

ORDEN POUR LE MÉRITE
FÜR WISSENSCHAFTEN UND KÜNSTE

REDEN UND GEDENKWORTE

SIEBENUNDZWANZIGSTER BAND
1997

LAMBERT SCHNEIDER · GERLINGEN

VORTRAG VON
WALTER J. GEHRING

WALTER J. GEHRING

DIE ENTWICKLUNG UND EVOLUTION DES AUGES:
EIN BLICK IN DIE WERKSTATT DER GENE

Herr Bundespräsident, meine Damen und Herren!

Das Auge ist ein faszinierendes Organ. Es ist einerseits ein Fenster nach außen, durch das wir Lichtsinneseindrücke wahrnehmen können, andererseits ist es auch ein Fenster nach innen, das einen Blick ins »Innere«, in den seelischen Zustand eines Mitmenschen oder eines Tieres erlaubt. Die Natur hat im Verlaufe der Evolution die verschiedensten Augentypen hervorgebracht, die vom Kamera-Auge der Wirbeltiere, bei dem das Licht von der Linse auf eine lichtempfindliche Netzhaut (Retina) fokussiert wird, bis zum komplexen Facetten-Auge der Insekten reichen, das aus zahlreichen Einzelaugen (Ommatidien) besteht, die je mit einer Linse und einer Gruppe von Photorezeptoren ausgestattet sind. Gewisse Muscheln und Krebse haben sogar Spiegel-Augen entwickelt, bei denen das Licht von einem parabolischen Spiegelepithel auf die Retina reflektiert wird. Beim Wirbeltier-Auge bilden die Photorezeptoren eine konkave Schicht von Zellen, während die Retina bei den Insekten konvex ist. Trotz dieser unterschiedlichen Anordnung beim Kamera-Auge der Wirbeltiere und dem Komplex-Auge der Insekten bestimmen ähnliche physikalische und chemische Prinzipien die Bildgebung, und bei allen Metazoen findet man Opsine als

Sehpigmente. Opsine sind Photorezeptor-Proteine, die von einem einzelnen Photon angeregt werden können, eine Konformationsänderung zu durchlaufen, die schließlich in einem Nervenimpuls resultiert. Die Rhodopsine aller vielzelligen Tiere gehören zur gleichen Genfamilie, die sich von der Familie der bakteriellen Rhodopsine wesentlich unterscheiden und auch zu den Opsinen der Pflanzen (Algen) nur geringe Sequenzhomologien aufweisen. Dies deutet auf einen gemeinsamen Ursprung der Metazoen-Augen hin, der im scheinbaren Widerspruch zu ihrer morphologischen Vielfalt steht.

Die Entwicklung des Wirbeltier-Auges

Die Entwicklung des Auges ist schon früh zu einem wichtigen Forschungsobjekt der Entwicklungsbiologie und Evolutionsforschung geworden. Bereits um die Jahrhundertwende hat SPEMANN (1901) die Bildung der Augen beim Amphibien-Embryo untersucht. Das Auge entsteht beim Wirbeltier primär aus der Neuralplatte als Ausstülpung des Gehirns, als sog. Augenbläschen, das sich anschließend zum Augenbecher einstülpt. Aus der inneren Schicht des Augenbechers entsteht die Retina mit den Photorezeptorzellen, während aus der äußeren Schicht das Pigmentepithel hervorgeht, das die Retina nach hinten abschirmt. Linse und Cornea dagegen entstehen aus dem Hautektoderm. Spemann konnte zeigen, daß nach einseitigem Entfernen des Augenbläschens später in der Entwicklung das ganze Auge fehlt, einschließlich der Linse (SPEMANN, 1901). Dieser Befund deutete auf eine induktive Wirkung des Augenbläschens auf die Linse hin. Spemann hat jedoch sofort erkannt, daß dieser Defektversuch auch anders interpretiert werden kann. Das schlüssigere Experiment besteht in der Transplantation der Augenanlage unter die Epidermis in einer anderen Körperregion (ektopische Transplantation) oder umgekehrt, durch Ersatz der Epidermis über dem Augenbecher durch ortsfremde Epidermis. Die ersten ektopischen Transplantationsversuche am Auge wurden von W. H. LEWIS (1904 und 1907) durchgeführt mit dem Erfolg, daß

über dem verpflanzten Augenbecher in zahlreichen Fällen eine Linse entstand. Umgekehrt konnte über den Augenbecher transplantierte Rumpfhaut ebenfalls eine Linse hervorbringen. Diese Experimente lieferten den ersten Nachweis für *embryonale Induktionsvorgänge*. Spemann interpretierte die Induktionsexperimente im Sinne von Wechselwirkungen zwischen embryonalen Geweben; aber die Möglichkeit der Wirkung von Genen auf die Entwicklungsvorgänge wurde kaum in Betracht gezogen (HAMBURGER, 1988). Selbst nachdem Schotté, ein Mitarbeiter von Spemann, in einem klassischen Experiment den Einfluß des Genoms deutlich aufgezeigt hatte, ließ sich Spemann nicht überzeugen. Schotté transplantierte ventrales Hautektoderm von der Frosch-Gastrula in die Mundregion der Molch-Gastrula (xenoplastische Transplantation). Das transplantierte Froschgewebe bildete zwar Mundstrukturen in der Molchlarve, aber entsprechend ihrem Genom lieferten die Froschzellen Mundstrukturen des Frosches (Hornzähnnchen und Saugnäpfe) anstelle der entsprechenden Molchstrukturen (Dentinzähne und Haftfäden). Dieses Experiment weist darauf hin, daß die Differenzierungsleistungen des transplantierten Gewebes durch das Genom bestimmt sind; aber Spemann übersah die Bedeutung der Gene weitgehend (HAMBURGER, 1988).

Die genetische Kontrolle der Augenentwicklung

Wie läßt sich der Einfluß der Gene auf die Augenentwicklung nachweisen? In erster Linie durch Mutationen. Bei der Maus ist eine Mutation *Small eye* (*Sey*) beschrieben worden (HOGAN et al., 1986), die bei heterozygoten Tieren (mit einer defekten und einer normalen Kopie des Gens) zu einer Reduktion der Augen führt, welche sich äußerlich in einer Verkleinerung der Iris auswirkt. Homozygote Embryonen (mit zwei defekten Genen von beiden Eltern) sind augenlos, haben auch keine Nasenöffnungen und weisen Mißbildungen des Gehirns auf, die zum Tod vor der Geburt führen. Ein ähnliches Syndrom, das als *Aniridia* beschrieben wurde (siehe

NELSON et al., 1984), findet sich auch beim Menschen. Heterozygote Träger dieser Erbkrankheit haben reduzierte Augen, wobei die Iris vollständig fehlen kann, während homozygote Foeten keine Augen ausbilden und letal sind. Die entsprechenden Gene wurden zuerst bei der Maus (WALTHER & GRUSS, 1991) und anschließend beim Menschen kloniert (TON et al., 1991). Sie gehören zur Familie der Pax-Gene, die erstmals bei der Taufliege *Drosophila* beschrieben wurden (siehe NOLL, 1993) und durch eine paired-Box charakterisiert sind. Die paired-Domäne in den Pax-Proteinen ist eine DNA-bindende Domäne, was darauf hindeutet, daß die Pax-Proteine eine genregulatorische Funktion besitzen; sie steuern die Aktivität der ihnen untergeordneten Gene. Die Pax-Gene illustrieren deutlich, wie in der Evolution neue Gene entstehen, nicht *de novo*, sondern durch Duplikation und zufällige Rekombination von verschiedenen Gen-Domänen, oder auch Teilen von Domänen. Dieses Phänomen wurde von JACOB (1977) als Basteln (»tinkering«) bezeichnet. Diese Bezeichnung trifft auf die Pax-Genfamilie in besonderem Maße zu, kommen doch außer Genen, die nur eine paired-Box enthalten, alle möglichen Kombinationen von paired-Boxen mit Homeoboxen, Teilen von Homeoboxen und andern Motiven vor (BÖGER & GRUSS, 1995). Das Pax-6 Gen, das sowohl eine paired- als auch eine Homeobox aufweist, entspricht dem Gen *Sey* bei der Maus und *Aniridia* beim Menschen. Die Aminosäuresequenz (die Reihenfolge der Bausteine) ist in beiden Proteinen identisch. Diese erstaunlich hohe evolutionäre Konservierung deutet auf einen starken Selektionsdruck und auf die wichtige funktionelle Bedeutung des Gens hin. Durch *in situ* Hybridisierungs-Experimente, mit denen die Genprodukte, die RNA-Transkripte, nachgewiesen werden können, gelang es Gruss und Mitarbeitern zu zeigen, daß *Sey* bereits in den frühesten Stadien der Augenentwicklung sowohl im Augenbläschen als auch in der darüberliegenden Epidermis (Haut) exprimiert ist. Später lassen sich Transkripte in allen Teilen des Auges, Retina, Pigmentepithel, Iris, Linse und Cornea nachweisen. Pax-6 ist auch im Nasenepithel, in bestimmten Abschnitten des Gehirns und im Rückenmark exprimiert. Die Au-

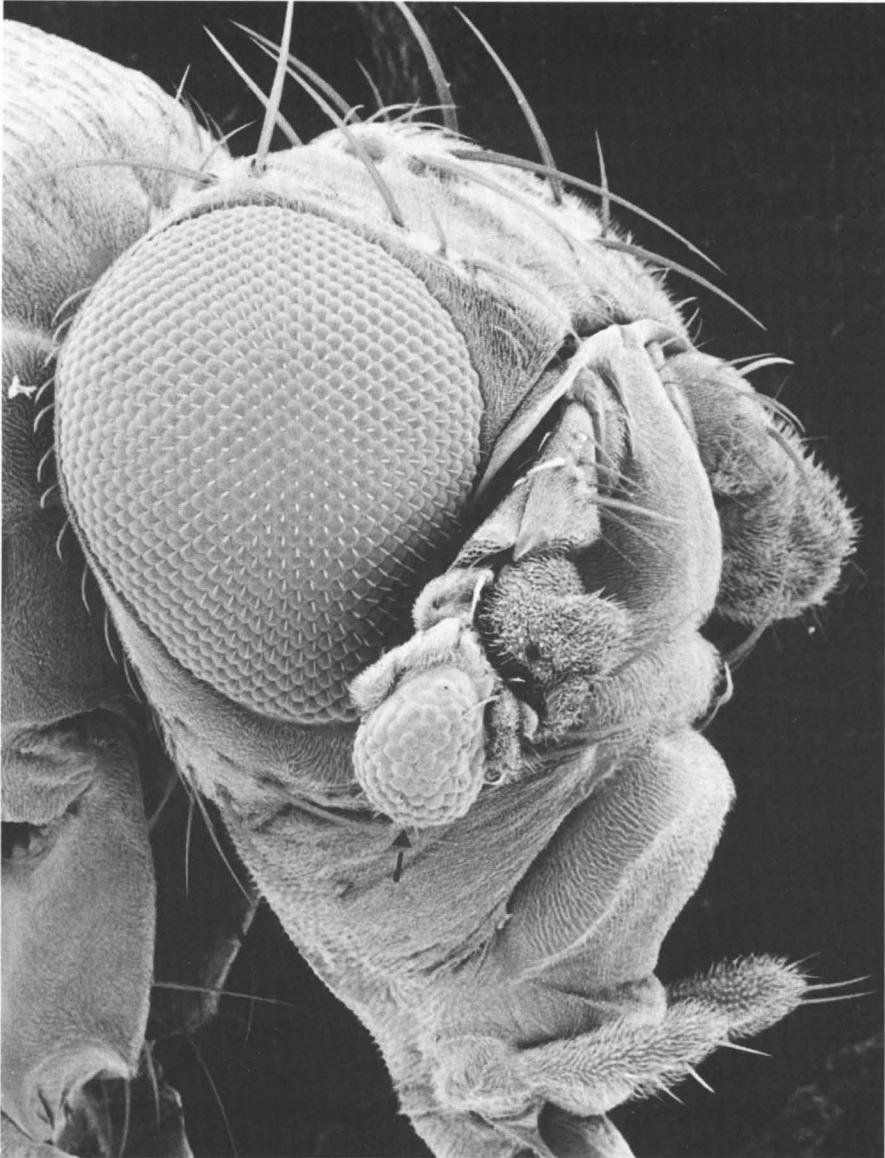
genreduktion bei den heterozygoten Trägern der Mutation deutet jedoch darauf hin, daß Pax-6 vor allem in der Augenentwicklung benötigt wird, wo nur eine Kopie des normalen Gens ungenügend ist, um die normale Entwicklung zu gewährleisten. Ein ähnliches Expressionsmuster wurde auch für *Aniridia* beschrieben.

In einem Kontrollexperiment sind wir zufällig auf das zu Pax-6 homologe Gen von *Drosophila* gestoßen (QUIRING et al., 1994). Die aus der DNA-Sequenz abgeleitete Proteinsequenz zeigt 94% Identität in der Reihenfolge der Aminosäuren-Bausteine in der paired-Domäne, 90% in der Homeodomäne und auch in der dazwischenliegenden und in der endständigen Region des Proteins finden sich viele Übereinstimmungen. Die Tatsache, daß *Drosophila* ein Pax-6 ähnliches Gen aufweist, ist an sich nicht verwunderlich; aber zur allgemeinen Überraschung kartierten wir das Pax-6 ähnliche Gen in der Nähe des *eyeless* (*ey*) Locus auf dem 4. Chromosom. Die Mutation *ey* wurde schon 1915 von HOGE gefunden, und seither sind mehrere weitere Mutationen im gleichen Gen isoliert worden.

Für die Mutationen *ey*² und *ey*^R konnten wir zeigen, daß sie, wie viele spontane Mutationen von *Drosophila*, mit Einschüben von Transposonen (»hüpfenden Genen«) assoziiert sind. Die Insertion der Transposonen in einer bestimmten Region des Gens führt zum Verlust der Genexpression in den embryonalen und larvalen Augenanlagen, während die Expression im Gehirn und im Bauchmark nicht unterdrückt ist. Nullmutanten, die zum vollständigen Verlust der Genfunktion und damit zur Letalität führen, sind von HOCHMANN (1971) isoliert worden, aber leider verloren gegangen. Aufgrund der molekularen Läsionen von *ey*² und *ey*^R im klonierten Gen, der fehlenden Expression im Auge, und von Gentherapie-Experimenten können wir schließen, daß *ey* homolog zur Pax-6, d.h. *Sey* bzw. *Aniridia* ist. Diese Schlußfolgerung ist überraschend, weil bisher angenommen wurde, daß die Augen von Wirbeltieren und Insekten nicht-homolog seien und auf verschiedenen genetischen Programmen beruhen würden. Diese Ausnahme muß auf Grund der Homologie von Pax-6 bei Säugetieren und Insekten in Zweifel gezogen werden.

»Eyeless« als Hauptkontrollgen in der Augenentwicklung

Die Konservierung von Pax-6 in der Evolution und seine Funktion in der Augenentwicklung führten zur Idee, daß es sich bei diesem Gen um das universale Kontroll-Gen für Augenmorphogenese handeln könnte. Die Verlustmutation, die zum Verlust der Augen führt, ist aber wie der Defektversuch von Spemann kein Beweis für eine Schlüsselrolle von Pax-6 in der Augenentwicklung, sind doch eine ganze Reihe von *Drosophila*-Genen bekannt, deren Mutationen auch zum Verlust der Augen führen. Ein dem Transplantationsexperiment von Lewis und Spemann analoges Experiment würde in der ektopischen Expression des normalen ey^+ Gens in andern Körperregionen bestehen. Die gezielte Expression von Genen ist bei *Drosophila* mit Hilfe von regions-spezifischen Verstärkerelementen in der DNA und Transkriptionsaktivatoren (genregulatorischen Proteinen) möglich. Diese erlauben es, ein Gen gezielt in einem gewissen Zeitintervall an einem bestimmten Ort anzuschalten. Die bei der Metamorphose als Bauteile dienenden Imaginalscheiben sind ein geeignetes System für gezielte Genexpressionsstudien, weil sie normalerweise ein ähnliches Genaktivitätsmuster aufweisen und hauptsächlich die äußeren Strukturen des Chitinskelettes und die dazugehörigen Sinnesorgane liefern. So gibt es in der *Drosophila*-Larve ein Paar Augenantennenscheiben, aus denen im Verlaufe der Metamorphose die Augen respektive Antennen entstehen, ein Paar Flügelscheiben, drei Paar Beinscheiben etc. Durch Verwendung eines regions-spezifischen Verstärkerelementes gelang es, einen Transkriptionsaktivator der Hefe in den Antennen-, Flügel- und Beinscheiben anzuschalten, der seinerseits das ey^+ Gen in diesen Imaginalscheiben aktiviert. Die ektopische Expression auf einem frühen Larvenstadium führt zur Induktion von ektopischen Augen auf Antennen, Beinen und Flügeln (Abbildung) (HALDER et al., 1995). Damit ist gezeigt, daß die ektopische Expression eines einzelnen Gens in verschiedenen Imaginalscheiben zur Morphogenese von ektopischen Augen führen kann. Wir bezeichnen deshalb ey^+ (alias Pax-6) als Hauptkontrollgen (»master control gene«) für



Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Fliegenkopfes mit einem durch *eyeless* Expression induzierten, zusätzlichen Auge (Pfeil) auf der Antenne (nach HALDER, CALLAERTS & GEHRING, 1995). Aufnahme von A. Hefti und G. Halder.

die Augenentwicklung. Histologisch erscheinen die ektopischen Augen normal mit 8 Photorezeptoren, Linse, Konus- und Pigmentzellen. Die elektrophysiologische Untersuchung zeigt, daß etwa drei Viertel der getesteten ektopischen Augen auf den Antennen mit einem Elektroretinogramm (ERG) auf einen Lichtimpuls reagieren, das demjenigen von isolierten Photorezeptoren entspricht, die nicht mit dem Gehirn verbunden sind. In einem Viertel aller gut ausgebildeten Antennen-Augen kann jedoch ein vollständig normales ERG gemessen werden, das auf eine Verbindung zum Gehirn schließen läßt (CALLAERTS und GEHRING, unveröffentlicht). Es bleibt noch abzuklären, ob die Projektion der Axonen auf die optischen Zentren des Gehirns normal ist; die Photorezeptoren sind jedoch auf jeden Fall funktionstüchtig.

Neue Perspektiven zum Problem der Evolution der Augen

Darwin hat ein ganzes Kapitel in »The Origin of Species« den Schwierigkeiten mit seiner Evolutionstheorie gewidmet und diskutiert die Evolution der Augen ausführlich unter »Organen von extremer Perfektion und Komplikation«: »Die Annahme, daß das Auge mit all seinen unnachahmlichen Vorrichtungen zur Fokussierung auf verschiedene Entfernungen, für die Aufnahme verschiedener Lichtintensitäten und für die Korrektur der sphärischen und der chromatischen Aberration durch Variation und natürliche Selektion entstanden sein könnte, scheint mir offen gestanden, im höchsten Grade absurd.« Aber dann fährt er fort: »Die Vernunft sagt mir, daß wenn zahlreiche Zwischenstufen vom einfachen, nicht perfekten Auge bis zum komplexen und perfekten Auge existieren, und jede Stufe von Vorteil ist für seinen Besitzer, was sicher der Fall ist; wenn ferner, das Auge jemals variiert und die Variationen vererbt werden, was ebenfalls sicher der Fall ist; und wenn solche Variationen von Vorteil sind für jedes Tier unter den wechselnden Lebensbedingungen, dann sollte die Schwierigkeit zu glauben, daß ein perfektes und komplexes Auge durch Variation und

natürliche Selektion entstanden sein könnte, wenn auch unbegreiflich für unsere Vorstellungskraft, *nicht* als Widerlegung der Evolutionstheorie betrachtet werden.«

Diese Betrachtung schiebt das Problem der Evolution der Augen zurück auf die Frage, wie das erste primitive Auge, der Prototyp entstanden sei. Die Entstehung einer ersten lichtempfindlichen Zelle gehört nach Darwin in die gleiche Kategorie von Fragen wie diejenige nach der Entstehung des Lebens. Die Entstehung des Prototyps muß ein sehr unwahrscheinliches Ereignis gewesen sein, weil die natürliche Selektion erst dann einsetzen kann, wenn die verschiedenen Komponenten, die ein primitives Auge ausmachen, bereits in ein Organ zusammengefügt sind, das mindestens teilweise als Photorezeptor funktioniert. Darwin hat diesen Prototyp folgendermaßen beschrieben: »Das einfachste Organ, das als Auge bezeichnet werden kann, besteht aus einem optischen Nerv, umgeben von Pigmentzellen und überdeckt von transparenter Haut, aber ohne eine Linse oder einen anderen licht-brechenden Körper.« Solche prototypischen Augen sind z. B. bei gewissen Planarien (Plattwürmern) gefunden worden. Aber weil die verschiedenen Augentypen morphologisch verschieden aufgebaut sind und sich embryologisch verschieden entwickeln, haben Neo-Darwinisten wie Ernst Mayr angenommen, daß die Augen in den verschiedenen Tierstämmen mindestens 40mal unabhängig voneinander entstanden seien (SALVINI-PLAWEN & MAYR, 1977). Eine derart häufige Entstehung der Augen, unabhängig aus verschiedenen Prototypen, ist mit Darwins Theorie kaum vereinbar, und ich möchte im folgenden dafür plädieren, daß die verschiedenen Augentypen der Metazoen auf einen gemeinsamen Prototyp zurückgehen.

Mindestens ein essentielles Gen ist den Augen aller Tiere gemeinsam, und das ist das Gen, welches für Rhodopsin, das Photorezeptorpigment, kodiert. Unser Befund, daß Pax-6, das Hauptkontrollgen für die Morphogenese der Augen, von *Drosophila* auch bei Säugetieren und beim Menschen gefunden wird, eröffnet die Möglichkeit, daß Pax-6 das universale Hauptkontrollgen für Augenentwicklung sein könnte. Wir haben diese Hypothese weiter verfolgt,

indem wir das *Small eye* Gen (= Pax-6) der Maus in *Drosophila* mit dem gleichen System exprimiert haben, das oben beschrieben ist. Aus diesem Versuch ergab sich, daß auch das Maus Pax-6 Gen ektopische Augen bei *Drosophila* induzieren kann. Fliegen können also die genetische Information von Mäusen »verstehen« und antworten auf die ektopische Expression von Pax-6 der Maus mit der Bildung von Augen. Natürlich entstehen, wie nach dem Experiment von Schotté zu erwarten war, ektopische *Drosophila*-Augen und nicht etwa Maus-Augen. Pax-6 repräsentiert nur das oberste Kontrollgen in der Hierarchie, und es braucht nach unseren Schätzungen etwa 2500 zusätzliche untergeordnete Gene für die Bildung eines Auges, und diese Gene stammen alle von *Drosophila*. Das Experiment zeigt jedoch deutlich, daß Säugetiere und Insekten das gleiche Hauptkontrollgen für die Induktion der Augen brauchen (HALDER et al., 1995; GEHRING, 1996; CALLAERTS et al., 1997). Das reziproke Experiment der Expression von *Drosophila* Pax-6 in der Maus steht noch aus; aber neueste Resultate zeigen, daß beim Kralenfrosch *Xenopus* Pax-6 in *Xenopus* Embryonen mindestens die Bildung von ektopischen Linsen induzieren kann (ALTMANN et al., 1997).

Ein weiterer Augentyp, derjenige von Tintenfischen, ist in dieser Beziehung von Interesse. Das Auge der Tintenfische ist dem Kamera-Auge der Wirbeltiere außerordentlich ähnlich, aber es entwickelt sich in der Ontogenese verschieden von demjenigen der Wirbeltiere: Während der Augenbecher bei den Wirbeltieren als Ausstülpung des Gehirns entsteht, bildet sich der Augenbecher bei den Tintenfischen als Einstülpung der Epidermis. Dieser Unterschied hat zur Folge, daß die Photorezeptor-Zellen der Wirbeltiere nach innen orientiert sind, während diejenigen der Tintenfische nach außen, dem einfallenden Licht entgegen, gerichtet sind. Dieser unterschiedliche Entwicklungsmodus führte zur Hypothese, daß sich die Augen von Wirbeltieren und Tintenfischen in der Phylogenese, ausgehend von verschiedenen Prototypen, konvergent zu einem sehr ähnlichen Endprodukt entwickelt hätten. Wir haben deshalb die genetische Steuerung der Augenentwicklung beim Kalmar

(*Loligo*) untersucht und ein Pax-6 Gen gefunden, das wiederum sehr ähnlich zu demjenigen der Säugetiere ist (TOMAREV et al., 1997). Das *Loligo* Pax-6 Gen wird ebenfalls in den Augen exprimiert und vermag, wie das Mausgen, ektopische Augen in *Drosophila* zu induzieren. Diese Befunde weisen darauf hin, daß die Augen von Vertebraten, Tintenfischen und Insekten auf einen gemeinsamen Prototyp zurückgehen, der im Falle der Insekten divergent evoluiert ist, während bei Tintenfischen eine konvergente Entwicklung erfolgt ist, die ausgehend von einem gemeinsamen Prototyp auf verschiedenen Wegen zu einem ähnlichen Endprodukt geführt hat.

Da Pax-6 homologe Gene bei den verschiedenen Tierstämmen, d. h. bei Vertebraten, Tunicaten, Echinodermen, Arthropoden, Nematoden, Nemertinen, Plattwürmern und Coelenteraten gefunden wurden, dürfte es sich bei diesem Gen tatsächlich um das universale Hauptkontrollgen für Augenentwicklung handeln. Die Hypothese einer monophyletischen Entstehung des Auges, ausgehend von einem gemeinsamen Prototyp, ist mit Darwins Theorie weit besser vereinbar als die bisherige Theorie einer polyphyletischen Entstehung des Auges. Damit dürfte ein Rätsel der Evolution seiner Lösung näher gekommen sein.

Referenzen

- ALTMAN, C. R., CHOW, R. L., LANG, R. A. and HEMMATI-BRIVANLOU, A., Lens induction by Pax-6 in *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.* 185, 119–123 (1997).
- BÖGER, H. H. and GRUSS, P., Pax im Entwicklungsprogramm der Wirbeltiere. *Biospektrum* 4, 17–24 (1995).
- CALLAERTS, P., HALDER, G. and GEHRING, W. J., Pax-6 in development and evolution. *Ann. Rev. Neuroscience* 20, 483–532 (1997).
- GEHRING, W. J., The master control gene for morphogenesis and evolution of the eye. *Genes to Cells* 1, 11–15 (1996).
- HALDER, G., CALLAERTS, P. and GEHRING, W. J., Induction of ectopic eyes by targeted expression of the *eyeless* gene in *Drosophila*. *Science* 267, 1788–1792 (1995).

- HAMBURGER, V., The Heritage of Experimental Embryology: Hans Spemann and the Organizer (New York, Oxford: Oxford University Press) (1988).
- HOCHMANN, B., Analysis of chromosome 4 in *Drosophila melanogaster*. II: Ethyl methane sulfonate induced lethals. *Genetics* 67, 235–252 (1971).
- HOGAN, B. L. M., HORSBURGH, G., COHEN, J., HETHERINGTON, C. M., FISHER, G. and LYON, M. F., *Small eyes (Sey)*: a homozygous lethal mutation on chromosome 2 which affects the differentiation of both lens and nasal placodes in the mouse. *J. Embryol. exp. Morph.* 97, 95–110 (1986).
- HOGUE, M. A., Another gene in the fourth chromosome of *Drosophila*. *American Naturalist* 49, 47–49 (1915).
- JACOB, F., Evolution and tinkering. *Science* 196, 1161–1166 (1977).
- LEWIS, W. H., Experimental studies on the development of the eye in amphibia. I. On the origin of the lens in *Rana palustris*. *Am. J. Anat.* 3, 505–536 (1904).
- LEWIS, W. H., Experimental studies on the development of the eye in amphibia. III. On the origin and differentiation of the lens. *Am. J. Anat.* 6, 473–509 (1907).
- NELSON, L. B., SPAETH, G. L., NOWINSKI, T. S., MARGO, C. E. and JACKSON, L., Aniridia. A review. *Survey of Ophthalmology* 28, 621–642 (1984).
- NOLL, M., Evolution and role of Pax genes. *Curr. Op. Genet. Devel.* 3, 595–605 (1993).
- QUIRING, R., WALLDORF, U., KLOTTER, U. and GEHRING, W. J., Homology of the *eyeless* gene of *Drosophila* to the *Small eye* gene in mice and Aniridia in Humans. *Science* 265, 785–789 (1994).
- SALVINI-PLAWEN, L. v. and MAYR, E., On the evolution of photoreceptors and eyes. *Evolutionary Biology* 10, 207–263 (1977).
- SPEMANN, H., Über Correlationen in der Entwicklung des Auges. *Verhandl. Anat. Ges.* 15, 61–79 (1901).
- TOMAREV, S. I., CALLAERTS, P., KOS, L., ZINOVIEVA, R., HALDER, G., GEHRING, W. and PIATIKORSKY, J., Squid Pax-6 and eye development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 2421–2426 (1997).
- TON, C. C. T., HIRVONEN, H., MIWA, H., WEIL, M. M., MONAGHAN, P., JORDAN, T., van HEYNINGEN, V., HASTIE, N. D., MEIJERS-HEIJBOER, H., DRECHSLER, M., ROYER-POKARA, B., COLLINS, F., SWAROOP, A., STRONG, L. C. and SAUNDERS, G. F., Positional cloning and characterization of a paired box- and homeobox-containing gene from the aniridia region. *Cell* 67, 1059–1074 (1991).
- WALTHER, C. and GRUSS, P., *Pax-6*, a murine paired box gene, is expressed in the developing CNS. *Development* 113, 1435–1449 (1991).