

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Promotion widmet sich der Analyse der Funktion von Olig3 in der Entwicklung des Hirnstamms. Überdies wurde eine Mutation in das *c-Maf*-Gen eingeführt, das ebenfalls im Hirnstamm und Rückenmark exprimiert wird. Diese Arbeiten sind hier dargestellt.

Die Keimzone im Rhombencephalon bringt verschiedene neuronale Zellpopulationen hervor. Um den dorsalsten Anteil der Keimzone, die Rautenlippe, genauer zu definieren, wurden molekulare Kriterien eingeführt. Es war bereits bekannt, dass Zellpopulationen in der Rautenlippe Wnt1, Math1 und Ngn1 exprimieren. Olig3 gehört zur Olig-Familie der basischen Helix-Schleife-Helix Transkriptionsfaktoren und wird ebenfalls in der dorsalen Flügelplatte des Rhombencephalons und des Rückenmarks exprimiert. Im Rückenmark ist Olig3 für die Spezifizierung von Neuronen notwendig. Um die entwicklungsbiologische Funktion von Olig3 im Rhombencephalon zu analysieren, verwendete ich Mäuse, in denen das *Olig3*-Gen mutiert war. Während Tiere, welche die *Olig3*-Mutation im heterozygoten Zustand trugen, gesund und normal waren, starben homozygote Tiere wenige Stunden nach der Geburt. Die homozygote Mutation des *Olig3*-Gens führte zu morphologischen und molekularen Fehlbildungen von Kernen im Rhombencephalon.

In dieser Promotion definiere ich vier neuronale Zellpopulationen (A1-A4), die aus der Olig3-Vorläuferzellschicht im siebten Rhombomer hervorgehen. In homozygoten *Olig3*-Mausmutanten wurden die neuronalen Zelltypen A2-A4 mis-spezifiziert und die A1-Neurone in reduzierter Anzahl gebildet. Als Folge dieser abnormen Entwicklung fehlten der Nucleus olivaris inferior und die Phox2b-exprimierenden Neurone im Nucleus tractus solitarii sowie in der Area postrema. Zusätzlich waren der Nucleus reticularis lateralis und der Nucleus cuneatus externus hypoplastisch. Im ersten bis dritten Rhombomer wurden ebenfalls verschiedene neuronale Kerne identifiziert, deren Entwicklung von Olig3 abhängig ist. In homozygoten *Olig3*-Mausmutanten waren der Nucleus pontis sowie der Nucleus reticularis tegmenti pontis hypoplastisch und entwickelte sich die Folierung des Cerebellums unvollständig.

Olig3 übernimmt demnach *in vivo* Funktionen in der Entwicklung des Rhombencephalons und ist für die Spezifizierung und damit für die Diversifizierung des Nervensystems wichtig.

Der Zinkfinger Transkriptionsfaktor c-Maf wird in postmitotischen Zellen im dorsalen Hirnstamm und Rückenmark exprimiert. Um in der Zukunft die *in vivo*-Funktion von c-Maf in der Neurogenese im dorsalen Hirnstamm und Rückenmark aufzuklären, wurde das *c-Maf*-Gen zum einen durch ein *LacZ*-Reportergen ersetzt und zum anderen konditional mutiert. Die Analyse des Phänotyps dieser Mutation steht noch aus.

Summary

The presented work shows the analysis of the function of the gene *Olig3* in the development of the hindbrain. In addition, the mutagenesis of the *c-Maf* gene is described.

The germinal zone in the hindbrain produces several groups of hindbrain neurons. Recently, distinct molecular criteria have been introduced to define the most dorsal part of the germinal zone, the rhombic lip (“Rautenlippe”). These include the expression of *Wnt1*, *Math1*, and *Ngn1*.

Olig3 belongs to the Olig-family of bHLH transcription factors and is expressed in the dorsal alar plate of the developing hindbrain and spinal cord. In the dorsal spinal cord, *Olig3* is crucial for the specification of neurons. To investigate the function of *Olig3* in the dorsal hindbrain I examined *Olig3* mutant mice. Heterozygous *Olig3* mutants displayed a normal phenotype, whilst homozygous animals died within hours after birth. Homozygous mutation of *Olig3* led to morphological and molecular abnormalities of hindbrain nuclei.

Here, I define four distinct neuronal subtypes (A1-A4) that derive from the *Olig3* progenitor domain in rhombomere 7. In homozygous *Olig3* mutant mice, mis-specification of the A2-A4 neurons occurred, and A1 neurons were generated in reduced numbers. This was associated with the reduction in size of the lateral reticular nucleus and the external cuneate nucleus and the absence of *Phox2b*-expressing neurons in the nucleus of the solitary tract and the area postrema. In addition, the inferior olivary nucleus was not formed. I provide evidence that two distinct neuronal subtypes from the alar plate contribute to the inferior olivary nucleus.

Anatomically-defined nuclei of the first to third rhombomere could be identified whose development depends on *Olig3*. Further, homozygous *Olig3* mutant mice displayed aberrant foliation of the cerebellum, and the pontine nucleus and the reticulotegmental nucleus were hypoplastic.

My analyses show that *Olig3* defines a dorsal part of the germinal zone in the hindbrain and that it is essential for the specification of distinct subsets of hindbrain neurons in several rhombomeres.

The zinc finger transcription factor c-Maf is expressed in postmitotic cells in the dorsal hindbrain and spinal cord. To analyze the *in vivo* function of *c-Maf* in the development of the hindbrain and spinal cord, I generated two mouse strains. In the first strain, a *LacZ*-reporter gene replaces essential coding sequences of the *c-Maf*-gene; the second strain harbors a floxed allele of *c-Maf* for conditional inactivation.