere strukturelle Änderungen bspw. durch die Bildung von Disulfidbrücken erfolgen, und es können funktionelle Gruppen angelagert werden (bspw. können Lipide oder Kohlenhydrate angelagert werden, oder es können Methylierungen, Phosphorylierungen, Acetylierungen, Ubiquitinierungen,<sup>300</sup> SUMOylierungen<sup>301</sup> etc. erfolgen).* Beeinflusst werden durch diese Modifikationen die sterische Formung sowie chemische und physikalische Eigenschaften des nach der Translation erhaltenen Produkts.

Deutlich wurde, dass aus einem ‚Gen‘ – wie es oben im Sinne einer DNA-Sequenz definiert wurde – zahlreiche verschiedene Produkte (Proteine) mit unterschiedlichen Eigenschaften (u.a. unterschiedlichen Bindungseigenschaften zu Proteinen, zu RNA, zu DNA; mit unterschiedlicher Aktivität, Reaktivität und Stabilität; und mit verschiedener Lokalisation in der Zelle) gebildet werden können. Bedeutsam sind hierbei komplexe Mechanismen, an denen vielfältige Komponenten beteiligt sind, u.a. auf den Ebenen der Umgestaltung der Chromatin-Struktur, der Transkription, der Translation sowie posttranskriptionaler und posttranslationaler Modifikationen. Der Begriff ‚Gen‘ kann folglich zwar einen bestimmten DNA-Bereich benennen, sagt allerdings nichts (bzw. nur sehr wenig)

die Geschlechtsentwicklung zugeschrieben wird, wurde beispielhaft bei WT1 deutlich (vgl. S.266ff in diesem Kapitel).

297 Vgl. Lewin, 1998 (1997) S.141-143; Lewin, 2008 S.145/146.

298 Vgl. Gilbert, 2006 S.130; Lewin, 2008 S.137.

299 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.89/90.

300 Ubiquitinierung bezeichnet die Anlagerung des kleinen Proteins Ubiquitin, vgl. anschaulich: Hecker, 2006.

301 SUMOylierung bezeichnet die Anlagerung eines kleinen, Ubiquitin-ähnlichen Proteins, vgl. anschaulich: Hecker, 2006.

über das entstehende Produkt der Transkription (mRNA) und Translation (Protein) und dessen Lokalisation, Aktivität und Reaktivität aus.

Sowohl das ‚Gen‘ als auch die DNA-Sequenz sind somit von einer weitreichenden Bedeutung zu entlasten: Sie ‚codieren‘ keine Proteine. Stattdessen wurde deutlich, dass *Prozesse und Wechselwirkungen* in den Blick genommen werden müssen.<sup>302</sup> Erst diese führen dazu, dass Proteine spezifischer Lokalisation, Aktivität und Reaktivität gebildet werden, und in ihre Bildung sind zahlreiche komplexe Mechanismen involviert. Dabei ist in den dargestellten Prozessabläufen noch nicht einmal der auslösende Faktor – bspw. ein chemischer oder physikalischer Reiz – für solche Prozesse einbezogen. Auch auslösende Faktoren werden komplexe *Prozesse und Wechselwirkungen* in Gang setzen, denen simple Modelle aufeinanderfolgender ‚Gen‘-Wirkungen nicht gerecht werden können.

Die *Epigenetik* könnte als ein solches, sich aktuell rasch entwickelndes, Forschungsfeld gelten, das sich der Interaktion und Komplexität molekularer Komponenten widmet. Die Epigenetik wurde dabei seit den 1940er Jahren<sup>303</sup> beschrieben und zunächst entwicklungsbiologisch gedeutet.

C. H. Waddington fasste unter ‚Epigenetik‘ Forschungsfragen, die sich allen Faktoren des Cytoplasmas widmeten, die mit Genen bei deren Wirkungen interagierten. Gene sind nach Waddington auf das Cytoplasma angewiesen. Allerdings seien sie dennoch die bestimmende Kraft, die Faktoren des Cytoplasmas würden ergänzend im Sinne von „Arbeitsmaschinen“ (engl. „drilling-machines“)<sup>304</sup> wirken, die durch die Gene angetrieben würden.<sup>305</sup>

In aktuellen Publikationen wird der Begriff ‚Epigenetik‘ für zahlreiche Forschungsfragen verwendet, u.a. für die – oben beschriebenen – Einflussfaktoren auf den Ebenen der Umgestaltung der Chromatin-Struktur, der Transkription und der Translation sowie posttranskriptionaler und posttranslationaler Modifikationen. Ergänzt werden Mechanismen, die Veränderungen der DNA-Sequenz regulieren, zulassen (u.a. Rekombination, Transposition) oder verhindern (diese werden als Reparaturmechanismen ausgeführt).<sup>306</sup> Damit ermöglicht ‚Epigenetik‘

302 Vgl. sehr deutlich u.a.: Shapiro, 2002 S.112/113.

303 Auch zuvor waren die Betrachtungen nicht unbedingt auf eine singuläre Wirkung von (Chromosomen und) Genen eingeengt. Das wurde aus den *im zweiten Kapitel* der Arbeit erfolgten Betrachtungen zur „Drehpunkt-Theorie“ R. Goldschmidts deutlich. In der „Drehpunkt-Theorie“ beschrieb Goldschmidt bzgl. des geschlechtlichen Phänotyps eine „lückenlose Reihe von Übergängen“, trotz einer als eindeutig ‚weiblich‘ oder eindeutig ‚männlich‘ angenommenen chromosomalen Konstitution (vgl. *Kapitel II, S.212ff*).

304 Waddington, nach: Speybroeck, 2002b S.65.

305 Vgl. Speybroeck, 2002b S.65, 63ff. Ähnlich führen dies auch E. Jablonka et al. (2002) aus. Sie betonen, dass in Waddingtons Auffassung das Cytoplasma die chemischen Bestandteile darbierte, um die Informationen der Gene spezifisch für jedes Gewebe zur Entwicklung zu bringen [Jablonka, 2002 S.83ff; vgl. auch: Jablonka, 2005 (1995) S.30-37].

306 Vgl. Shapiro, 2002 S.121-124; Jablonka, 2002 S.89; Jablonka, 2005 (1995) S.72ff.

aktuell auch Deutungen im Sinne eines komplexen Netzwerkes vielfältiger molekularer Komponenten.

Allerdings werden innerhalb der ‚Epigenetik‘ bislang oftmals die Debatten ausschließlich eingeeengt auf die, ebenfalls oben beschriebenen, Prozesse der Umgestaltung der Chromatin-Struktur (Histon-Modifikationen), der Methylierung der DNA und wenige weitere Mechanismen, die direkt die Transkription beeinflussen.<sup>307</sup> Die Definition von ‚Epigenetik‘ wird entsprechend beschränkt: DNA und Gene werden zentral gesetzt, es wird lediglich thematisiert, dass und wie Umgestaltungen der Chromatin-Struktur und Änderungen der DNA-Methylierung an der Regulation der Expression von DNA-Bereichen/Genen (deren Aktivierung und Deaktivierung) beteiligt seien.<sup>308</sup> Diese epigenetischen\* Anteile an der Regulation der Expression von DNA-Bereichen/Genen werden überdies erblich eingeordnet – sie erscheinen neben der DNA als zweite Komponente, die an der Vererbung von Merkmalen beteiligt sei,<sup>309</sup> und werden von einigen Forschenden, in Anlehnung an den aus der Genetik stammenden Begriff ‚Genom‘, als ‚Epigenom‘ bezeichnet.<sup>310</sup> So werden bspw. beim ‚Genomic Imprinting‘ mütterliche und väterliche DNAs als mit unterschiedlichen Methylierungsmustern ausgestattet beschrieben. Die spezifischen elterlichen Methylierungen würden auf den Embryo übertragen – vererbt. Als Folge würde es bei dem sich entwickelnden Embryo bei einigen DNA-Bereichen/Genen einen Unterschied machen, ob solche, die auf mütterliche oder solche, die auf väterliche Anteile im Genom der Zygote zurückgingen, exprimiert würden. Für das gleiche Gen werden unterschiedliche Wirkungen beschrieben, je nachdem ob es auf die Mutter oder den Vater zurückgeht.<sup>311</sup> Im Gegensatz zu den Ausführungen zu Be-

307 Dies resümiert: Morange, 2002 S.53, 58/59. Vgl. für Beispiele solcher – weitgehend – eingeschränkter Perspektiven u.a.: Russo, 1996; Novartis Foundation Symposium, 1998; Anway, 2006; Whitelaw, 2006; Feinberg, 2007; Szyf, 2007; Mathers, 2008; Lewin, 2008 S.818-844; Wilson, 2008 S.1515; Szyf, 2008.

308 Vgl. u.a.: Bird, 2007; Feinberg, 2007 S.433; Felsenfeld, 2007 S.16; Allis, 2007 u.a. S.24. Die Begrenzung ist durchaus beabsichtigt, u.a. um die Forschungsrichtung der Epigenetik gegenüber der Entwicklungsbiologie abzugrenzen. Dies wird deutlich bei: Bird, 2007; Feinberg, 2007 S.433; Felsenfeld, 2007 S.16.

309 Vgl. u.a.: Jablonka, 2005 (1995), u.a. S.79-110, 111-132; Wong, 2005; Feinberg, 2007. M. D. Anway et al. (2006) beschreiben, wie Umweltfaktoren Methylierungsstatus verändern könnten. Diese veränderten Methylierungsstatus könnten erblich weitergegeben werden [Anway, 2006; in einem solchen Sinne vgl. auch: Bossdorf, 2008]. Anway et al. (2006) eröffnen die Vision, dass mit einem Verständnis möglicher Erbllichkeit epigenetischer\* Faktoren neue Behandlungsmöglichkeiten für Krankheiten entwickelt werden könnten [Anway, 2006 u.a. S.S46 (dort findet sich auch eine umfassende aktuelle Literaturübersicht)].

310 U.a. bei: Szyf, 2007; Szyf, 2008; Wilson, 2008; Mathers, 2008.

311 Vgl. aus kritischer Perspektive: Mauss, 2001; Mauss, 2004; Mauss, 2008. Vgl. auch: Jablonka, 2005 (1995) S.111-132; Joyce, 1999; Turner, 2001 S.236-247; Reik, 2003a; Lewin, 1998 S.707; Lewin, 2008 S.832-834; Gilbert, 2006 S.117f; Barlow, 2007; Feinberg, 2007; Wilson, 2008 S.1516.

ginn dieses Kapitels (vgl. S.245ff) wonach einzelne oder hierarchisch aufeinanderfolgende Gene bzw. Genprodukte in der Forschung als geschlechtsspezifisch beschrieben wurden, werden mit der Theorie des ‚Genomic Imprinting‘ mehr Gene, spezifisch methyliert, als geschlechtlich different angesehen. Hierzu gibt es aus Perspektive der Geschlechterforschung erste Kritiken.<sup>312</sup>

Bei einer solchen, auf Chromatin-Struktur, DNA-Methylierung und wenige weitere, direkt die Transkription beeinflussende Mechanismen begrenzten Definition von ‚Epigenetik‘ wird nicht die Frage gestellt, wie Zellen eines sich entwickelnden Organismus bzw. der gesamte Organismus mit Differenzierung und Entwicklung auf spezifische umgebende Bedingungen reagieren. Eigentlicher Komplexität interagierender molekularer Komponenten wird weiterhin nicht Rechnung getragen. Die DNA bleibt zentral; ‚Zelle‘, ‚Organismus‘, ‚Umwelt‘ bzw. ‚Umgebung‘ und deren Einflüsse auf die Ausbildung komplexer Strukturen und Funktionen bleiben randständig oder ganz außerhalb des Blickes.

In diesem Sinne gilt es, auf eine weite Definition von Epigenetik hinzuwirken, wobei *komplexe Mechanismen* (u.a. auf den Ebenen der Umgestaltung der Chromatin-Struktur, der Transkription und der Translation sowie posttranskriptionaler und posttranslationaler Modifikationen), *deren Prozesshaftigkeit, Wechselwirkung und Kommunikation* sowie *ihre Einbindung in den Organismus und in die umgebende Umwelt* mit einzubegreifen sind. Explizit heißt dies, sich Ansichten prozesshafter *Entwicklung und Differenzierung* zuzuwenden, anstatt weiterhin auf die weitgehende Präformation eines Organismus in ‚Genom‘ oder ‚Epigenom‘ zu simplifizieren.

Prominent, aber selten expliziert gehen die beschriebenen, die Bedeutung von DNA relativierenden Betrachtungen übrigens in aktuelle Klonierungs-Experimente mit embryonalen Zellen ein. Bei diesen wird darauf fokussiert, dass DNA einer adulten Zelle in eine Eizelle eingebracht werden muss, um einen ‚genetisch identischen‘ Nachkommen oder ‚genetisch identisches‘ Gewebe zur Transplantation zu erzeugen. Dabei wird – und das stützt die hier gemachten Ausführungen – davon ausgegangen, dass das *umgebende Zellplasma* der Eizelle von großer Bedeutung bei der, von den Forschenden erhofften, stattfindenden embryonalen Entwicklung ist. Wird die DNA in eine andere Zelle als die Eizelle eingebracht, sind selbst die minimalen Aussichten einsetzender embryonaler Entwicklung nicht gegeben.<sup>313</sup>

Für die in dieser Arbeit zentrale Frage der Geschlechtsentwicklung ergeben sich diese Folgerungen: Es reicht nicht aus, Chromosomen und Gene als beteiligt an der Geschlechtsentwicklung auszuweisen, sondern es gilt zu betrachten und zu untersuchen, 1) durch welche – auch äußere – Faktoren und Prozesse einzelne

312 Vgl. Mauss, 2001; Mauss, 2004; Mauss, 2008.

313 Für einen Überblick über entsprechende Forschungen vgl.: Niemann, 2008; vgl. auch: Reik, 2003a; Reik, 2003b S.27/28.

Gene in spezifischen Geweben in bestimmtem Maße exprimiert werden; 2) welchen Prozessabläufen die Produkte von Transkription und Translation unterliegen und 3) welche Bedeutungen anderen molekularen Komponenten als Genen zukommen. Außerdem ist 4) die Abkehr von der Voraussetzung binärer Geschlechtlichkeit in Forschungsfragen und Methoden nötig. Bei der Erstellung eines Experiments ist zu beachten, dass ein homozygot nicht-funktionales Gen keine – oder nicht die erwartete – Auswirkung auf den Phänotyp haben muss, da in *komplexen Netzwerken* andere Faktoren die entstandene Lücke ‚ausgleichen können‘.<sup>314</sup> Besser und weitgehender formuliert heißt dies: Hunderte oder Tausende molekulare Komponenten zeigen sich in die Ausbildung komplexer Strukturen und Funktionen involviert, meist sind sie dabei nicht spezifisch zu diesen, sondern wirken auch an der Ausbildung anderer, ebenso komplexer Strukturen und Funktionen mit.<sup>315</sup> Insofern erwächst ihre jeweilige Funktion erst aus der Interaktion mit anderen molekularen Komponenten, und es ist wegen der Involvierung zahlreicher molekularer Komponenten und deren Interaktion davon auszugehen, dass sich von Individuum zu Individuum ein individuell unterschiedliches Bild der Qualität und Quantität dieser jeweils wirkenden molekularen Komponenten ergibt. Schließlich sind 5) in einer Zelle ablaufende Prozesse mit der Interaktion zu anderen Zellen des Organismus – und entsprechenden eingehenden und ausgehenden Informationen (Reizen) – in Verbindung zu setzen.

Erst durch die Betrachtung von *Interaktion und Komplexität*, von *Netzwerken* und von *Kommunikation* ist es möglich, *vorübergehend überzeugende* Erklärungen auch für Vorgänge wie Geschlechtsentwicklung zu erhalten.

### **‚Umgebende Einflüsse‘ beeinflussen komplexe molekulare Komponenten**

‚Umwelt‘, ‚Umgebung‘, ‚umgebende Einflüsse‘ wurden bislang nur mitbenannt aber nicht weiter spezifiziert. Sie sollen hier nicht unbetrachtet vorausgesetzt bleiben.

Die offensichtlichen Einflüsse der Ernährung, der Wirkung von chemischen Substanzen (bspw. ‚Giften‘), von physikalischen Einwirkungen (bspw. ‚Druck‘, ‚Laut-‘ oder ‚Lichtreizen‘), der ganzen Lebensweise auf den Organismus sind bekannt. Diese Einflüsse wirken an der Ausformung und Entwicklung des Organismus mit und rufen Reaktionen auch auf molekularer Ebene hervor. A. Fausto-Sterling hat dies bspw. für geschlechtsspezifische Sozialisation und Trainings ausgeführt. Diese hätten Auswirkungen auf die Ausbildung von Muskel- und Fettgewebe und würden sich in der körperlichen Konstitution und der Leistungsfähigkeit des Organismus spiegeln.<sup>316</sup> Neurowissenschaftler/innen haben die Be-

314 Vgl. Keller, 2001 (2000) S.143-148, 143-169; Keller, 2002.

315 Morange, 2002 S.57/58.

316 Fausto-Sterling, 1988 (1985) S.300-312.

deutung der Sozialisation für die Ausbildung der Hirnstruktur expliziert. Es zeige sich auch an der Gehirnstruktur, ob etwa im frühen Kindesalter oder erst später eine Zweitsprache gelernt werde, oder ob ein Kind bereits früh lerne, zwei Hände synchron beim Musizieren zu verwenden.<sup>317</sup>

Auch in der Embryonalentwicklung spielen umgebende Einflüsse eine Rolle. Ersichtlich wird dies beispielhaft an der Einnistung der Eizelle sowie an vielfältigen Interaktionen zwischen Embryo und Mutter, die sich nicht auf die Ernährung beschränken lassen. Für die Geschlechtsentwicklung wurden Interaktionen zwischen Embryo und maternalen Einflüssen bereits zu Beginn dieses Kapitels angedeutet. So erfolge die als geschlechtlich bedeutsam angenommene Testosteron-Produktion zunächst angeregt durch das maternale Hormon Choriongonadotropin (hCG) (vgl. S.243f). Solche Interaktionen gehören zu den Bedingungen, die die Embryonalentwicklung erst ermöglichen, und sie sind auch für die Geschlechtsentwicklung bedeutsam.

Die epigenetischen\* Betrachtungen haben gezeigt, dass auch auf der Ebene miteinander wechselwirkender molekularer Komponenten – DNA eingeschlossen – umgebende Einflüsse eine Rolle spielen (vgl. *den vorangegangenen Punkt*, S.296ff). Deutlich werden solche Einflüsse an Untersuchungen eineiiger Zwillinge. Bei diesen konnten keine vollständigen phänotypischen Übereinstimmungen beschrieben werden. Auch auf epigenetischer\* Ebene – selbst dann, wenn mit verengtem Blick DNA-Methylierungsmuster und Histon-Modifikationen fokussiert wurden – wird ersichtlich, dass sich bspw. die Methylierungsmuster der DNA und Acetylierungsmuster der Histon-Proteine mit zunehmendem Alter bei solchen Zwillingen mehr und mehr unterscheiden.<sup>318</sup> Für Ratten wurde beschrieben, dass sich der Methylierungsstatus von DNA-Sequenzen auf Grund von Verhaltensweisen verändere. Bezüglich des Glucorticoid-Rezeptor-Promotors in Bereichen des Hippocampus zeigte sich bei in den ersten Lebenstagen intensiv geleckten und gesäuberten Jungtieren eine Abnahme der DNA-Methylierung und

317 Vgl. bspw. Schmitz, 2006b; Schmitz, 2006c. Interessant ist auch, dass es Hinweise darauf gibt, dass Musik schon vor der Geburt vom Embryo wahrgenommen werden kann, er diese wiedererkennen kann und sie möglicherweise zu Entspannung führt [vgl. einführend: Spitzer, 2009 (2002) S.152-156].

318 Fraga, 2005; vgl. Whitelaw, 2006 S.R134; Bird, 2007 S.396/397; Zoghbi, 2007 S.449/450; mit einigen kritischen Nachfragen vgl.: Petronis, 2006 S.347/348. Bei einigen Forschenden erscheint Epigenetik – eingeschränkt auf DNA-Methylierung und Histon-Modifikationen – voraussetzungslos als eine ‚dritte Komponente‘ neben Genen und Umwelt/Umgebung. Epigenetische\* Faktoren erscheinen als Teil molekularer Kontrolle über den Phänotyp und werden weder als in komplexe Prozesse eingebunden betrachtet, noch werden sie mit umgebenden Einflüssen in Verbindung gesetzt. So argumentieren bspw.: Singh, 2002; Wong, 2005. Andere Forschende betrachten Epigenetik – eingeschränkt auf DNA-Methylierung und Histon-Modifikationen – ebenfalls abgetrennt, beschreiben sie aber explizit und ausführlich als von Umwelt/Umgebung beeinflusst. So bspw.: Wilson, 2008; Szyf, 2008.

eine Zunahme der Histon-Acetylierung.<sup>319</sup> Auch die Reaktion auf Stress wird als abhängig von dem Pflegeverhalten beschrieben, das ein Ratten-Junges in den ersten Lebenstagen erfährt. Hier zeigte sich der Methylierungsstatus des untersuchten Glucorticoid-Rezeptor-Promotors im Hippocampus noch verändert, wenn die Jungtiere älter wurden;<sup>320</sup> die unterschiedliche Expression von zahlreichen Genen (die Zahl von 900 Genen wird genannt) in Bereichen des Hippocampus wurde auf unterschiedliches Pflegeverhalten zurückgeführt.<sup>321</sup> Neben einem solchen Einfluss beschreiben I. C. G. Weaver et al. (2004, 2005) Änderungen des Methylierungsstatus als flexibel, auch im späteren Alter dynamisch erfolgend.<sup>322</sup>

Bislang lässt sich die Wirkung umgebender Einflüsse auf die Embryonalentwicklung, auch auf die Geschlechtsentwicklung, nur erraten, da nur wenig Forschung auf solche Interaktionen verwandt wurde und wird. Sicher ist jedoch, dass umgebenden Bedingungen ein weit größerer Einfluss auf molekulare Komponenten – DNA eingeschlossen – zukommt, als bislang in der Genetik thematisiert wird.<sup>323</sup> Die wenigen epigenetischen\* Erkenntnisse geben hierfür einen ersten Eindruck, und dies obwohl sich derzeit auch epigenetische\* Forschung meist auf eine enge Definition der Epigenetik – auf DNA-Methylierungsstatus und Histon-Modifikation – beschränkt und Prozesshaftigkeit, Wechselwirkungen und Kommunikationen nur wenig Betrachtung finden.

#### **4. Dritte Zwischenbilanz: Geschlechtsdetermination als Resultat von Prozessen, Interaktionen, Kommunikationen zahlreicher molekularer Komponenten in der Zelle, im Organismus und mit der ‚Umwelt‘**

In diesen aktuellen Betrachtungen wurde dargestellt, wie *dichotome geschlechtliche Determination in Untersuchungen vorausgesetzt wurde und weiterhin wird*. In den Ausführungen zu einzelnen Genen und bei der genauen Betrachtung der Expressionsanalyse von Nef et al. (2005) wurde ersichtlich, wie stets in eine hoden- und eine eierstockdeterminierende Entwicklung unterschieden wurde. Erkenntnisse aus Untersuchungen ‚uneindeutigen Geschlechts‘ (von Intersexualität) wurden – in dieser und in entsprechenden Analysen anderer Forscher/innen – nicht in Rechnung gestellt. Deutlich wurde – wegen der Überschneidungen von Genen und deren Produkten in den Entwicklungswegen –, dass sich die beschriebenen Gene nicht untergliedern lassen in solche, die in der indifferenten Gonade,

319 Francis, 1999; Weaver, 2004; Weaver, 2005; vgl. Weaver, 2007; Bird, 2007 S.397; Zoghbi, 2007 S.450/451; Szyf, 2007 S.15; Szyf, 2008 S.51ff.

320 Francis, 1999; Weaver, 2004; Weaver, 2005; vgl. Weaver, 2007; Szyf, 2007 S.15.

321 Weaver, 2006; vgl. Szyf, 2007 S.15.

322 Weaver, 2004; Weaver, 2005; vgl. Weaver, 2007; Szyf, 2007 S.15/16.

323 In diesem Sinne auch: Whitelaw, 2006 S.R134/R135; Zoghbi, 2007 S.449/450.

solche, die bei der Hodendetermination und solche, die bei der Eierstockdetermination exprimiert werden. Vielmehr haben die Genprodukte der aufgeführten Gene vielfältige Wirkungen, häufig sowohl bei der Hoden- als auch bei der Eierstockentwicklung. Und selbst darauf sind sie in vielen Fällen nicht zu reduzieren, da sie oft in zahlreichen Geweben und Organen des sich differenzierenden Organismus exprimiert werden.

Anhand der Darstellung der Suche nach dem ‚hodendeterminierenden Faktor‘, der schließlich zu Beginn der 1990er Jahre auf das Gen SRY beschränkt wurde, ist augenscheinlich geworden, dass *eine ‚männliche‘ Entwicklung das zentrale Interesse bei der Erforschung der Geschlechtsentwicklung* fand. ‚Weibliche‘ Entwicklung wurde über Jahrzehnte, in denen bereits aktive chromosomale und genetische Mechanismen für die ‚männliche‘ Geschlechtsentwicklung herausgestellt wurden, als passiv ablaufend beschrieben, ohne die Notwendigkeit der Involvierung aktivierender Faktoren. Erst in den 1990er Jahren fand hier ein Umdenken statt. Nun wird auch für die ‚weibliche‘ Geschlechtsentwicklung weithin die Notwendigkeit aktiver Entwicklungsschritte beschrieben. Über einige diesbezüglich involvierte Gene wird gemutmaßt. Ersichtlich wird hier, wie die schon in den konstituierenden biologisch-medizinischen Wissenschaften des 19. Jh. zu findende Annahme, ‚männliche‘ Entwicklung stelle eine superiore Fortentwicklung aus einer basalen ‚weiblichen‘ Entwicklung dar, Forschung in der Weise behindert hat, dass es lange Zeit als undenkbar oder unwahrscheinlich erschien, auch zu ‚weiblicher‘ Geschlechtsentwicklung aktive Entwicklungsschritte als notwendig anzunehmen. Wie aus der näheren Betrachtung der Expressionsanalyse von Nef et al. (2005) ersichtlich wurde, werden nach wie vor Faktoren, die als bedeutsam für einen ‚männlichen‘ Entwicklungsweg angenommen werden, in Untersuchungen zentral gesetzt, solche für einen ‚weiblichen‘ Entwicklungsweg hingegen vernachlässigt.

*Das Gen SRY, das seit den beginnenden 1990er Jahren als ‚Master‘ postuliert wurde, der den Switch zwischen ‚weiblicher‘ und ‚männlicher‘ Geschlechtsentwicklung darstelle, wurde in nachfolgenden Untersuchungen von einer solch erhabenen Position entlastet.* Weitere Gene und deren Produkte wurden als bedeutsam in der Geschlechtsentwicklung postuliert, diese wurden downstream, aber auch upstream von SRY verortet. Es bildete sich die Vorstellung von in einem Netzwerk wirkenden Faktoren heraus. Erst durch die Vielzahl wirkender Faktoren werde eine typisch ‚weibliche‘ oder typisch ‚männliche‘ Geschlechtsentwicklung erreicht. Mittlerweile werden Betrachtungen dominant, die nicht mehr nur von interagierenden Genen und Genprodukten in solchen Netzwerken ausgehen, sondern weitere molekulare Komponenten in den Blick nehmen, die sich insbesondere in den DNA- und Histon-Modifikationen, aber auch auf posttranskriptionaler und posttranslationaler Ebene darstellen.

*Damit wird es möglich, an der Geschlechtsentwicklung mitwirkende molekulare Komponenten als Resultat komplexer Prozesse und als eingebunden in komplexe Prozesse wahrzunehmen.* Prozesse, Wechselwirkungen, Kommunikationen

verschiedener molekularer Komponenten in der Zelle, im Organismus und mit der ‚Umwelt‘ werden so in Forschungen nachvollziehbar; daraus können sich neue Impulse für Inhalte und Methoden von Forschungen zur Geschlechtsentwicklung ergeben.

*Dabei gilt es aber, nicht alte ‚Fehler‘, im Sinne von durch Vorannahmen geleiteten Beschränkungen der Forschung, zu wiederholen.* So zeichnet sich in den Arbeiten der ‚Epigenetik‘ des beginnenden 21. Jh. ab, dass komplexe molekulare Komponenten und deren Interaktionen und Kommunikationen nicht im Blickfeld bleiben. Stattdessen werden statische Auffassungen der Genetik übertragen, ist gar in Anlehnung an diese von einem ‚Epigenom‘ die Rede. Epigenetische\* Faktoren werden in einer solchen Sicht auf DNA- und Histon-Modifikationen reduziert. Sie seien lediglich dazu notwendig, die ‚Informationen‘ der DNA ‚lesbar‘ zu machen und um, durchaus auch auf umgebende Einflüsse reagierend, eine spezifische Expression von Genen zu gewährleisten. Auch sie, die epigenetischen\* Faktoren, werden als vererbbar gekennzeichnet, und auch auf dieser Ebene wird zunächst begonnen, nach – geschlechterdifferent – unterschiedlichen elterlichen Beiträgen zur Vererbung zu suchen.<sup>324</sup> Dabei wird vernachlässigt, dass erst durch verschiedene komplexe Prozesse ‚Information‘ aus Sequenzen der DNA entsteht. Erst dadurch, dass man diese Prozesse in den Blick rückt, kann verständlich werden, warum und wie Proteine mit verschiedener Lokalisation, Aktivität und Reaktivität aus einer DNA-Sequenz gebildet werden können. Forschungen zu solchen komplexen Prozessen finden statt, allerdings werden sie bislang nicht oder nur unwesentlich in Forschungen zur Geschlechtsentwicklung gewürdigt.

*Nicht in den Blick genommen werden bislang Interpretationen der Geschlechtsentwicklung, die sich von einer dichotomen geschlechtlichen Vorstellung lösen.* In den vorausgegangenen Beschreibungen wurde aufgezeigt, wie zahlreich die molekularen Komponenten, deren Interaktionen und Kommunikationen sind, die als in der Geschlechtsentwicklung bedeutsam betrachtet werden müssen. Komplexe Prozesse, die bspw. in der Meiose als regulär, ‚normal‘ beschrieben werden, wie Rekombinationsereignisse zwischen Chromosomen, werden bzgl. der Geschlechtsentwicklung als störende, pathologische Ereignisse angesehen, und es werden bspw. Translokationen von Bereichen des Y-Chromosoms problematisiert. Als hinderlich erweist sich hierbei auch, dass Intersexualität (oder neu: ‚Disorders of Sex Development‘, Abkürzung: DSD, engl., ‚Störungen der Geschlechtsentwicklung‘) noch immer als pathologische Fehlentwicklung wahrgenommen wird. Warum sollte das Resultat vielfältiger komplexer Mechanismen, mit Interaktionen, Kommunikationen, mit Reaktionen auf umgebende Einflüsse etc. ausschließlich die Ausformung zweier Möglichkei-

324 Vgl. die Betrachtungen zu ‚Genomic Imprinting‘ auf S.303f in diesem Kapitel; vgl. auch Beschreibungen sich geschlechtsspezifisch unterscheidender Methylierungsmuster als Reaktion auf Stress: Mueller, 2008 u.a. S.9064.

ten sein? Eine unverstellte Sicht, die nicht die gesellschaftliche Voraussetzung zweier dichotom zu unterscheidender Geschlechter unhinterfragt in ihre Forschungen übernimmt und die so Offenheit auch für nicht-dichotome geschlechtliche Erklärungen lässt, ist in jedem Fall besser geeignet, vorübergehend überzeugende Darstellungen der Geschlechtsentwicklung zu geben.

*Als problematisch – da unzulässig normalisierend – tritt auch die dominante Sprachgebung in der Genetik hervor.* So ist es nur mit besonderem Aufwand und auch dann nicht in befriedigendem Maße möglich, normalisierende Begriffe zu meiden. ‚Normalität‘ wird stets in einem solchen Sinne vorausgesetzt, dass sie besonders häufige Ereignisse beschreibt. Sie tritt bereits dort hervor, wo bestimmte Gene auf bestimmten Chromosomen verortet werden oder wo seltenere Merkmalskombinationen als Abweichungen klassifiziert werden. ‚Normalität‘ wird auch dort erzeugt, wo bestimmte Quantitäten der Expression eines Gens als ‚zu viel‘ oder ‚zu wenig‘ beschrieben werden. Dies geschieht u.a. mit dem Begriff ‚Überexpression‘. Mit solchen vereinfachenden Begrifflichkeiten werden individuelle Varianzen innerhalb eines bestimmten Rahmens als ‚normal‘ eingeordnet, individuelle Varianzen außerhalb dieses Rahmens als ‚unnormal‘, als Abweichungen beschrieben und ggf. pathologisiert. Ebenfalls wenig Unterscheidungsmöglichkeit belassen die sprachlichen Bezeichnungen für ‚Gene‘ und ‚deren‘ ‚Genprodukte‘. ‚Genprodukte‘ werden mit der gleichen Bezeichnung wie die ‚codierenden‘ ‚Gene‘ belegt, womit eine große Nähe angedeutet wird. Die komplexen Mechanismen der Regulation von Transkription und Translation sowie posttranskriptionaler und posttranslationaler Modifikationen sind schon begrifflich ausgeschlossen. So befördert auch die Sprachgebung Modelle, die simplifizierende Deutungen der Genwirkungen und normalisierende Interpretationen unterstützen.

*Neben der mangelnden Thematisierung von Komplexität erweist es sich als grundsätzlich problematisch, dass andere Säugetiere als mögliche Modellorganismen für den Menschen betrachtet werden.* Dies gilt auch für Untersuchungen der Geschlechtsentwicklung. Einige Diskrepanzen, insbesondere zwischen Maus und Mensch, wurden in den Betrachtungen zu Genen und Genprodukten dargestellt. Augenscheinlich wurde, dass Ergebnisse des einen Organismus nicht einfach auf einen anderen übertragbar sind, auch in Bezug auf unterschiedliche Chromosomen-Konstitutionen von Säugetieren. Bei einigen Säugetieren konnten keine Unterscheidungen für die als ‚weiblich‘ und als ‚männlich‘ bezeichneten Chromosomensätze gefunden werden, bei anderen Säugetieren werden diese Unterscheidungen hingegen als bedeutsam betrachtet. Neben der Komplexität beteiligter Faktoren gilt es, in den Betrachtungen auch deutlichere Abgrenzungen zwischen einzelnen Tierarten vorzunehmen.

Neben einem methodischen Schwenk, der komplexen Komponenten sowie Interaktionen und Kommunikationen zwischen diesen Rechnung trägt, erscheint es so als unausweichlich, auch grundlegende Änderungen bzgl. der Voraussetzungen

von ‚Normalität‘ und ‚Abweichung‘ und der Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Tierarten vorzunehmen. Dies muss sich in den Forschungsfragen, den Methoden, aber auch in der Sprachgebung widerspiegeln.

