

2 Problemstellung

Da $G\alpha_{12}$ -defiziente Tiere keinen offensichtlichen Defekt aufweisen (Müller et al., persönliche Mitteilung) und $Gna13^{-/-}$ Tiere bereits am Tag 9,5 der Embryonalentwicklung sterben (Offermanns et al., 1997), sind bisher nur wenig funktionelle Daten über die physiologische Bedeutung von $G\alpha_{12}$ und $G\alpha_{13}$ bekannt.

Verantwortlich für den frühen Tod $Gna13^{-/-}$ Mäuse *in utero* ist eine schwere Störung der Blutgefäßbildung im sich entwickelnden Embryo. Während die vaskulogenetische Blutgefäßbildung intakt zu sein scheint, liegt in $G\alpha_{13}$ -defizienten Tieren ein angiogenetischer Defekt vor. Da $G\alpha_{13}$ eine essentielle Funktion im Organismus übernimmt, sollte mittels homologer Rekombination eine Mauslinie generiert werden, die eine zeit- und gewebespezifische Inaktivierung des $Gna13$ Gens ermöglicht, um funktionelle Analysen dieser G-Protein α -Untereinheit zu erleichtern. Dazu sollte mittels des Cre/loxP-Systems über homologe Rekombination in embryonale Stammzellen ein konditionaler $Gna13$ „Knock-out“ hergestellt werden. An diesen konditional $G\alpha_{13}$ -defizienten Mäusen sollten potentielle Auswirkungen des Gendefektes im Kontext des Gesamtorganismus analysiert werden, um weitere Anhaltspunkte für die Genfunktion von $Gna13$ *in vivo* zu erhalten. Da $Gna12^{-/-}$ Tiere keine phänotypischen Auffälligkeiten zeigen, kann durch Kreuzung von $Gna13^{flox/flox}$ Mäusen mit $Gna12^{-/-}$ Tieren, eine konditionale Inaktivierung des vollständigen $G\alpha_{12};G\alpha_{13}$ -vermittelten Signaltransduktionsweges durch eine Cre-medierte Deletion des $Gna13$ Gens in $Gna12^{-/-}$ Mäusen erzielt werden.

Da es sich bei $G\alpha_{12}/G\alpha_{13}$ vermittelten Signalen um einen ubiquitären Signalweiterleitungsmechanismus handelt, sollten mithilfe gewebspezifisch exprimierter Cre Mauslinien die Genfunktion von $Gna12$ und $Gna13$ untersucht werden.

Der zum intrauterinen Tod führende angiogenetische Defekt in $Gna13^{-/-}$ Mäusen, wirft die Frage auf, ob das Fehlen von $Gna13$ in Endothelzellen oder den umgebenden mesenchymalen Zellen für den Defekt verantwortlich ist. Dieser Frage sollte durch die konditionale Inaktivierung des $Gna13$ Gens mittels einer Cre-Maus, die Cre unter der Kontrolle eines Endothelzell-spezifischen Promotors (*tie-1*Cre) exprimiert (Gustafsson et al., 2001) nachgegangen werden.

Dass $G\alpha_{13}$ in die Induktion einer hypertrophen Antwort involviert ist, zeigen Expressionsstudien mit daueraktivem $G\alpha_{13}$. Durch Überexpression von $G\alpha_{13}$ wird in Kardiomyozyten eine hypertrophe Antwort ausgelöst und die entsprechenden transkriptionalen Effekte werden über einen Rho-abhängigen Mechanismus gesteuert (Finn et al., 1999). Um zuverlässige Aussagen über die Beteiligung von $G\alpha_{12}$ und/oder $G\alpha_{13}$ in die Hypertrophie Induktion treffen zu können erschien es sinnvoll, $Gna13^{flox/-}$ sowie $Gna12^{-/-}; Gna13^{flox/flox}$ Tiere mit einer Cre-Linie, die Cre kardiomyozytenspezifisch exprimiert zu kreuzen und zu analysieren.

Verschiedene Arbeiten lassen vermuten, daß $Gna12$ und $Gna13$ in immunologische Prozesse involviert sind. So konnte für die Tyrosinkinase Pyk-2, die durch $G\alpha_{12}$ und $G\alpha_{13}$ aktiviert wird, im Falle einer Pyk-2 Defizienz gezeigt werden, dass in der Randzone der Milz die B-Zellen selektiv fehlen (Guinamard et al., 2000). Ein ähnlicher Befund wurde für den

Guaninnukleotidaustauschfaktor Lsc erhoben. Auch in Lsc-defizienten Tieren liegt eine drastische Reduktion der B-Zellen in der Randzone der Milz vor (Girkontaite et al., 2001). Aufgrund dieser Literaturdaten, sollten $Gna13^{flox/-}$ Tiere bzw. $Gna12^{-/-};Gna13^{flox/flox}$ Mäuse mit einer Cre-Linie gekreuzt werden, die entsprechende Analysen in immunologischen Systemen ermöglicht.

Weiterhin deuten Untersuchungen an $G\alpha_q$ -defizienten Thrombozyten daraufhin, dass die G-Proteine $G\alpha_{12}$ und $G\alpha_{13}$ an der Auslösung der „shape-change“ Reaktion in Thrombozyten beteiligt sind (Klages et al., 1999). Daher sollten Cre-Mauslinien eingesetzt werden, die Cre im hämatopoetischen System exprimieren und damit eine genaue Analyse von $G\alpha_{12}$ und/oder $G\alpha_{13}$ -vermittelten Signaltransduktionswegen in Thrombozyten ermöglichen.

Ziel der Arbeit war es somit, in einer größeren Anzahl von Geweben die Folgen einer $G\alpha_{12};G\alpha_{13}$ -Doppeldefizienz zu untersuchen, um dadurch einen weitergehenden Einblick in die Funktion von G_{12} - und G_{13} -vermittelten Signaltransduktionsprozessen unter *in vivo* Bedingungen zu bekommen.