

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die *HOX* Gene kodieren für eine evolutionär konservierte Familie von Transkriptionsfaktoren, die eine wichtige Rolle während der Embryogenese spielen. Insbesondere sind die posterioren *HOXD*-Gene an der Ausbildung der Extremitäten beteiligt. Verschiedene *HOXD*-Mutationen wurden mit Extremitätenfehlbildung bei Mensch und Maus assoziiert. Eine dieser Krankheiten, die Synpolydaktylie (SPD), wird durch verschiedene Mutationen im *HOXD13* Gen verursacht.

In dieser Studie wurde die Translokation t(2;10)(q31.1;q26.3) in einem männlichen Patienten untersucht. Der Junge ist geistig behindert und zeigt verschiedene Knochenanomalien, inklusive SPD. Die chromosomalen Bruchpunkte wurden mit Hilfe von unterschiedlichen zytogenetischen und molekulargenetischen Methoden kartiert und kloniert. Die Ergebnisse zeigten, dass der Bruchpunkt auf dem Chromosom 10 das *MGMT* Gen unterbricht. Da dieses Gen für ein DNA-Reparaturenzym kodiert und da es keine Hinweise zu dessen Rolle in der Extremitätenentwicklung gibt, ist es unwahrscheinlich, dass *MGMT* für die Knochenfehlbildung bei diesem Patienten verantwortlich ist. Der Bruchpunkt auf dem Chromosom 2 wurde ungefähr 390 kb centromerisch vom *HOXD*-Cluster kartiert. Er unterbricht kein bekanntes Gen. In der letzten Zeit wurde bekannt, dass die Fehlregulation der Genexpression mit einer veränderten chromosomalen Umgebung zusammenhängen kann. Dieses Phänomen wird als Positionseffekt bezeichnet. Daher ist es sehr wahrscheinlich, dass die Translokation die präzise Regulation der *HOXD* Gene beeinflusst hat. Dies könnte zum Verlust der *HOXD* Funktion und zum SPD-Phänotyp im Patienten führen.

Studien der letzten Jahre haben zur Identifizierung einer Reihe von Mechanismen geführt, die an Extremitätenentwicklung und -pathogenese beteiligt sind. Trotzdem gibt es dabei noch viele Fragen, die beantwortet werden müssen. Um neue Moleküle zu identifizieren, die in diesen Prozessen eine wichtige Rolle spielen, habe ich nach Hoxd13-Interaktionspartnern mit Hilfe der Hefe-2-Hybrid-Methode gesucht. Mehrere Kandidaten wurden als potenzielle Hoxd13-Bindungsproteine identifiziert und im Hefe- und Affennierenzellensystem weiter analysiert. Einer der Kandidaten, Peg10, kolokalisiert mit den Wildtyp- und den mutanten Hoxd13-Proteinen in COS1-Zellen. Zusätzlich wurde die Bindung zwischen Peg10 und Hoxd13 Proteinen durch Koimmunopräzipitationsstudien nachgewiesen. Die Ergebnisse der Whole mount *in situ* Hybridisierung zeigten, dass *Peg10* während der Mausembryogenese in

den distalen Teilen der Extremitätenknospen exprimiert wird. Die Expressionsdomänen von *Peg10* und *Hoxd13* überlappen sich in den frühen Stadien der Extremitätenentwicklung (E10.5 und E11.5). Das deutet darauf hin, dass die beiden Proteine *in vivo* interagieren könnten. Die Ergebnisse dieser Studie, zusammen mit bereits publizierten Daten, lassen vermuten, dass *Peg10* die Funktion von *Hoxd13* moduliert und dass die beiden Proteine die Transkription von verschiedenen Zielgenen regulieren. Weitere Experimente sind nötig, um diese Hypothese zu bestätigen und die genaue Rolle der *Hoxd13/Peg10* Komplexe *in vivo* zu klären. Zwei andere Kandidaten für *Hoxd13*-Bindungspartner, *Limd1* und *Cnot 3*, sollten weiter untersucht werden, um ihre möglichen Interaktionen mit *Hoxd13* zu bestätigen. Die funktionellen Analysen der Kandidatengene könnten zum besseren Verständnis der molekularen Grundlagen der Extremitätenentwicklung beitragen.