

5. Zusammenfassung

Ror2 ist eine Rezeptortyrosinkinase, die zur Familie der Ror-Proteine gehört und im Tierreich konserviert ist. Im Menschen führen Mutationen in ROR2 zu zwei kongenitalen, das Skelett betreffende, Erkrankungen. Mutationen, die vermutlich zu einem Funktionsverlust von ROR2 führen, verursachen das autosomal rezessive Robinow Syndrom, während die Brachydaktylie Typ B (BDB) von dominanten Mutationen in ROR2 verursacht wird, die vermutlich zu einem Funktionsgewinn des Proteins oder aber zu einem dominanten Effekt des mutierten Proteins über einen möglichen Dimerisierungspartner führen. Mäuse, in denen beide Kopien des Ror2-Gens inaktiviert wurden, sterben kurz nach der Geburt. Im Vergleich zu ihren Wildtyp-Geschwistern zeigen sie einen schweren Knorpel/Knochen-Phänotyp, sind kleiner und haben verkürzte Extremitäten. Analysen der humanen Erkrankungen und die Untersuchung dieser Mäuse haben zu der Hypothese geführt, daß Ror2 während der Embryogenese eine wichtige Funktion in der Differenzierung von Knorpelzellen spielt.

Obwohl Ror2 bereits im Jahre 1992 beschrieben wurde, ist bis heute nur wenig über Signalwege, an denen Ror2 partizipiert, oder über Interaktionspartner bekannt. Daher war die Identifikation neuer intrazellulärer Bindungspartner von Ror2 das Ziel dieser Arbeit. Dazu wurde mit dem cytoplasmatischen Bereich von Ror2 in "Yeast Two Hybrid"- und "Yeast Three Hybrid"-Analysen eine Maus-embryonale cDNA Bibliothek (E9,5-10.5) nach Ror2 Interaktionspartnern durchsucht. Dadurch konnten insgesamt 23 potentielle Interaktionspartner von Ror2 identifiziert werden. Im Rahmen dieser Studie wurden zwei dieser potentiellen Interaktionspartner weiter bearbeitet.

Dlxin-1 ist ein Protein, das ursprünglich als Dlx5 Bindungspartner identifiziert wurde. Im "Yeast Three Hybrid"-Experiment ist es der am häufigsten gefundene Interaktionspartner von Ror2. Durch Retransformations-Experimente ließ sich der Ort der Interaktion am distalen Bereich von Ror2 ausmachen. Aufgrund dieser Ergebnisse und Veröffentlichungen anderer Arbeitsgruppen, läßt sich spekulieren, daß Ror2 über die Bindung von Dlxin-1 die Lokalisation und das Zusammenspiel verschiedener Transkriptionsfaktoren (Dlx5, Msx2) beeinflussen könnte, wodurch eine Feinregulation in der Knorpeldifferenzierung erreicht werden könnte.

Ein weiterer potentieller Interaktionspartner von Ror2 wurde unabhängig, sowohl im "Yeast Two Hybrid"- als auch im "Yeast Three Hybrid"-Experiment, identifiziert. Dabei handelt es sich um Wtip, ein erst kürzlich beschriebenes LIM Domänen-Protein. Wtip besitzt drei C-terminal gelegene LIM Domänen, von denen die ersten beiden Domänen für die Interaktion

mit Ror2 verantwortlich sind. Die Bindung an Ror2 wurde durch Retransformations- und Co-Immunoprecipitationsexperimente bestätigt, sie findet am distalen Bereich von Ror2 statt. Mit Hilfe von *in situ* Hybridisierungen an Maus Gefrierschnitten und Ganztierpräparaten konnte die Co-Expression von Wtip und Ror2 in verschiedenen Geweben (z.B. in Extremitätenknospen, Niere, Lunge, Herz, Zahnanlagen) gezeigt werden. Zusätzlich konnten beide Proteine durch immunhistologische Untersuchungen auf Maus Gefrierschnitten in Niere, Darm, Lunge und Rippen innerhalb der selben Zellen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß Wtip und Ror2 auch *in vivo* miteinander interagieren könnten. Über eine Funktion dieser Interaktion läßt sich nur schwer spekulieren, da über Wtip bisher nur wenig bekannt ist. Jedoch konnte für Wtip, sowie für andere Proteine derselben Unterfamilie, gezeigt werden, daß diese Proteine, obwohl sie primär cytoplasmatisch lokalisieren, von der Zellmembran in den Kern der Zelle gelangen und dort die Aktivität von transkriptionellen Regulatoren modulieren können. Ob Ror2 an einer solchen Funktion beteiligt sein könnte, bedarf jedoch noch genauerer Untersuchungen.