

5 Zusammenfassung

Der Tyrosinkinaserzeptor *Met* und sein Ligand *HGF/SF* übernehmen wichtige Funktionen in der Embryonalentwicklung der Maus. Tiere mit einer Nullmutation des Rezeptors sterben *in utero*. Sie weisen Defekte in der Entwicklung von Leber und Plazenta auf, zudem ist die Wanderung von migratorischen Muskelvorläuferzellen aus dem Dermomyotom in Extremitäten, Zwerchfell und Zunge gestört. Um die embryonale Letalität der *Met*-Nullmutation zu überwinden, wurde unter Verwendung des Cre/loxP-Systems ein konditionelles *Met* Allel in der Maus etabliert. Das met^{flox} -Allel stellt einen *knock-in* der humanen *Met* cDNA in den murinen *Met* Locus dar. Das hybride Rezeptor besteht aus extrazellulärer und Transmembran-Domäne des murinen sowie intrazellulärer Domäne des humanen *Met*. Der Rezeptor ist aktiv, und das met^{flox} -Allel kann durch Cre-Expression *in vivo* deletiert werden. Beobachtungen an heterozygoten Tieren mit einem $met^{flox}/-$ Genotyp deuten allerdings darauf hin, daß das met^{flox} -Allel die Signalaktivität des Wildtypallels nicht vollständig erreicht.

Delamination und Wanderung von migratorischen Muskelvorläuferzellen wurde in Kombinationsmutanten mit dem Genotyp *Gab1*^{-/-}/*Met*^{+/-} eingehender analysiert. In diesen Mutanten ist das *Met*-Signal im Vergleich zu *Gab1*^{-/-} Mutanten weiter abgeschwächt und erlaubt so Rückschlüsse auf die Funktion von *Met* während der Wanderung der Muskelvorläuferzellen. In *Gab1*^{-/-}/*Met*^{+/-} Tieren delaminieren die Vorläuferzellen zwar, sie aggregieren jedoch häufig und migrieren nur sehr bedingt. Falsch positionierte Vorläuferzellen werden durch Apoptose eliminiert. Die Proliferation der Zellen ist geringfügig beeinträchtigt, und Differenzierung der wenigen ausgewanderten Vorläuferzellen zu Muskelzellen findet statt.

Um das konditionelle met^{flox} -Allel im Gehirn deletieren zu können, wurde ein ZNS-spezifisches Cre-Transgen etabliert, bei dem Cre unter Kontrolle des endogenen *Otx1* Promotors steht. Die Analyse des *otx1*Cre-Transgens mit einem Reporterallel zeigt spezifische Rekombinaseaktivität in Vorder- und Mittelhirn sowie ektopische Aktivität im kaudalen Mesenchym, Epidermis sowie punktuelle Aktivität im Herzen. Bei etwa 25% der Tiere wird ubiquitäre Rekombinaseaktivität beobachtet, was auf einen homozygot vererbten Modifikator der *otx1*Cre-Expression hindeutet.

Summary

The receptor tyrosine kinase *Met* and its ligand *HGF/SF* play an important role in mouse embryonic development. Null mutations of *Met* are embryonic lethal with severe defects in liver and placental development. Directed migration of muscle precursor cells into the anlagen of limbs, diaphragm and tongue is impaired. To escape embryonic lethality, a conditional null allele was established by means of Cre/loxP technology. In the *met*^{flox} allele, human *Met* cDNA was introduced into the mouse *Met* locus, thus creating a hybrid knock-in allele. The hybrid receptor is comprised of murine extracellular and transmembrane domain and human intracellular domain. The receptor is active, and the *met*^{flox} allele can be deleted by expressing Cre recombinase *in vivo*. Yet, reduced vitality of heterozygous *met*^{flox}/- animals seems to indicate that signaling activity of the hybrid *met*^{flox} receptor does not entirely meet that of wildtype *Met* receptor.

Compound mutants with a *Gab1*^{-/-}/*Met*^{+/-} genotype were used to study delamination and migration of migratory muscle precursor cells. *Met* signalling is further attenuated in these compound mutants as compared to *Gab1*^{-/-} mutants; this allows one to analyze *Met* function during migration of muscle precursor cells. Muscle precursor cells do delaminate in *Gab1*^{-/-}/*Met*^{+/-} animals, but they tend to aggregate and are rarely seen to migrate. Ectopically positioned cells are eliminated by apoptosis. Cell proliferation is moderately reduced, and muscle precursors that actually managed to migrate to their target sites differentiate into muscle cells.

In order to inactivate the conditional *met*^{flox} allele selectively in the brain, a CNS-specific Cre transgene was established that carries Cre under control of the endogenous *Otx1* promoter. Analysis of *otx1Cre* activity with a reporter allele shows specific recombinase activity in fore- and midbrain. Additionally, ectopic recombinase activity is observed in caudal mesenchyme, epidermis and parts of the heart. About 25% of all analyzed animals show ubiquitous Cre activity, indicating an inheritable genetic modifier of *otx1Cre* expression.