

DOCTORAL DISSERTATION

Screening and characterization of novel genes involved in the embryogenesis of *Xenopus laevis*

Ying Cao

FB9 (Biology), Universität Essen

Zusammenfassung

Mittels in großem Maßstab (large-scale) durchgeführte Whole Mount *in situ* Hybridisierung konnten 3 Gene aus einer cDNA Bibliothek isoliert werden, die in entoderm-ähnlichem Gewebe (Activin behandelte animalen Kappen) exprimiert wurden. Ein Gen, *XODC2*, kodiert für ein Paralog zum ubiquitären ODC; ein weiteres *XCL-2* kodiert für gewebespezifisches m-type Calpain; und schließlich *XETOR* dessen Produkt ein weiteres Mitglied der ETO/MTG8 Oncoprotein-Familie representiert.

Die räumliche und zeitliche Expression dieser Gene wurde untersucht mittels whole mount *in situ* Hybridisierung und RT-PCR. Funktionelle Analysen konzentrierten sich auf *XCL-2* und *XETOR*.

Überexpressionsexperimente des Wildtypes *XCL-2* deuten darauf hin, dass dieses Gen beteiligt ist an Gastrulationsbewegungen und der sog. konvergenten Extension während der Gastrulation und Neurulation. Überexpression einer dominant negativen Mutante resultierte in einem Phänotyp, der morphologisch ähnlich, aber histologisch unterschiedlich zu dem Typ der Überexpression des Wildtypes *XCL-2* ist. Der anormale Phänotyp der Mutante kann gerettet werden (rescued) durch gleichzeitige Injektion des Wildtypes *XCL-2*. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass *XCL-2* eine wichtige Rolle in der konvergenten Extensionsbewegung während der Embryogenese bei *Xenopus laevis* spielt.

XETOR wird während der Neurulation in Form von 3 bilateral symmetrischen Streifen auf jeder Seite der dorsalen Mittellinie exprimiert, ein Muster ähnlich zu dem der Gene, die beteiligt sind in der primären Neurogenese. Tatsächlich führt die Überexpression von *XETOR* oder einer Reihe von Rumpfmutanten (truncated) zu einer Inhibition der primären Neuronbildung ohne Veränderung der Neuralplatte. Ein solcher Inhibitionseffekt wird nicht durch laterale Inhibition bewirkt, sondern durch eine unabhängige, eigenständige Aktion. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass *XETOR* und laterale Inhibition antagonistisch wirken. Weiterhin ergaben sich Hinweise, daß die Expression von *XETOR* aktiviert oder gefördert wird durch die Überexpression proneuraler Gene wie *Xngnr-1*, *Xash-3* und *XNeuroD*, und daß umgekehrt die Überexpression von *XETOR* die Expression und die Funktion von *Xath3* und *XNeuroD* inhibiert. Die Neuroninduktionsaktivität, aber nicht die Expression, von *Xash-3* wird inhibiert in Abhängigkeit zur *XETOR* Überexpression, während weder die Expression, noch die Funktion von *Xngnr-1* igehemmt wird. Das zeigt, dass eine negative Rückkoppelung (negative feedback loop) etabliert ist zwischen *XETOR* und proneuralen Genen. Die Blockade der *XETOR*-Funktion *in vivo* ergibt einen neurogenen Phänotyp mit vergrößerter neurogener Domäne, ohne Veränderungen der Neurondichte. Trotz gleichzeitiger Ausschaltung von *XETOR* und der lateralen Inhibition kommt es zur primären Neuronformation mit einer erhöhten Dichte in vergrößerten Domänen. Auf der Basis dieser Daten kann angenommen werden, dass *XETOR* während der primären Neurogenese eine wesentliche Rolle bei der primären Neurogenese via Repression der Expression und Funktion proneuraler Gene spielt.