

6. Zusammenfassung

Das Studium der Nierenentwicklung gibt Einblicke in generelle entwicklungsbiologische Prozesse wie induktive Wechselwirkungen, mesenchymale Kondensation, mesenchymale-epitheliale Umformung, Determinierung von Zellschicksal sowie Differenzierung und damit auch in die Entstehung congenitaler Fehlbildungen. Nach Induktion durch die Ureterknospe entstehen aus dem metanephrogenen Mesenchym die funktionellen Einheiten der Niere - die Nephrone - und das Nierenstroma. Diesen morphogenetischen Prozessen liegen komplexe regulatorische Veränderungen in der Genexpression zugrunde, die bislang nicht im Detail aufgeklärt sind.

Ziel dieser Arbeit war deshalb die Identifizierung bekannter und insbesondere neuer Gene, die durch Induktion im metanephrogenen Mesenchym reguliert werden. Mit Hilfe der ddPCR und Transfilter-Organokulturen wurde die Genexpression von induziertem *versus* nicht-induziertem Mesenchym aus Mäuse-Nierenanlagen untersucht. Einzelne Kandidaten wurden auf differenzielle Expression durch Northern Blot Analyse überprüft und für die weitere Charakterisierung ausgewählt.

Als eines der bekannten Gene wurde sFRP2 als im metanephrogenen Mesenchym induziert bestätigt und durch *in situ* Hybridisierung ganzer Mäuseembryonen und Paraffinschnitte näher untersucht. Es zeigt eine spezifische und dynamische Expression während der Entwicklung der Niere und anderer Gewebe, die mit den Expressionsmustern von sFRP1 und sFRP4 verglichen wurde. Die detaillierte Genexpressionsanalyse der sFRP-Familie in der murinen Embryonalentwicklung sollte als Grundlage für funktionelle Studien dieser erst kürzlich entdeckten neuen Genfamilie dienen.

Erste Untersuchungen der ddPCR-Produkte C0-5, J6-3 und M2-4 zeigten, daß es sich um neue Gene handelt, die unterschiedliche Expressionsmuster in der Niere zeigen. Während C0-5 dynamisch in Epithelzellen von Ureter und Nephronvorläufern exprimiert ist, markiert J6-3 Stromazellen und M2-4 ist bereits im kondensierenden Mesenchym, später aber auch in den epithelialen Derivaten nachweisbar. Die Isolierung und Analyse der dem C0-5-ddPCR-Fragment entsprechenden cDNA zeigte, daß sie für ein kollagenartiges Protein codiert, welches beim Menschen in der Nähe des EWS-Gens auf Chromosom 22q12 liegt.

Darüber hinaus wurde eine neue zu hairy und dem E(spl)-Komplex verwandte Genfamilie identifiziert. Aufgrund ihrer Verwandtschaft und einem charakteristischen YRPW-Tetrapeptid wurden sie als Hey-Gene bezeichnet für: „hairy- und E(spl)-verwandt mit YRPW-Motiv“. Sie zeigen gegenüber hairy/E(spl) oder den entsprechenden Vertebraten-Homologen der Hes-Genfamilie veränderte DNA- und Protein-Bindungsseigenschaften. Darüber hinaus korrelieren ihre Expressionsmuster häufig mit Genen des Delta-Notch-Signaltransduktionswegs, was auf eine Beteiligung der Hey-Gene an Zelldeterminierung und Bildung von Zellgrenzen hinweist. Diese Vermutung konnte durch die Analyse von Dll1-Knockout-Mäusen für die Somitogenese ansatzweise bestätigt werden.

Die Kombination von Transfilter-Organokultur mit ddPCR erwies sich als geeignet, um transkriptionell regulierte Gene des metanephrogenen Mesenchyms zu identifizieren. Expressions- und Sequenzanalyse vor allem der neuen Gene deutet auf ihre Beteiligung an der Entwicklung der Niere und anderer Gewebe hin, die nun im Einzelnen untersucht werden muß. Mehr als 50 weitere Kandidaten für neue Gene bilden eine breite Basis zur weiteren Erforschung molekularer Grundlagen der Nierenentwicklung.