

Berichte aus der Biologie

Dominik Müller

**Analyse der Apoptose-induzierenden Wirkung
des Notch-Antagonisten Hairless in
Drosophila melanogaster (Meigen)**

D 100 (Diss. Universität Hohenheim)

Shaker Verlag
Aachen 2005

Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Zugl.: Hohenheim, Univ., Diss., 2005

Copyright Shaker Verlag 2005

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-4724-6

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen
Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9
Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Zusammenfassung

Während der Entwicklung mehrzelliger Organismen übt der Notch-Signalweg pleiotrope Wirkungen aus. Dazu gehört in *Drosophila melanogaster* der Einfluss auf Wachstums- und Apoptoseprozesse. Die Vielseitigkeit des Notch-Signalweges liegt darin begründet, dass er je nach Entwicklungsstadium und Gewebe unterschiedliche Aufgaben übernimmt. An dieser kontextspezifischen Steuerung wird dem Hairless-Protein eine Funktion zugeschrieben, das als genereller Antagonist des Notch-Signalweges während der Imaginalentwicklung wirkt.

Ein neuer Anhaltspunkt für eine Regulation des Notch-Signalweges wurde durch die spezifische molekulare Interaktion von Hairless mit der Pros26.4 Untereinheit des 26S Proteasomes entdeckt, die sich auch genetisch bestätigen ließ. So führte die Reduktion der *Pros26.4*-Aktivität zu einer Verstärkung des GMR>H Augenphänotyps. Zudem resultierte die induzierte Reduktion von *Pros26.4* mittels RNAi in einer molekularen Stabilisierung des Hairless-Proteins. Andere Notch-Signalwegkomponenten, wie Su(H) und Notch blieben durch diese Verringerung unbeeinflusst. Somit konnte eine neue, noch weitgehend unbekannte Regulierung der Notch-Zielgenaktivierung durch *Pros26.4* über eine Destabilisierung von Hairless nachgewiesen werden.

Weitere Interaktionspartner des Notch-Antagonisten Hairless wurden mittels eines Gewinnmutationsscreens auf Modifikatoren der durch GMR>H vermittelten Apoptose identifiziert. Überraschend war zunächst die Vielzahl der gefundenen Faktoren, die mit dem Notch-Antagonisten Hairless interagierten, worin sich der vielfältige Einfluss des Notch-Signalweges bzw. von Hairless auf unterschiedliche Prozesse widerspiegelt. Zudem konnten neben Faktoren, die generell an apoptotischen Prozessen beteiligt sind (*thread*, *bantam*) auch solche identifiziert werden, die stress- oder entwicklungsbedingt Zelltod auslösen, wie beispielsweise Dmp53, Mitglieder des Jun-Kinase-Signalwegs oder auch hormonell induzierbare Faktoren. Dies führt zu der Vorstellung, dass der Notch-Signalweg und somit Hairless für die korrekte Interpretation und Verschaltung von Signalen in Zellen gebraucht wird und eine Störung des zellulären Gleichgewichts zur Auslösung von Zelltod führen könnte.

Des Weiteren konnten zahlreiche unbekannte Faktoren identifiziert werden, deren Funktion bis heute nicht charakterisiert ist. Einer dieser Modifikatoren, den wir äuglein

getauft haben, wurde einer genaueren molekularen und funktionellen Analyse unterzogen. Neben der Rettung der durch Hairless hervorgerufenen Apoptose wirkte *äng* als genereller anti-apoptotischer Faktor. Zudem offenbarten genetische Analysen eine Interaktion mit weiteren Notch-Signalwegkomponenten. Der Verlust von *äng* spiegelt sich in verkleinerten und nierenförmigen Augen wider. Weitere Analysen verdeutlichten einen spezifischen Einfluss von *äng* auf Notch vermittelte Prozesse während der frühen Augenentwicklung. Aufgrund genetischer und molekularer Wechselwirkungen mit Komponenten der Notch-Prozessierung und der Tatsache, dass *äng* für ein putatives Transmembranprotein kodiert, könnte das Äng-Protein an der Prozessierung des Notchrezeptors, möglicherweise spezifisch während der frühen Augenentwicklung, beteiligt sein.

Summary

Proper development of multicellular organisms requires that cells coordinate their behaviour spatially and temporally. Cell-cell communication regulates cell growth, proliferation, survival, differentiation and morphogenesis. In all these processes, the Notch signaling plays a pivotal role in a wide variety of developmental contexts. The versatility of this pathway is ascribed in this way that the Notch signaling pathway adopts different functions depending on developmental stage and tissue. The context specific control might be mediated by Hairless, which acts as a general repressor of this pathway during development.

A new hint for the regulation of Notch signaling was detected by a molecular interaction between Hairless and Pros26.4, a proteasomal subunit of the 26S proteasome. This molecular interaction was also confirmed genetically. Knock-down of *Pros26.4* activity caused lethality and cell degeneration in accordance with its essential cellular role during development. Moreover a depletion of *Pros26.4* activity leads to an enhancement of the GMR>H eye phenotype accompanied of a specific stabilisation of the *Hairless* gene product. The other proteins of the Notch signaling pathway, like Su(H) and Notch itself, were not affected by the reduction of *Pros26.4* activity. Therefore, the Hairless-Pros26.4 interaction provides a novel means of positive regulation of the Notch signaling pathway.

Other interaction partners of Hairless were identified by a genetic gain of function screen for modifiers of a small rough eye phenotype caused by the overexpression of Hairless. This screen revealed a wealth of known and new potential genetic interactors. During this approach it gets clear, that Notch signaling via Hairless is connected with cell death occurring as response of an abnormal or disturbed balance of signaling within the cell. Therefore we could identify genetic interactions with factors and signaling components like Dmp53, JNK-signaling and hormone-triggered factors, all known to be involved in the coordination of a wide range of biological responses, including growth, differentiation and programmed cell death. Therefore, Notch signaling is needed for the correct interpretation of different signals and thus mediates the crosstalk between different signaling pathways being essential for the correct development of an organism.

Furthermore we could identify a large number of unknown factors, whose functions are not characterized until now. One of these modifiers, called *änglein (äng)*, was further functionally analysed. Overexpression of *äng* diminished Hairless induced apoptosis, and

functions as a general anti-apoptotic factor. In addition, we could detect genetic interaction with other Notch signaling pathway components. Loss of *äng* activity is characterized by small and kidney-shaped eyes. This phenotype is due to impaired cell cycle progression and negative influence on genes known to be important for the initiation of morphogenetic furrow progression. In addition, *äng* seems to be involved in early Notch mediated processes during eye development. Interestingly, a molecular and genetic interaction of *äng* with factors involved in the processing of the Notch receptor was detected. This and the fact that *äng* encodes for a putative transmembrane protein suggests a role for *äng* in the processing and thereby activation of the Notch receptor during early development in *Drosophila melanogaster*.