

5. Zusammenfassung

Der Homöobox-Transkriptionsfaktor *Lbx1* wird in der Embryonalentwicklung ausschließlich in migrierenden Muskelvorläuferzellen und im Rückenmark exprimiert. Um die Funktion von *Lbx1* in der Myogenese und der Spezifizierung von Nervenzellen im Rückenmark zu untersuchen, wurde in dieser Dissertation das *Lbx1*-Gen in der Maus gezielt inaktiviert. Hierzu wurden zunächst genomische *Lbx1*-Sequenzen isoliert, die daraufhin zur Konstruktion des Targeting-Vektors dienten. Mit Hilfe dieses Konstrukts wurde das *Lbx1*-Gen in embryonalen Stammzellen mutiert und nachfolgend eine *Lbx1*-mutante Mauslinie etabliert. Heterozygote *Lbx1*-Mäuse zeigten keinen Phänotyp, während homozygote *Lbx1*-Mutanten nicht lebensfähig und durch eine abnorme Entwicklung der Extremitätenmuskulatur gekennzeichnet waren. Die weitergehende Analyse ergab, daß wandernde Muskelvorläuferzellen zwar in *Lbx1*-Mutanten gebildet wurden, die Skelettmuskeldefekte jedoch eine Folge der aberranten Migration dieser Zellpopulation darstellten, da die Zellen bestimmte Zielorte nicht fanden.

Darüber hinaus wurden regulatorische Beziehungen zwischen *Lbx1*, dem Pairedbox-Transkriptionsfaktor *Pax3* und dem Tyrosin-Kinase-Rezeptor *c-Met* untersucht. Diese Gene werden ebenfalls in Muskelvorläuferzellen exprimiert und besitzen wichtige Funktionen in der Myogenese. *Pax3* spezifiziert die Muskelvorläuferzellen und agiert in der genetischen Hierarchie oberhalb von *c-Met* und *Lbx1*. *c-Met* und sein Ligand SF/HGF steuern die Delamination der Zellen aus dem Dermomyotom und für die Weiterleitung des *c-Met*-Signals *in vivo* ist das Adapterprotein *Gab1* essentiell.

Im dorsalen Rückenmark können anhand der *Lbx1*-Expression zwei Klassen post-mitotischer Nervenzellen definiert werden. Die Klasse A Neurone der Subtypen dI1-dI3 exprimieren *Lbx1* nicht und ihre Bildung wird durch dorsale Signale dirigiert. Dagegen entwickeln sich die *Lbx1*-positiven dI4-dI6-Subtypen der Klasse B unabhängig von diesen instruktiven Einflüssen. In *Lbx1*-Mutanten veränderten die Neurone der Klasse B ihr Differenzierungsprogramm und nahmen stattdessen die Identität von Klasse A Neuronen an. *Lbx1* kontrolliert daher die Spezifizierung von Nervenzellen im dorsalen Rückenmark, die im adulten Organismus wichtige Funktionen bei der Verarbeitung sensorischer Information übernehmen.

Summary

The homeodomain transcription factor *Lbx1* is exclusively expressed in migrating myogenic precursor cells and in the dorsal spinal cord during embryonic development. In order to determine the function of *Lbx1* in myogenesis and spinal cord development, the *Lbx1* gene was inactivated in the mouse by gene targeting. Genomic *Lbx1* sequences were isolated and used to construct a targeting vector. This construct allowed the mutation of *Lbx1* by homologous recombination in embryonic stem cells and the establishment of a *Lbx1* mutant mouse strain. Heterozygous *Lbx1* mice displayed no overt phenotype, whereas homozygous *Lbx1* mutants died shortly after birth and showed an abnormal limb musculature. Further analysis demonstrated, that muscle precursor cells were formed in *Lbx1* mutants, but migrated aberrantly and were unable to respond or interpret guidance cues that direct them towards their target sites.

The expression of *Lbx1*, *Pax3* and *c-Met* overlap in muscle progenitor cells. Analysis of the corresponding mutant mice revealed that *Pax3* controls formation and specification of these cells and functions on top of a genetic hierarchy that controls the development of migrating myogenic precursor cells. *c-Met* and its ligand SF/HGF are essential for the delamination of this myogenic progenitor population from the dermomyotome. In addition, the adaptor protein *Gab1* is essential for the transmission of the *c-Met* signal *in vivo*.

Lbx1 expression distinguishes two classes of postmitotic neurons in the dorsal spinal cord. The formation of class A neurons, which consist of the dI1-dI3 subtypes, is directed by dorsal instructive signals and these cells do not express *Lbx1*. In contrast, the *Lbx1* positive class B neurons of the dI4-dI6 subtypes develop independently of instructive dorsal signals. In *Lbx1* mutant mice, class B neurons change their differentiation program and adapt the identities of class A neurons. Therefore *Lbx1* controls the specification of spinal cord neurons, which mature into dorsal interneurons and function as the first central relay station for somatosensory perception.