

5. Diskussion

5.1. Charakterisierung der stromaufwärts liegenden Region von *LMO2*

Im Promotor P1 befinden sich zwei potentielle GATA1-Bindestellen und eine überlappende SP1-Bindestelle nahe dem Transkriptionsstart (Royer-Pokora, B. et al., 1995). In dieser Arbeit sind 2960 bp der stromaufwärts liegenden Region sequenziert und detaillierter analysiert worden. Zusätzliche sechs potentielle GATA1-Bindestellen, mit AGATAA-Consensussequenz, eine CCAAT-Box und ein E-Box-Motiv wurden durch Sequenzanalyse lokalisiert (Abb. 10). Eine parallel durchgeführte Kartierung DNaseI hypersensitiver Stellen (DHS) in HEL-Zellen und B-Zellen (Abb. 11) lieferte mindestens fünf verschiedene DHS in HEL-Zellen (DHS1-5) und eine in B-Zellen. Diese DHS2 (-1.7 kb relativ zum Transkriptionsstart) war in lymphoiden und erythroiden Zellen zu finden, und ist als ubiquitär oder nicht-linien-spezifisch eingestuft worden. DHS2 liegt im Bereich einer potentiellen CCAAT-Box, welche als potentielle Bindestelle für NF-Y dient und vermehrt in Promotoren ohne TATA-Box lokalisiert ist, um deren Transkription zu gewährleisten. (Mantovani, R., 1998).

DHS1 ist eine erythroid-spezifische DHS und kartiert unmittelbar am Transkriptionsstart, an dem die bereits publizierten GATA1- und SP1-Bindestellen zu finden sind (Royer-Pokora, B. et al., 1995). Mittels EMSAs wurden spezifische Wechselwirkungen dieses DNA-Fragments mit GATA1 und SP1 nachgewiesen (Drechsler, M., unveröffentlichte Daten; Pruess, M.M. et al., in Vorbereitung). Auch ein 133 bp großes DNA-Fragmente, nahe des Transkriptionsstarts, zeigte einen spezifische Shifts mit HEL-Zell-Proteinen auf gleicher Höhe wie GATA1 (Abb. 14B). Dies weist darauf hin, daß GATA1 der zentrale erythroide Faktor für die Induktion dieser DHS1 ist.

DHS3, DHS4 und DHS5 sind erythroid-spezifisch (Abb. 11) und kartieren in den Bereich von potentiellen GATA1-Bindestellen (Abb. 10). Im Gelshift (Abb. 15) zeigten vier Oligos, mit den aus der Sequenz abgeleiteten GATA1-Bindestellen (Position -2503 kb, -2450 kb, -1971 kb und -1712 bp), eine Affinität zu GATA1. Falls die GATA-Stellen in der Sequenz den DHS entsprechen, dann sind die zwei

GATA-Stellen an den Positionen -2489 kb und -2437 kb im Southern Blot (Abb. 11A) nicht voneinander zu unterscheiden. Eine weitere DHS an der GATA-Stelle -2753 kb ist nicht zu detektieren, da das potentielle Fragment (~ 200 bp) zu klein ist. Die Struktur dieses DNA-Segmentes (2.5 kb vom Transkriptionsstart entfernt) erinnert an ein erythroid-spezifisches Enhancer-Element oder eine Locuskontrollregion, wie sie im Globin-Locus vorkommt (Reddy, P.M.S. and Shen, C.K.J., 1991; Jiménez, G. et al., 1992; Wood, W.G., 1996).

Deshalb müßte geklärt werden, ob es sich bei dieser Region, die etwa 2.5 kb vom Transkriptionsstart entfernt ist, um ein erythroid-spezifisches Enhancer-Element des *LMO2*-Gens handelt.

Eine Aktivierung der Transkription durch Gata1 wurde sowohl für das *Gata1*-Gens selbst (Tsai, S.F. et al., 1991; Vyas, P. et al., 1999), als auch für andere Gene (Nishiyama, V. et al., 1999) gezeigt. GATA1 ist in der Lage die Nucleosomenstruktur im Chromatin zu verändern (Boyes, J. et al., 1998a), was wiederum Voraussetzung für eine mögliche Transkriptionsregulation ist (Tjian, R. and Maniatis, T., 1994; Workman, J.L. and Kingston, R.E., 1998), und die Resultate der DHS-Kartierung, die auf Änderungen in der Chromatinstruktur hindeuten, im Bereich der lokalisierten GATA1-Bindestellen stützen würde.

Der *in vivo* Nachweis für eine Beteiligung von GATA1 an der erythroid-spezifischen Regulation von *LMO2* wurde mittels Reportergen/Luciferase-Assays geliefert (Abb. 21). Das Reportergen-Konstrukt pGL2SK *wildtype*, das die GATA1- und SP1-Stellen unmittelbar am Transkriptionsstart enthält und in dessen Bereich DHS1 kartiert (Abb. 11A), zeigte bereits in erythroiden Hühnerzellen Promotoraktivität (Royer-Pokora, B. et al., 1995). In nicht-erythroiden NIH3T3-Zellen zeigte es keine Aktivität (Abb. 21B), genauso wie das pGL2SK *mutant*-Konstrukt (Abb. 21C), in dem beide GATA1-Bindestellen mutiert sind (Abb. 22). Ansteigende Mengen GATA1-Expressionsvektor und damit ansteigende Mengen GATA1-Protein führten zu einer Aktivierung des Promotors P1 im Wildtyp-Konstrukt (Abb. 21B), während beim Mutanten-Konstrukt keine Aktivierung zu beobachten war (Abb. 21C). Damit ist GATA1 in der Lage den Promotor P1 von *LMO2* *in vivo* zu aktivieren. Ein geringerer Anstieg

in der Promotoraktivität war mit SP1 zu beobachten, sowohl im Wildtyp (Abb. 21B) wie im Mutanten Konstrukt (Abb. 21C), in dem die GATA1-Bindestellen inaktiviert wurde, die SP1-Bindestelle jedoch erhalten blieb. Möglicherweise ist SP1 ein Transkriptionsfaktor, der in Abwesenheit von GATA1 eine geringe basale Transkription von *LMO2* reguliert.

Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Bindestellen für GATA1 und SP1 überlappen und nur ein Faktor binden kann. Eine weitere Aktivitätssteigerung von an DNA-gebundenes SP1 durch eine GATA1 Protein-Protein-Wechselwirkung wie für andere Gene beschrieben (Merika, M. and Orkin, S.H., 1995; Gregory, R.C. et al., 1996), scheint hier nicht stattzufinden (Abb. 21D). Dagegen führte eine Co-Transfektion von pGATA1 und pFOG1 zu einer geringen Abschwächung der Luciferase-Aktivität im Vergleich mit pGATA1 allein (Abb. 21D). Eine Kooperation der beiden Faktoren *in vivo*, wie sie bereits von anderen Forschungsgruppen gezeigt wurde (Tsang, A.P. et al., 1997; Fox, A.H. et al., 1999), kann für die *LMO2*-Regulation aufgrund dieser Daten nicht ausgeschlossen werden. Die Reporteragen-Assays sind bewußt in nicht-erythroiden Zellen durchgeführt worden, um den stimulatorischen Effekt von GATA1 nachzuweisen. Ob neben GATA1 oder FOG1 noch weitere erythroide Faktoren an der erythroid-spezifischen Regulation von *LMO2* beteiligt sind, läßt sich im Moment noch nicht klären.

Reporteragen-Assays sind zwar *in vivo*-Untersuchungen, stellen aber ein artifizielles System dar. Neben den Transkriptionsfaktoren, die ein Gen regulieren können, spielt oftmals auch die Nukleosomenstruktur in der genomischen Region eine Rolle bei der Expressionsregulation (Wu, C., 1997; Bonifer, C. et al., 1997; Kornberg, R.D., 1999). Die Nukleosomenstrukturen der Promotoren im Reporteragen-Konstrukt und in seiner nativen genomischen Umgebung sind möglicherweise unterschiedlich (Wu, C., 1997; Smith, C.L. and Hager, G.L., 1997; Bonifer, C. et al., 1997). In der Beurteilung von Reporteragen-Assays muß das berücksichtigt werden.

Hämatopoetische Gene werden häufig von Transkriptionsfaktor-Komplexen reguliert (Wadman, I. et al., 1997; Grütz, G.G. et al., 1998; Sieweke, M.H. and Graf, T., 1998). Die hier untersuchten Faktoren GATA1 und SP1 interagieren mit

einer Vielzahl anderer Faktoren, die hier nicht analysiert wurden, aber möglicherweise eine Rolle in der Regulation von *LMO2* spielen. Angeführt sei hier die Interaktion von GATA1 mit *LMO2* selbst (Osada, H. et al., 1995; Osada, et al., 1997), FOG1 (Tsang, A.P. et al., 1997; Fox, A.H. et al., 1999), PU.1 (Zhang, P. et al., 1999), NLI (Jurata, L.W. et al., 1996; Visvader, J.E. et al., 1997; Drechsler, M. et al., 1999) oder EKLF (Merika, M. and Orkin, S.H., 1995).

Posttranslationale Modifikationen, welche die Aktivität und Spezifität von GATA1 verändern, wie Phosphorylierung (Partington, G.A. and Patient, R.K., 1999), Acetylierung (Boyes, J. et al., 1998b) oder proteolytische Spaltung (De Maria, R. et al., 1999) konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht analysiert werden. Auch die Aktivität des ubiquitären Faktors SP1 wird durch Modifizierungen wie Phosphorylierung (Alroy, I. et al., 1999) reguliert.

In einem *Decoy-/Sense*-Ansatz mit PTOs konnte nur ein geringer Einfluß von GATA1 auf die *LMO2*-Expression nachgewiesen werden (Abb. 20). Die PTOs haben GATA1 *in vitro* gebunden (Abb. 17) und PTOs lassen sich im Zellkern von HEL-Zellen detektieren (Abb. 19). Bereits geringe Mengen sollten ausreichen, um Faktoren abzufangen (Bielinska, A. et al., 1990). Phänotypisch betrachtet zeigten die Zellen ein abnormales Wachstum (Abb. 18). Mit Wildtyp-PTOs, wo intakte GATA1- und SP1-Stellen lokalisiert sind, wuchsen sie am schlechtesten, während PTOs mit mutierten GATA1-Stellen einen weniger dramatischen Effekt auf das Wachstum der Zellen hatten. Dennoch wuchsen sie schlechter als ohne Zugabe von PTOs, da die Abbauprodukte der PTOs möglicherweise toxisch waren (Chu, B.C.F. and Orgel, L.E., 1992; Bijsterbosch, M.K. et al., 1997; Gilar, M. et al., 1997).

Eine mögliche Erklärung für den mangelnden Effekt von GATA1 auf die *LMO2*-Expression im PTO-Experiment ist, daß der Effekt unter der Detektionsgrenze eines Northern Blots lag. Ausserdem lassen sich die beiden Transkripte *LMO2a* und *LMO2b* auf dem Northern Blot nicht unterscheiden. Als Hybridisierungsprobe wurde cDNA mit Exon 4-6 verwendet und in beiden Transkripten ist Exon 4-6 vorhanden. Gesetzt den Fall durch die PTO-Behandlung käme es zu einer Inhibition der Transkription von *LMO2* über P1, so könnte das

nicht detektiert werden, wenn der putative Promotor P2 gleichzeitig aktiv ist. Um dies klären zu können, müßten die zwei Transkripte mit Exon-spezifischen Primern unterschieden werden. Da jedoch das 5'-Ende des *LMO2b*-Transkripts zur Zeit noch nicht bekannt ist, können diese Experimente noch nicht durchgeführt werden.

Die Ergebnisse der *Sense-/Decoy*-Experimente könnten möglicherweise auch darauf hindeuten, daß mehr Faktoren als nur GATA1 an der Regulation von *LMO2* beteiligt sind, eine Tatsache, die für die Regulation anderer hämatopoetische Gene typisch ist (Orkin, S.H., 1995b; Labbaye, C. et al., 1995; Sieweke, M.H. and Graf, T., 1998; Engel, I. and Murre, C., 1999).

Während in den durchgeführten Reporter-Gen-Assays nur ein oder zwei Faktoren und ihr Einfluß auf die Expression untersucht wurden, so müßten in den erwähnten PTO-Experimenten alle möglichen hämatopoetischen Faktoren berücksichtigt werden.

Durch die Sequenzanalyse allein konnten jedoch keine Bindestellen für andere erythroid-spezifische Transkriptionsfaktoren identifiziert werden.

5.2 Alternative Transkripte, Promotor P2 und Einfluß von *LMO2* auf eine Leukämogenese

Der putative Promotor P2 von *LMO2* und damit ein alternatives Transkript mit alternativen 5'-Ende, das in T-ALL-Proben und normalem adulten Nierengewebe (Royer-Pokora, B. et al., 1995) bzw. in Skelettmuskel und Milz (Neale, G.A.M. et al., 1995a) im Northern Blot beobachtet wurde, konnte nicht identifiziert werden. Mit Hilfe der RACE-Methode, gelang es nicht in HEL-Zellen oder fötaler Leber ein alternatives 5'-Ende zu dem Bekannten zu gewinnen. Neue Transkripte *LMO2c* und *LMO2d* in fötaler Leber lieferten das bereits bekannte 5'-Ende (Exon 1) (Abb. 24)

Zwischen den LMO-Genen (*LMO1*, 2, 3 und 4) untereinander und dem Drosophila-Homolog *dlmo* besteht eine enge Verwandtschaft (Abb. 25), teilweise sind die Aminosäuresequenzen in den entsprechenden Proteinen fast 80 % homolog (Zhu, T.H. et al., 1995; Kenny, D.A. et al., 1998).

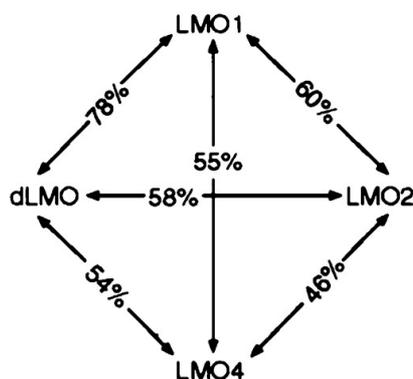


Abb. 25: Verwandtschaftsverhältnisse der LMO-Proteine (aus Kenny, D.A. et al., 1998)

Weiterhin enthalten sowohl *LMO1* und *LMO3* (Feroni, L. et al., 1992), *LMO4* (Kenny, D.A. et al., 1998; Grutz, G. et al., 1998; Tse, E. et al., 1999) und *dlmo* (Zhu, T.H. et al., 1995) alternative 5'-Enden mit alternativen Exon 1. Aufgrund des hohen Verwandtschaftsgrades (Kenny, D.A. et al., 1998) und der Tatsache, daß alternative Transkripte bereits identifiziert worden sind (Royer-Pokora, B. et al., 1995; Neale, G.A.M. et al., 1995a), wird weiter zu untersuchen sein, ob und wo ein alternatives Exon 1b bzw. ein anderes 5'-Ende für *LMO2* lokalisiert ist, und wo sich der zweite putative Promotor P2 befindet.

Für die Lokalisation des P2 führte die Kartierung von potentiellen DHS im genomischen Bereich vom Fragment BamHI-8.7 kb nicht weiter (Abb. 26).

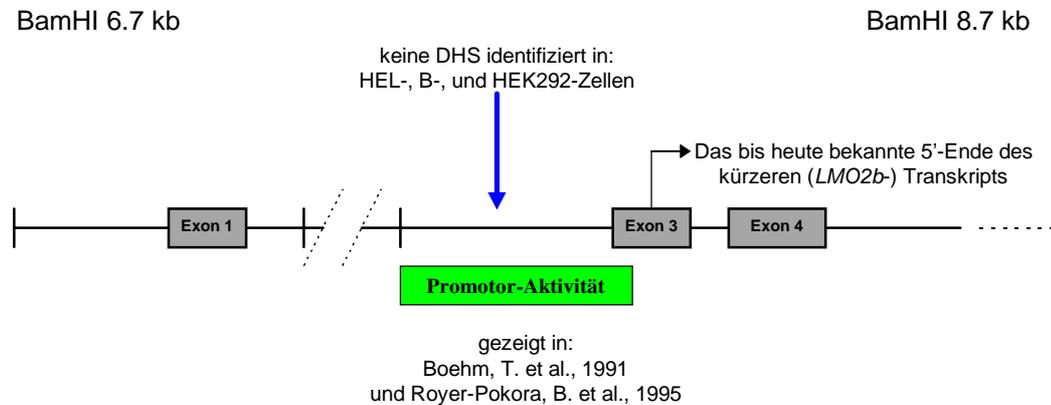


Abb. 26: Lokalisation des putativen Promotors P2. BamHI-6.7- und BamHI-8.7 kb-Fragmente sowie Exon 1, 3 und 4 sind dargestellt. Im Bereich vor Exon 3 ist Promotor-Aktivität (grün markiert) nachgewiesen worden. Eine DHS (blauer Pfeil) konnte in den untersuchten Zelllinien nicht gezeigt werden.

DHS-Kartierung in B-Zellen, HEL-Zellen (Abb. 12) und embryonalen Nierenzellen (HEK293-Zellen) (Abb. 13) lieferte keinen Hinweis darauf, daß vor Exon 3, dem bisher bekannten 5'-Ende des kürzeren Transkripts, eine transkriptionelle Aktivität vorhanden ist (Abb. 26). Untersuchungen in nativem adultem Nierengewebe, in dem das kurze Transkript nachzuweisen ist, sind schwierig durchzuführen. Für die DHS-Kartierungen werden pro Ansatz mindestens $5 - 10 \times 10^7$ Zellen benötigt. Für mehrere Versuche sind etwa $10^8 - 10^9$ Zellen (Verluste nicht eingerechnet) einzusetzen, was mehreren Gramm Nierengewebe entsprechen würde. Da gesundes adultes Nierenmaterial jedoch meist zu Transplantationszwecken eingesetzt wird, erweist sich die Organisation solcher Materialmengen als problematisch.

Eine Hypothese ist, daß P2 ein kryptischer Promotor ist, wie dies z. B. für das *c-myc*-Gen gezeigt werden konnte (Piechczyk, M. et al., 1985). Durch die Translokation wird bei *LMO2* der Promotor P1 von der stromaufwärts liegenden Region abgetrennt (Royer-Pokora, B. et al., 1995) und ein zweiter putativer Promotor P2 könnte aktiviert werden. Promotoraktivität ist im Bereich vor Exon 3 in einem Reporter-Gen-Assay nachgewiesen worden (Boehm, T. et al., 1991; Royer-Pokora, B. et al., 1995). Möglicherweise sind neben den identifizierten erythroid-spezifischen Regulationssequenzen im P1 (Pruess, M.M. et al., in Vorbereitung) noch weitere regulative Elemente in diesem Bereich zu finden. Denkbar wäre ein T-Zell-spezifischer Silencer, der die *LMO2*-Expression in reifen T-Zellen und Thymus unterdrückt, und nach Abtrennung durch die Translokation nicht mehr wirken kann (Abb. 27). In diesem Zusammenhang ist interessant, daß Thymus fast das einzige Gewebe ist, indem keine *LMO2*-Expression nachgewiesen werden konnte (Royer-Pokora, B. et al., 1991).

In T-ALL Proben ist P1 meist von *LMO2* abgetrennt (Royer-Pokora, B. et al., 1995) und *LMO2b* wird exprimiert. *LMO2* ist in reifen T-Zellen nicht nachzuweisen (Boehm, T. et al., 1991; Royer-Pokora, B. et al., 1991). Ob für die Expression in T-ALL Proben das Fehlen eines möglichen Silencers oder die Aktivierung eines kryptischen Promotors verantwortlich ist, bleibt zur Zeit unbeantwortet.

Spezifische Faktoren sind in der Lage das Chromatin so zu verändern, daß bestimmte Faktoren nicht mehr an ihre Zielsequenz in der DNA binden können und eine Transkription reprimiert wird, auch über große Distanzen hinweg (Sun, F.L. and Elgin, S.C.R., 1999; Tyler, J.K. and Kadonaga, J.T.; 1999; Travers, A., 1999).

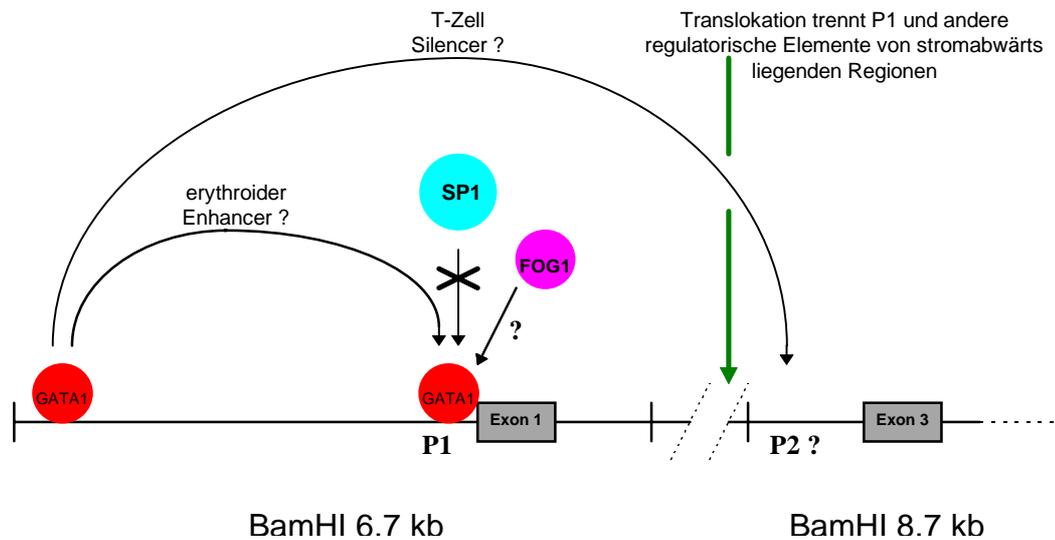


Abb. 27: Modell zur Regulation der *LMO2*-Transkription. BamHI-6.7 kb- und BamHI-8.7 kb-Fragmente und Exon 1 und 3 sind dargestellt. P1 = Promotor P1, P2 = Promotor P2.

Alternative Promotoren, wie in Abb. 26 und 27 als Modell für *LMO2* dargestellt, sind keine ungewöhnlichen Mechanismen zur gewebsspezifischen Genregulation (Ayoubi, T.A.Y. and Van de Ven, W.J.M., 1996). So wird beispielsweise die Transkription von *GATA2* (Minegishi, N. et al., 1998), α -Amylase (Schibler, U. et al., 1983) oder *PAFR* (Rezeptor für Blutplättchen Aktivierungsfaktor) (Mutoh, H. et al., 1996) über alternative Promotoren gesteuert. Offen ist die Frage, warum beispielsweise in der adulten Niere ein alternatives Transkript von *LMO2* exprimiert sein sollte ?

Die bis heute identifizierten alternativen Transkripte *LMO2a* und *LMO2b* (Royer-Pokora, B. et al., 1995) unterscheiden sich in der Länge der 5'UTR, beide codieren für das gleiche Protein. Eine posttranskriptionelle Regulation über die 5'UTR wäre eine Möglichkeit die Menge des Proteins zu kontrollieren, dabei spielen insbesondere Sekundärstrukturen in der mRNA eine Rolle (Sonenberg, N., 1994; Hentze, M.W., 1995).

Die identifizierten Transkripte *LMO2c* und *LMO2d* (Abb. 24) codieren ihrer Sequenz nach für kein Protein. Ob es sich tatsächlich um Transkripte mit einer biologischen Funktion handelt, oder nur Folge von Artefakten sind, ist Bestandteil weiterer Untersuchungen.

LMO2 interagiert mit SCL (Valge-Archer, V.E. et al., 1994; Wadman, I. et al., 1994), das wie LMO2 und GATA1 u. a. die Erythropoese reguliert (Aplan, P.D. et al., 1992; Shivdasani, R.A. et al., 1995). In transgenen Mäusen konnte das onkogene Potential von *LMO2* gezeigt werden, hier entwickelten sich nach *LMO2*-Überexpression u. a. in Thymus und T-Zellen Leukämien und Lymphome (Fisch, P. et al., 1992; Larson, R.C. et al., 1994; Neale, G.A.M. et al., 1995b; Larson, R.C. et al., 1995; Neale, G.A.M. et al., 1997). Co-Expression von *LMO2* und *SCL* in transgenen Mäusen potenziert die Tumorentwicklung (Larson, R.C. et al., 1996). Auch die abnorme Überexpression von *LMO1* (McGuire, E.A. et al., 1992; Fisch, P. et al., 1992) und die Kombination mit *SCL* (Aplan, P.D. et al., 1997) führten in transgenen Mäusen u. a. zur Tumorentwicklung. Da u. a. auch NLI mit LMO1 in T-ALL-Proben interagiert (Valge-Archer, V. et al., 1998), kann man wie für die normale Hämatopoese auch bei der malignen Hämatopoese - der Leukämie, davon ausgehen, daß erst die Interaktion mehrerer Faktoren (Abb. 28), bzw. die abnormale stöchiometrische Zusammensetzung der Protein-Komplexe eine Fehlentwicklung auslöst (Robb, L. and Begley, C.C., 1997; Rabbitts, T.H., 1998; Orkin, S.H. et al., 1999).

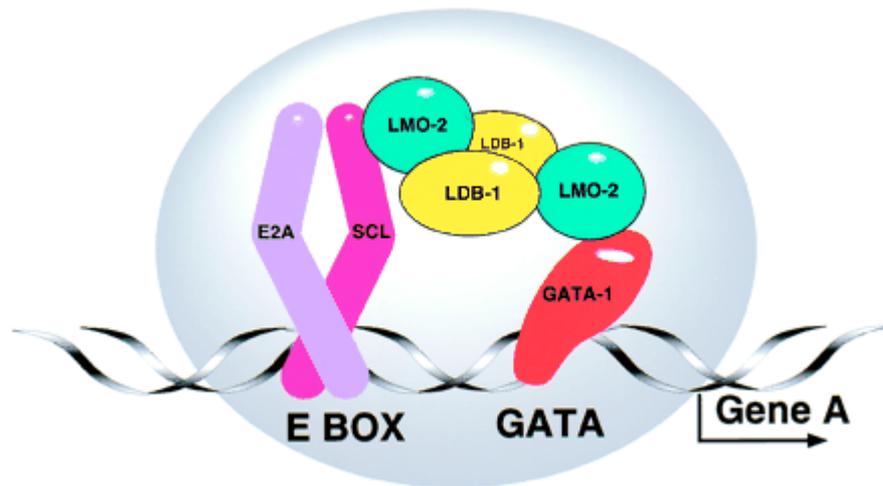


Abb. 28: Multipler Transkriptionsfaktorkomplex mit Beteiligung von LMO2. Aus: Begley, C.G. and Green, A.R., 1999 (Cover der Zeitschrift Blood vom 1. Mai 1999)

Gewebsspezifische posttranslationale Modifikationen für LMO2, die sowohl in der normalen Hämatopoese wie auch der Leukämogenese eine Rolle spielen könnten, sind gegenwärtig nicht bekannt.

5.3. Weitere Studien und Ausblick

Die Beteiligung von *LMO2* an der fötalen und adulten Hämatopoese (Yamada, Y. et al., 1998; Rabbitts, T.H. et al., 1999) und Erythropoese im Besonderen (Warren, A.J. et al., 1994), sowie sein Einfluß bei der Leukämogenese (Fisch, P. et al., 1992; Larson, R.C. et al., 1994; Larson, R.C. et al., 1995; Larson, R.C. et al., 1996; Rabbitts, T.H., 1998; Orkin, S.H. et al., 1999) werden gegenwärtig als seine normale bzw. dysregulierte Funktion angenommen. Um so interessanter ist die Vorstellung, daß *LMO2* möglicherweise an der Regulation anderer entwicklungsbiologischer Prozesse beteiligt sein könnte.

Frühere Studien (Boehm, T. et al., 1991; Royer-Pokora, B. et al., 1991; Foroni, L., et al., 1992) wiesen auf die nahezu ubiquitäre Expression von *LMO2* hin. Neben der Beteiligung an der Hämatopoese wird von *Lmo2* auch eine Funktion im adulten Zentralnervensystem der Säugetiere vermutet (Hinks, G.L., et al., 1997). Neueste Studien (Yamada, Y. et al., 2000) weisen auf eine Beteiligung von *LMO2* an Angiogenese-spezifischen Transkriptionskomplexen hin.

Weiterhin besitzt *LMO2* in seiner 3'UTR mehrere AREs (AU-reiche Elemente) auf (Royer-Pokora, B. et al., 1991; Zhu, T.H. et al., 1995), die hauptsächlich in mRNA-Spezies mit kurzer Halbwertszeit zu finden sind (Caput, D. et al., 1986; Shaw, G. and Kamen, R., 1986; Chen, C.Y.A. and Shyu, A.B., 1995; Ross, J., 1996), deren Stabilität beeinflussen und von spezifischen Proteinen (Malter, J.S., 1989) gebunden werden.

Im *Drosophila*-Homolog *dlmo* ließen sich solche AREs ebenfalls lokalisieren (Zhu, T.H. et al., 1995). Die Mutation *Beadex*, eine abnorme Flügelentwicklung, ist die Folge einer Insertionen von mehreren hundert Basenpaaren in der 3'UTR von *dlmo* (Zeng, C. et al., 1998; Shores, M. et al., 1998; Dawid, I.B., 1998). Dadurch werden die dort lokalisierten AREs unterbrochen, was zu einer Stabilisierung der mRNA und damit zu einer Überexpression des *dLMO*-Proteins führt (Zeng, C. et al., 1998; Shores, M. et al., 1998).

Auch *dLMO*-Interaktionspartner, wie AP (*apterous*) (Cohen, B. et al., 1992) oder CHIP (*dNLI*) (Morcillo, P. et al., 1997) sind an der Flügelentwicklung bei *Drosophila* beteiligt (Morcillo, P. et al., 1997; O'Keefe, D.O., et al., 1998; Milán, M. and Cohen, S.M., 1999).

Dies bestätigt, daß die Flügelentwicklung durch die Funktion eines Proteinkomplexes, in dem z. B. spezifische Mengen der Proteine *dLMO*, CHIP und AP vorkommen, geregelt wird. Wenn, wie bei der *Beadex*-Mutation, durch die abnorme *dLMO*-Regulation die stöchiometrische Zusammensetzung der Proteine gestört ist, ist die Funktion des Protein-Komplexes dysreguliert.

Über Mutationen in der 3'UTR des humanen *LMO2* liegen gegenwärtig keine Ergebnisse vor.

Das *LMO2*-Gen, sowie die Gene, die für seine Interaktionspartner codieren, sind evolutionär hochkonserviert und homologe Gene sind in diversen Säugetieren, *Drosophila* und *S. cerevisiae* zu finden (Zhu, T.H. et al., 1995). Deshalb ist davon auszugehen, daß es sich hier um funktionell konservierte Transkriptionsfaktor-Komplexe handelt.

Vergleicht man die Entwicklung der Gliedmaßen beispielsweise zwischen Vertebraten (z.B. Säugetieren) und Arthropoden (z.B. Insekten) so sind sie als Analog zu betrachten und zeigen große Unterschiede, während die genetischen Mechanismen und Muster der Faktoren, die sie steuern, durchaus als homolog oder partiell homolog anzusehen sind (Shubin, N. et al., 1997; Irvine, K.D. and Vogt, T.F., 1997). Die Untersuchung eines möglichen Einflusses von *LMO2* an der Gliedmaßenentwicklung oder einer frühen Anterior-Posterior- oder Dorsal-Ventral-Musterbildung im Embryo, wie sie in *Drosophila* beobachtet wurden (Zeng, C. et al., 1998; Shores, M. et al., 1998), ist von großem Interesse.

Der *LMO2*-Interaktionspartner *SCL* zeigte in transgenen Mäusen, bei abnormer Proteinsequenz, Knochenanomalien (Aplan, P.D. et al., 1997).

In Analogie zu *Drosophila* könnte man postulieren, daß Mutationen im *LMO2*-Gen bei Patienten mit Polydactylien oder Syndactylien (Niswander, L., 1997) vorkommen könnten. Mutationsanalysen in der 3'UTR bei diesen Patienten wäre deshalb sinnvoll und Gegenstand zukünftiger Arbeiten.

Studien zur posttranskriptionellen Regulation von *LMO2* via 3'UTR, 5'UTR und möglichen Protein-RNA-Wechselwirkungen könnten weiteren Aufschluß über die Funktion und Regulation von *LMO2* liefern.