

**Die Analyse des Tumorsuppressorgens *lethal*
(2) *giant discs* während der Oogenese von
Drosophila melanogaster
und
ein Modifier-Screen um neue
Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase
Mind bomb 1 zu finden**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Kim Sara Morawa
aus Tönisvorst

Düsseldorf, Januar 2016

aus dem Institut für Genetik
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Thomas Klein

Korreferent: Prof. Hermann Aberle

Tag der mündlichen Prüfung:

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Der Notch-Signalweg	1
1.2 Ubiquitinierung und die E3-Ubiquitin-Ligase Mib1	3
1.3 Die Venenentwicklung im Flügel von <i>Drosophila melanogaster</i>	5
1.4 Endozytose und der endosomale Transportweg	7
1.5 Die Oogenese bei <i>Drosophila melanogaster</i>	11
1.6 Das Tumorsuppressorgen <i>lethal (2) giant discs</i>	15
1.7 Ziele der Arbeit	20
2 Material und Methoden	21
2.1 Material	21
2.1.1 Chemikalien	21
2.1.2 Verwendete Fliegenstämme	21
2.1.3 Software	22
2.1.4 Datenbanken	22
2.2 Methoden	24
2.2.1 Anzucht und Haltung von Fliegen der Gattung <i>Drosophila melanogaster</i>	24
2.2.2 RNA-Interferenz	24
2.2.3 Das Gal4/UAS-System	24
2.2.4 Das FLP/FRT-System	25
2.2.5 Antikörperfärbungen an Ovarien von <i>Drosophila</i> <i>melanogaster</i>	25
2.2.6 Präparation von Flügeln von <i>Drosophila melanogaster</i>	27
2.2.7 Rekombination	27
2.2.8 Jump-Out – Herstellung von Mutanten mittels Mobilisation eines P-Elements	28
2.2.9 Isolierung genomischer DNA aus Fliegen	28

2.2.10	DNA-Konzentrationsbestimmung	28
2.2.11	<i>single fly</i> Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	29
2.2.12	DNA-Gelelektrophorese und Gelextraktion	30
2.2.13	Sequenzierungen	30
3	Ergebnisse	31
3.1	Analyse des Tumorsuppressorgens <i>lethal (2) giant discs</i> während der Oogenese von <i>Drosophila melanogaster</i>	31
3.1.1	Analyse der Transendozytose des Notch-Rezeptors durch seinen Liganden Delta in der Keimbahn	31
3.1.2	Analyse des <i>protein traps</i> Tkv-YFP in wildtypischen Follikel- und Keimbahnzellen	33
3.1.3	Analyse des Reporterkonstrukts Tkv-YFP in <i>lgd</i> -mutanten Follikel- und Keimbahnzellen	36
3.1.4	Der Verlust von <i>lgd</i> und <i>shrub</i> in der Keimbahn hat einen Einfluss auf den Zellzyklus	38
3.1.5	<i>lgd</i> und <i>shrub</i> mutante Germarien enthalten zusätzliche <i>dad</i> -exprimierende Zellen	41
3.1.6	Die <i>dad</i> -exprimierenden Zellen in <i>lgd</i> und <i>shrub</i> mutanten Germarien behalten länger ihren Stammzell-ähnlichen Charakter	45
3.1.7	Analyse der genetischen Interaktion von <i>fu</i> , <i>lgd</i> und <i>shrub</i> während der Keimbahnentwicklung	48
3.1.8	Der Verlust von <i>Dmon1</i> in <i>lgd</i> -mutanten Zellen führt ebenfalls zu mehr GSC-ähnlichen Zellen im Germarium	51
3.1.9	Die Reduktion des Liganden <i>Dpp</i> hat einen Einfluss auf den <i>shrub</i> -mutanten Phänotyp in der Keimbahn	56
3.2	Ein Modifier-Screen um neue Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase Mind bomb 1 von <i>Drosophila</i> zu finden	58
3.2.1	Der Basis-Screen: Analyse des <i>Bloomington-Deficiency-Kit</i>	58
3.2.2	Zuordnung bekannter Interaktionspartner von Mind bomb 1 zu auffälligen Defizienzen	64
3.2.3	Identifizierung von Kandidatengenomen mittels kleinerer Defizienzen, Allelen und RNAis	68

3.2.4	Identifizierung von Kandidatengenomen innerhalb der auffälligen Defizienzen	69
3.2.5	<i>In silico</i> Analyse der Interaktion und Funktion von neuen Mind Bomb 1 Interaktionspartnern	82
3.2.6	Herstellung und Analyse einer Mutante des Gens <i>CG11714</i>	91
4	Diskussion	99
4.1	Analyse des Tumorsuppressorgens <i>lethal (2) giant discs</i> während der Oogenese von <i>Drosophila melanogaster</i>	99
4.1.1	Analyse der Transendozytose des Notch-Rezeptors durch seinen Liganden Delta in der Keimbahn	99
4.1.2	Analyse des Reporterkonstrukts Tkv-YFP in wild-typischen und <i>lgd</i> -mutanten Follikel- und Keimbahnzellen	100
4.1.3	Die Analyse des Verlustes von <i>lgd</i> und <i>shrub</i> in der Keimbahn	101
4.1.4	Die Analyse des Verlust von <i>Dmon1</i> in <i>lgd</i> -mutanten Keimbahn- und Follikelzellen	106
4.1.5	Die Reduktion des Liganden Dpp hat einen Einfluss auf den <i>shrub</i> -mutanten Phänotyp in der Keimbahn	107
4.2	Ein Modifier-Screen um neue Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase Mind bomb 1 von <i>Drosophila</i> zu finden	108
4.2.1	Der Modifier-Screen	108
4.2.2	<i>in silico</i> Analyse der Interaktion und Funktion von potenziellen neuen Mind Bomb 1 Interaktionspartnern	112
4.2.3	Herstellung und Analyse einer Mutante des Gens <i>CG11714</i>	124
5	Zusammenfassung	127
6	Summary	128
7	Literaturverzeichnis	129
8	Abkürzungsverzeichnis	157
9	Anhang	159
9.1	statistische Analyse der Flügel des Modifier-Screens	159
9.1.1	Das <i>Bloomington Deficiency Kit</i>	159

9.1.2	Verkleinerte Defizienzen	170
9.1.3	Die getesteten Allele	173
9.1.4	Die getesteten RNAi-Linien	187
9.2	Flügel der auffälligen Defizienzen und entsprechenden Kandidatengene	197
9.3	Vergleich der Kandidaten dieses Screens mit anderen Screens	207
9.4	Interaktionsanalyse mittels Cytoscape der identifizierten Kandidatengene	209
10	Erklärung	218
11	Danksagung	219

1. Einleitung

Die klassische Genetik, begründet von Gregor Mendel, befasst sich mit der Lehre von Vererbung. Bestimmte Eigenschaften, sogenannte Phänotypen, konnten mit Genen in Verbindung gebracht werden. Die Schlussfolgerung war, dass der Genotyp den Phänotyp bestimmt. Die dadurch gewonnenen Erkenntnisse führten bis zur modernen molekularen Genetik. Durch die Forschung in diesem Bereich kam es auch zur Etablierung verschiedener Modellorganismen, wie *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio* und *mus musculus*. Die in diesen Modellen gewonnenen Erkenntnisse konnten teilweise auch auf den Menschen übertragen werden.

1.1 Der Notch-Signalweg

Der Notch-Signalweg spielt eine wichtige Rolle bei der Musterbildung im Flügel zur Etablierung der dorso-ventralen Grenze und regelt Prozesse wie Zellproliferation und Differenzierung (Artavanis-Tsakonas et al. 1999; Kim et al. 1996). Er vermittelt die Kommunikation zwischen zwei benachbarten Zellen, indem der Notch-Rezeptor in der signal-empfangenden Zelle an die Liganden in der signal-sendenden Zelle bindet.

Für die Aktivierung des Notch-Rezeptors sind drei proteolytische Spaltungen notwendig. Nachdem der N-Rezeptor durch die O-Fucosyltransferase 1 (O-Fut1) glykosyliert wurde kommt es zum ersten Schnitt (S1). Dieser findet bereits im Golgi Apparat statt. Dort schneidet die Konvertase Furin (Fur) den Vorläufer des N-Rezeptors und initiiert dessen Heterodimerisierung (Blaumueller et al. 1997). Anschließend wird dieser zur Plasmamembran transportiert und kann von dort aus die Liganden in der benachbarten Zelle erkennen. Bei den Liganden handelt es sich um Delta (Dl) und Serrate (Ser) aus der DSL(Delta/Serrate/Lag-2)-Protein-Familie. Binden Ligand und Rezeptor mittels ihrer extrazellulären Domänen aneinander führt die Endozytose selbiger in die signal-sendende Zelle zu einer Konformationsänderung in der extrazellulären Domäne von Notch (Notch extracellular truncation = NEXT). Dadurch wird eine Schnittstelle freigelegt an der die ADAM 10 Metalloprotease Kuzbanian (Kuz) schneiden kann. Durch den γ -Secretase-Komplex (bestehend aus Presenilin (Psn), Nicastrin (Nic), Presenilin Enhancing Factor 2 (Pen2), Anterior pharynx defective 1 (Aph-1)) wird Notch weiter prozessiert (Strooper et al. 1999; Struhl und Greenwald 1999; Takasugi et al. 2003). Die freigewordene intrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors (Notch intracellular domain = NICD) transloziert in den Zellkern. Dort verdrängt NICD Co-Repressoren und bildet einen Komplex mit Proteinen der

CSL(CBF-1/Su(H)/L \bar{A} G-2)-Familie. Daraus folgend werden gewebespezifisch Zielgene wie *wingless* (*wg*) an der dorso-ventralen Grenze (d/v-Grenze) oder *hindsight* (*hnt*) in den *sensory organ precursor cells* (SOPs) und dem Follikelepithel abgelesen (Abb. 1.1; Übersicht in Hori et al. 2013; Yip et al. 1997; Sun und Deng 2007; Couso et al. 1995; Kim et al. 1996; Rulifson und Blair 1995; Neumann und Cohen 1996).

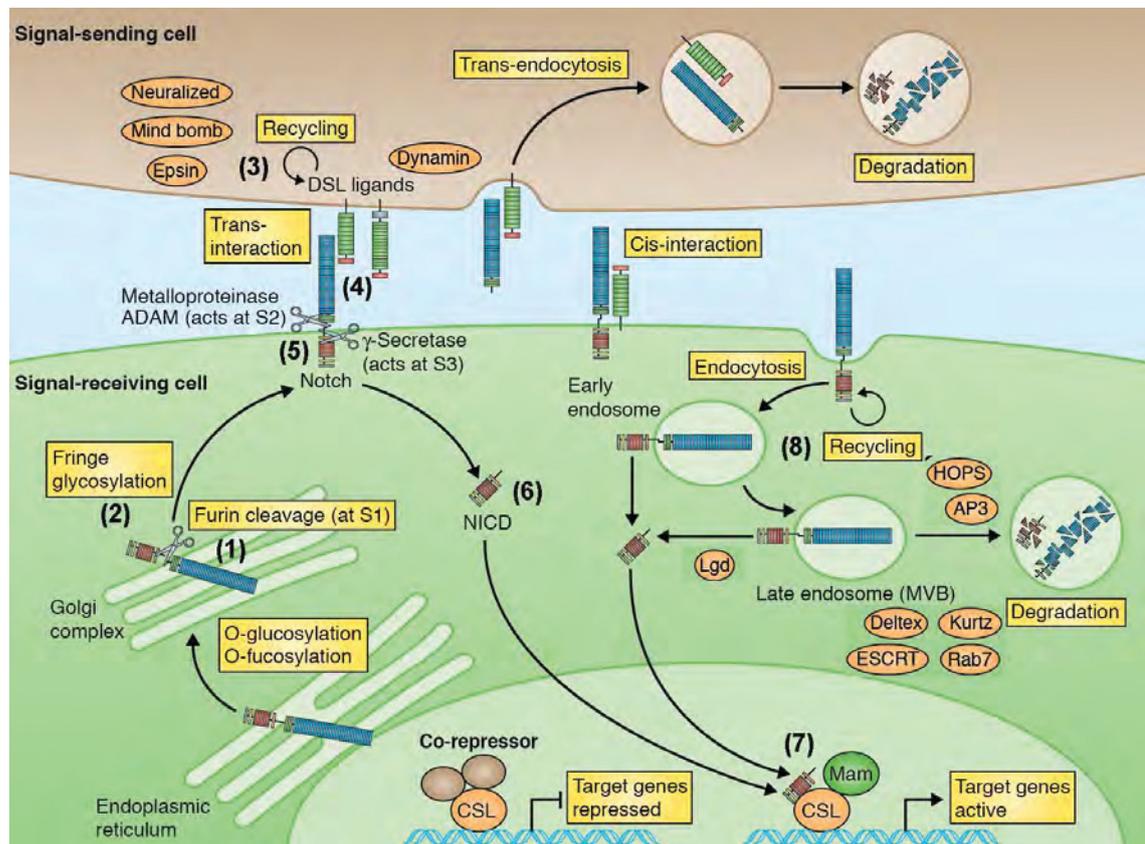


Abb. 1.1: Der Notch-Signalweg. Der Notch-Signalweg (N) ist ein proteolytischer Signalweg, der Signale zwischen zwei benachbarten Zellen vermittelt. (1) Zunächst reift der Notch-Rezeptor im Golgi Apparat und wird durch Furin (Fur) geschnitten (S1) und anschließend neu verknüpft. (2) Durch die Glykosyltransferase Fringe kann der Rezeptor glykolysiert werden und wird anschließend zur Plasmamembran transportiert. (3) Die signalsendende Zelle exprimiert die Liganden *Delta* (*Di*) und *Serrate* (*Ser*). Diese Transmembranproteine müssen zunächst recycelt werden. Dafür sind die E3-Ubiquitin-Ligasen *Mind bomb 1* (*Mib1*) und *Neuralized* (*Neur*) zuständig, sowie das *Epsin Liquid facets* (*Lqf*) und die GTPase der *Dynamin*-Familie *Shibire* (*Shi*). (4) Im Anschluss können die Liganden den N-Rezeptor in der signalempfangenden Zelle aktivieren. Sie binden mit ihren extrazellulären Domänen aneinander. Durch Transendozytose der Liganden in die signalsendende Zelle kommt es zu einer Konformationsänderung in der extrazellulären Domäne des N-Rezeptors. (5) Die Schnittstelle für die *ADAM10* Metalloprotease *Kuzbanian* (*Kuz*) wird frei. Es kommt zum S2-Schnitt. Direkt danach schneidet der γ -Secretase-Komplex, sodass die intrazelluläre Domäne des N-Rezeptors (*NICD*) frei wird. (6) Die *NICD* kann dann in den Nucleus translozieren. (7) Dort bindet *NICD* an den Aktivatorcomplex der *CSL*-Familie. Co-Repressoren werden dadurch verdrängt und Zielgene wie *wingless* (*wg*) oder *hindsight* (*hnt*) können abgelesen werden. (8) Teilweise werden die N-Rezeptoren auch von der Membran recycelt oder über den endosomalen Transportweg (*Lgd*, *ESCRT*, *Rab7*), mit Beteiligung des *HOPS*- und *AP3*-Komplexes, abgebaut (modifiziert nach Hori et al. 2013).

Der Notch-Signalweg kann auf verschiedenen Ebenen reguliert werden. So verändert nicht nur die Glykosylierung des Rezeptors dessen Aktivität, sondern auch die Ubiquitinierung von Rezeptor und Liganden ist an der Regulierung beteiligt. Die Verknüpfung der Liganden mit Ubiquitin ist das Zeichen zur Endozytose und für den Abbau im endosomalen Transportweg (Le Borgne et al. 2005a; Metzger et al. 2012). Die Endozytose scheint essentiell zu sein, da bereits gezeigt werden konnte, dass ein Funktionsverlust von *shibire (shi)*, dem Dynamin Homolog, welches für die Abschnürung von Clathrin-umhüllten endosomalen Vesikeln verantwortlich ist, die Liganden-abhängige Aktivierung des Notch-Signalwegs unterbindet (Poodry 1990; Seugnet et al. 1997).

Die E3-Ubiquitin-Ligasen Mind bomb 1 (Mib1) und Neuralized (Neur) ubiquitinieren die Liganden des Notch-Signalwegs (Lai et al. 2005; Lai et al. 2001; Le Borgne et al. 2005b; Itoh et al. 2003). Zusammen mit dem Epsin-Homolog Liquid facets (Lqf) dienen sie der Internalisierung von Dl und Ser und spielen so eine große Rolle bei der Aktivierung des Signalwegs (Overstreet et al. 2004; Wang und Struhl 2004; Wang and Struhl 2005). Der genaue Aktivierungsmechanismus ist allerdings unbekannt, sodass zwei Theorien entwickelt wurden. Das *Recycling*-Modell besagt, dass die Liganden von der Plasmamembran recycelt werden müssen, um aktivieren zu können (Wang und Struhl 2004; Wang und Struhl 2005). Das *pulling-force*-Modell hingegen legt nahe, dass durch die Endozytose des Liganden die gebundene extrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors mechanisch angehoben wird. Dadurch wird die S2-Schnittstelle freigelegt und es kommt im weiteren Verlauf zur Aktivierung des Signalwegs. Diese Theorie wird durch die beobachtete Transendozytose von NEXT zusammen mit Dl bestärkt (Parks et al. 2000; Windler und Bilder 2010).

1.2 Ubiquitinierung und die E3-Ubiquitin-Ligase Mib1

Die Ubiquitinierung der Liganden Dl und Ser vermittelt die Endozytose, die essentiell für die liganden-abhängige Aktivierung des Notch-Signalweges ist (Le Borgne et al. 2005a; Metzger et al. 2012). Die E3-Ubiquitin-Ligasen Mind bomb 1 (Mib1) und Neuralized (Neur) binden dabei direkt an die Liganden und ubiquitinieren sie (Lai et al. 2001; Lai et al. 2005; Le Borgne et al. 2005b; Itoh et al. 2003). Dieser Prozess wird kaskadenartig durch Ubiquitin-aktivierende Enzyme (E1), Ubiquitin-konjugierende Enzyme (E2) und Ubiquitin-ligierende Enzyme (E3) vermittelt (Lai et al. 2005; Willis et al. 2010; Metzger et al. 2012).

Die Ubiquitinierungskaskade beginnt mit dem Ubiquitin-aktivierenden Enzym (E1). Es bindet ein Ubiquitinmolekül unter Verbrauch von Adenosintriphosphat (ATP). In *Drosophila* ist bislang nur das Ubiquitin activating enzyme 1 (Uba1) bestätigt (Watts et al. 2003). Es wird allerdings vermutet, dass es noch ein bis zwei weitere E1-Enzyme gibt (Handley et al. 1991; McGrath et al. 1991).

Im Anschluss überträgt dann ein Ubiquitin-konjugierendes Enzym (E2) das Ubiquitin entweder auf eine E3-Ubiquitin-Ligase (E3; E3-Ub-Ligase) mit RING-Domäne, die das Ubiquitinmolekül anschließend auf das Substrat überträgt, oder mithilfe einer E3-Ubiquitin-Ligase mit HECT-Domäne direkt auf das Substrat (Metzger et al. 2012). Die Spezifität wird durch die E3-Ub-Ligasen erreicht (Deshaies und Joazeiro 2009).

In *Drosophila* sind 29 E2-Ligasen bekannt (van Wijk, Sjoerd J L und Timmers 2010; Bachelorarbeit Alpert 2012). Diese wurden bereits in einem RNAi-Screen in Bezug auf ihren Einfluss auf den Notch-Signalweg untersucht. Es sollte herausgefunden werden, welche E2-Ligase den Notch-Signalweg positiv oder negativ in der Flügelimaginalscheibe beziehungsweise dem adulten Flügel regulieren (Bachelorarbeit Alpert 2012). Dazu gehört unter anderem Effete (Eff). Es konnte gezeigt werden, dass Effete eine Rolle bei der Funktion des Telomers sowie im Zellzyklus und zur Aufrechterhaltung des Keimbahnstammzellschicksals spielt. Der Verlust von *eff* führt zur Bildung von Eikammern mit 32 Zellen (Chen et al. 2009; Lilly et al. 2000). Darüber hinaus führt die Expression von *eff*-RNAi zu einer Unterbrechung von *wg* an der d/v-Grenze (Bachelorarbeit Alpert 2012). Es wurde eine genetische Interaktion zwischen *neur* und *eff* aufgedeckt (Lai et al. 2001) sowie zwischen *mib1* und *eff* (Diplomarbeit Boxhammer 2012; Masterarbeit Schnute 2013). *eff* konnte zudem in Zusammenhang mit dem Notch-Signalweg gebracht werden, da es für die Regulation einer Notch-abhängigen Expressionsdomäne des sensitiven Reporters Gbe+Su(H)-lacZ im Notum verantwortlich ist (Masterarbeit Schnute 2013).

Mib1 gehört zu der Gruppe der E3-Ub-Ligasen mit RING-Domäne. Es befinden sich drei RING-Domänen C-terminal, von denen allerdings nur die letzte im Stande ist Ubiquitin zu übertragen (Lai et al. 2005). Zudem liegen im mittleren Bereich des Moleküls acht Ankyrin-Wiederholungen. N-terminal finden sich zwei Mib spezifische Domänen. Kürzlich veröffentlichte Daten belegen, dass sie für die spezifische Bindung an den murinen Liganden Jag1 (Homolog von Ser) notwendig sind (McMillan et al. 2015). Diese Domänen erkennen unabhängig voneinander zwei verschiedene Epitope im zytoplasmatischen Teil des Liganden (McMillan et al. 2015). Darüber hinaus

existiert dort ein ZZ-Zinkfinger-Motiv flankiert von zwei Mib/Herc2-Domänen. Ersteres dient vermutlich auch der Protein-Protein-Interaktion (Lai et al. 2005). Die Funktion von Mib1 ist hochkonserviert. Es existieren zwei humane Orthologe, MIND BOMB 1 und MIND BOMB 2. Mib2 wurde anhand von Sequenzähnlichkeiten auch in *Drosophila* gefunden (Itoh et al. 2003). Im Zebrafisch konnte gezeigt werden, dass Mib2 ebenfalls an der Ubiquitinierung und Endozytose von D1 beteiligt ist und so den Notch-Signalweg reguliert (Koo et al. 2005). Der Funktionsverlust von Mib1 führt zu *pharate adults*. Diese Tiere besitzen sehr stark verkleinerte Köpfe. Die Flügelimaginalscheiben dieser Tiere sind ebenfalls sehr viel kleiner als wildtypische Scheiben und weisen keine *wg*-Expression an der dorso-ventralen-Grenze auf. Die äußeren Ringe der *wg*-Expression sind Notch-unabhängig und entwickeln sich später zur Gelenkregion des Flügels (Lai et al. 2005). Darüber hinaus spielt Mib2 eine Rolle in der frühen Muskelentwicklung (Carrasco-Rando und Ruiz-Gómez 2008; Nguyen et al. 2007). Darüber hinaus existiert noch eine weitere E3-Ub-Ligase, Neuralized, die redundant zu Mib1 wirkt. Im Wildtyp ist *neur* ausschließlich in den SOPs (Lai et al. 2001). Trotzdem konnte gezeigt werden, dass die ektopische Expression von *neur* in *mib1*-mutanten Flügelimaginalscheiben zu einer *wg*-Expression an der dorso-ventralen Grenze führt (Lai et al. 2005; Le Borgne et al. 2005b).

Es ist bekannt, dass die Ubiquitinierung an Lysin-Resten in der intrazellulären Domäne der Liganden stattfindet. Dabei wird das Ubiquitinmolekül an Lysinreste gekoppelt (Übersicht in Pickart und Eddins 2004). Ein D1-Konstrukt, bei dem alle intrazellulären Lysine gegen Arginine ausgetauscht wurden, D1^{K2R}, zeigte eine Restaktivität abhängig von Mib1. Dies deutet auf die Fähigkeit von Mib1 hin, den Notch-Signalweg unabhängig von der Funktion der Ubiquitinierung zu aktivieren. Aufgrund dieser Ergebnisse sollte ein Modifier-Screen durchgeführt werden um neue Interaktionspartner von Mib1 zu finden (persönliche Kommunikation Kim, AG Klein).

1.3 Die Venenentwicklung im Flügel von *Drosophila melanogaster*

Das Gewebe in dem der Modifier-Screen durchgeführt werden sollte ist der Flügel von *Drosophila melanogaster*. Der Flügel ist sehr gut geeignet für Analysen, da es sich hierbei um eine externe Struktur handelt, die ohne großen Aufwand betrachtet werden kann. Darüber hinaus ist die Bildung des Flügels sehr gut untersucht. Im Zuge des Modifier Screens soll besonderes Augenmerk auf die Flügelvenen gelegt werden.

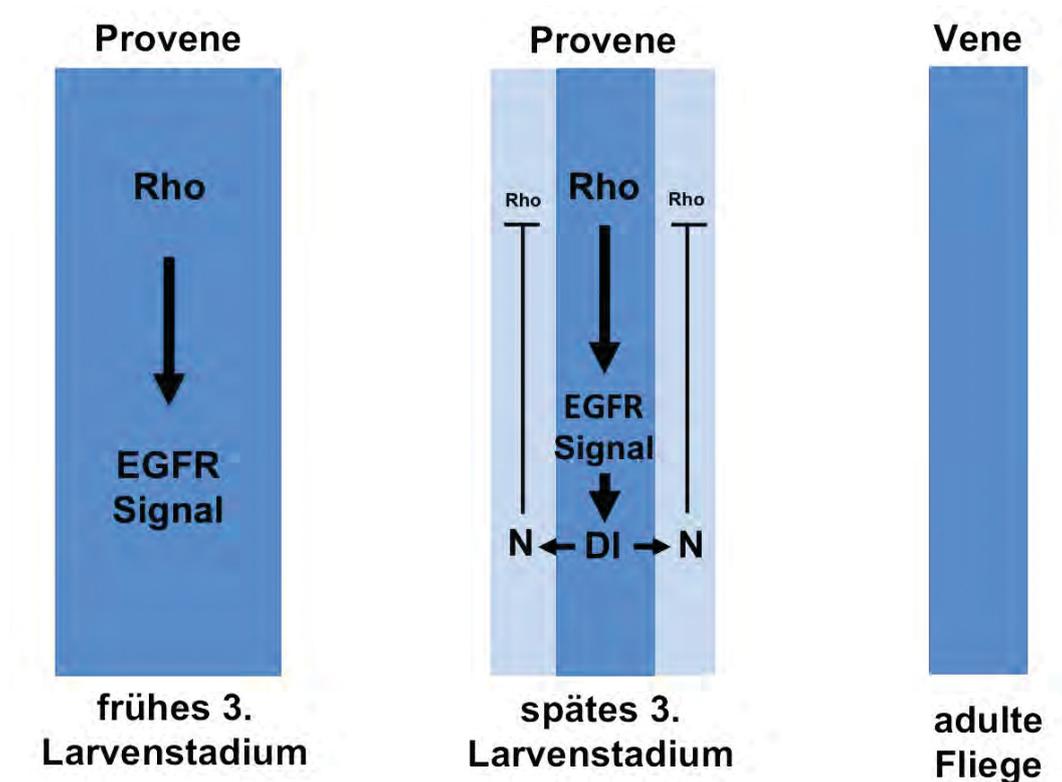


Abb. 1.2: Der Einfluss des Egfr- und N-Signalweges auf die Venenentwicklung im Flügel von *Drosophila melanogaster*. Im frühen dritten Larvenstadium kommt es zunächst zu Bereichen mit verstärkter *rho*-Expression. Rho aktiviert daraufhin den Egfr-Signalweg. Diese Bereiche sind relative breit und werden als Provenen bezeichnet. In der Mitte des dritten Larvenstadiums führt die Egfr-Aktivität zur Expression des Liganden *DI*. *DI* wiederum kann in den benachbarten Zellen den Notch-Signalweg anschalten. Notch sorgt dann über *E(spl)*-Proteine für eine Inhibierung der *rho*-Expression. Dadurch können diese Zellen nicht das venöse Schicksal einschlagen, sondern differenzieren zu intervenösem Gewebe. Dadurch werden die adulten Venen stereotyp angelegt (nach Blair 2007).

Das Venenmuster des Flügels ist stereotyp. Das bedeutet, dass es im wildtypischen Flügel immer gleich ist. Es gibt fünf Längsvenen (L1-L5) und zwei Quervernen (aK = anteriore Kreuzvene, pK = posteriore Kreuzvene). Die aK verbindet die L3 mit der L4 und die pK die L4 mit der L5. Die L1 ist kaum zu erkennen, da sie in direkter Verbindung mit dem Flügelrand steht (siehe Ergebnisse **Abb. 3.14A**).

An der Bildung dieses stereotypen Musters sind viele verschiedene Signalwege beteiligt: Der Dpp (Decapentaplegic) -, der Wnt/Wingless (Wg) -, der Hh (Hedgehog), der Egfr (Epidermal growth factor receptor) - und der Notch-Signalweg (Bier 2000; Garcia-Bellido und Celis 1992).

Der erste wichtige Schritt zur Etablierung der Venen ist die Anlage der Kompartimentsgrenzen. Für die Etablierung der d/v-Grenze (dorso-ventralen Grenze) ist der Notch-Signalweg verantwortlich und für die Bildung der a/p-Grenze (anterio-posterioren Grenze) der Hh-Signalweg. Der Dpp-Signalweg ist zusätzlich für die grobe Musterbildung des Flügels weiter entfernt der a/p-Grenze zuständig (Nellen et al. 1994).

Ist der Flügel einmal als Flügel determiniert müssen die einzelnen Zellen spezifiziert werden. So sorgt der Hh-Signalweg für die Positionierung der L3 und L4 (Biehs et al. 1998; Mullor et al. 1997). Der Dpp-Signalweg sorgt dann für die richtigen Abstand zwischen L2 und L5 (Spencer et al. 1982; Gelbart et al. 1985; Segal und Gelbart 1985). Um nun die Venen zu verfeinern sorgen der Egfr- und der Notch-Signalweg für die Unterscheidung zwischen Venen- und Zwischenvenengewebe. Zu Beginn des dritten Larvenstadiums bilden sich relativ breite Bereiche mit verstärkter *rhomboid* (*rho*)-Expression heraus, die sogenannten Provenen. Rho ist ein aktivierender Faktor des EGFR-Signalweges, indem es die Vorläufer der EGFR-Liganden schneidet (Sturtevant et al. 1993; Urban et al. 2002). Dementsprechend werden EGFR-Signale im Bereich der Provenen vermittelt, die zur Expression von *Dl* führen. *Dl* kann dann wiederum den Notch-Signalweg in den benachbarten Zellen anschalten. Der Notch-Signalweg wiederum unterdrückt die *rho*-Expression in diesem Bereich. Dadurch werden diese Bereiche mit Notch-Aktivität zu intervenösem Gewebe und die *Dl*-exprimierenden Zellen zu den finalen Flügelvenen determiniert (**Abb. 1.2**; Celis et al. 1997; Celis 1997, Übersicht in Blair 2007; Huppert et al. 1997).

1.4 Endozytose und der endosomale Transportweg

Mit Hilfe des endosomalen Transportweges lassen sich Transmembranproteine innerhalb der Zelle isoliert vom Zytoplasma bewegen. So lässt sich unter anderem das Gleichgewicht von Transmembranproteinen an der Plasmamembran mittels Recycling oder Degradation aufrechterhalten. Dadurch können Signalwege negativ reguliert werden (Übersicht in Zastrow und Sorkin 2007).

Bei der Endozytose wird die Plasmamembran in das Zytoplasma als Vesikel internalisiert werden. Dazu werden ubiquitinierte Transmembranproteine gesammelt und es kommt zur Einstülpung der Plasmamembran. An diesem Prozess sind diverse Proteine des Zytoskeletts beteiligt, sowie Adaptorproteine (AP2-Komplex), die eine Verbindung zur Plasmamembran herstellen (Doherty und McMahon 2009). Bei der Clathrin-abhängigen Endozytose wird das sich bildende Vesikel zur Stabilisierung von Clathrinmolekülen umhüllt (Le Roy und Wrana 2005). Die finale Abschnürung des Vesikels von der Plasmamembran wird durch das Dynamin Shbire vollendet (Übersicht in Le Borgne et al. 2005b; Mousavi et al. 2004). Im Anschluss löst sich Clathrin von den Vesikeln, sodass diese zum frühen Endosom fusionieren können (Übersicht in Trowbridge 1993; Mellman 1996).

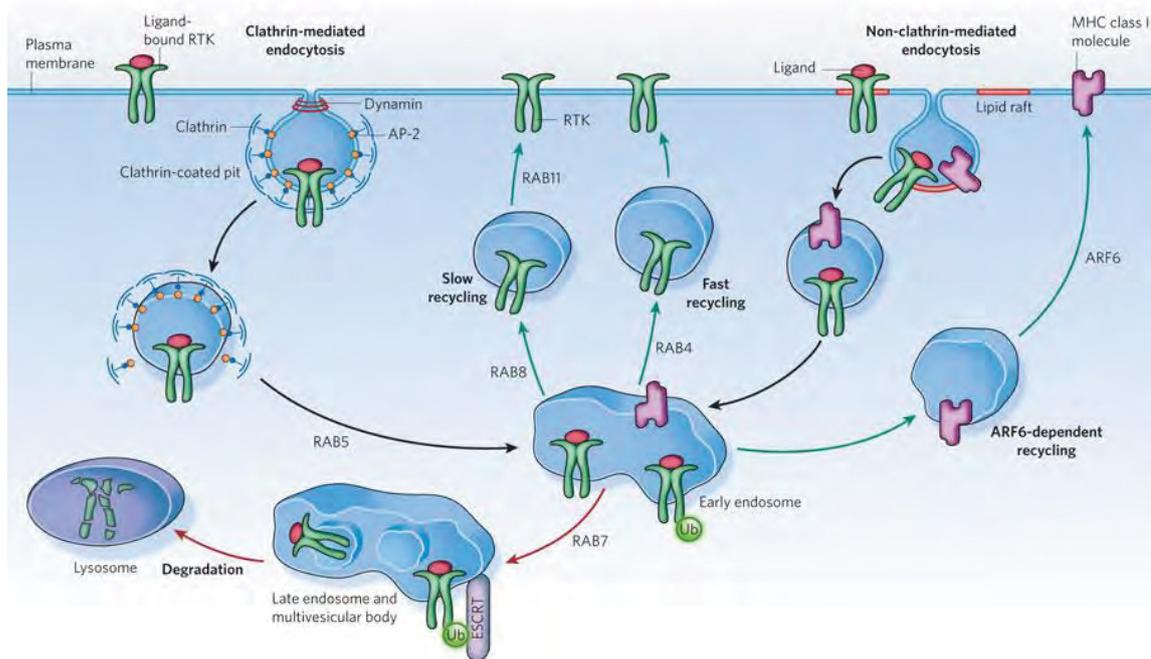


Abb. 1.3: Der endosomale Transportweg. Ubiquitin ist für die Zelle das Zeichen für Endozytose. Zunächst werden ubiquitinierte Transmembranproteine gesammelt und es kommt durch diverse Zytoskelettproteine und andere Adaptoren (AP2-Komplex) zur Einstülpung der Plasmamembran. Bei der Clathrin-abhängigen Endozytose wird das Vesikel von Clathrinmolekülen umhüllt, die die Vesikelbildung unterstützen. Die finale Abschnürung wird durch das Dynamin Shibile vollendet. Bei der Clathrin-unabhängigen Endozytose werden die Vesikel mit Hilfe von sogenannten *lipid rafts* und Molekülen des Myosin-Komplexes (MHC I) gebildet. Durch die kleine GTPase Rab5 fusionieren die Vesikel zum frühen Endosom. Von dort aus können Proteine zurück zur Plasmamembran recycelt werden oder sie werden durch Ubiquitin zum Abbau markiert. Der schnelle Recyclingpfad wird durch Rab4 vermittelt. Der langsame Recyclingpfad findet über Rab8 und Rab11 statt. Beim Abbau vermittelt die GTPase Rab7 die Reifung des Endosoms bis hin zur Fusion mit dem Lysosom. Zunächst werden intraluminal Vesikel (ILVs) gebildet, um Transmembranproteine vollständig vom Zytoplasma zu trennen. Dieser Vorgang wird von der ESCRT-Maschinerie (endosomal sorting complex required for transport) reguliert. Dieses Kompartiment wird auch als *multivesicular body* (MVB) bezeichnet. Das Lysosom beinhaltet diverse Proteasen und hat einen sehr niedrigen pH-Wert von 2. Nach der Fusion von Lysosom und MVB wird der Inhalt vollständig abgebaut. Die einzelnen Komponenten stehen dann wieder dem Zellstoffwechsel zur Verfügung (aus Scita und Di Fiore 2010).

Die Reifung des Endosoms wird durch Ras-ähnliche GTPasen vermittelt, die mit der Membran von Vesikeln assoziiert sind und deren Fusion kontrollieren (Zerial und McBride 2001). Sie können auch als Marker für die Stadien der Endosomen dienen (Übersicht in Markgraf et al. 2007). So ist das frühe Endosom mit Rab5 assoziiert. Vom frühen Endosom ausgehend besteht die Möglichkeit Proteine zurück zur Membran zu recyceln (Übersicht in Huotari und Helenius 2011). Dies wird vermittelt durch Rab4, Rab8 und Rab11. Kommt es nicht zum Recycling reift das Endosom weiter bis es aufgrund seiner Morphologie auch als *multivesicular body* (MVB) bezeichnet wird. Hier kommt es zu einer Konversion von Rab5 zu Rab7 (Rink et al. 2005; Yousefian et

al. 2013). Von der Endosomenmembran schnüren sich intraluminale Vesikel (ILV) ab. Dies ist zwingend notwendig um Transmembranproteine, beispielsweise aktive Rezeptoren, vollständig vom Zytoplasma zu trennen und somit ein weiteres Signalisieren zu unterbinden. Schlussendlich fusioniert das MVB mit dem Lysosom. Durch den niedrigen pH-Wert und bestimmte Enzyme im Inneren des Lysosoms kommt es zum Abbau des MVB-Inhaltes (**Abb. 1.3**; Mayor et al. 1993; Übersicht in Scita und Di Fiore 2010). Der Abbau von aktivierten Rezeptormolekülen ist überaus wichtig um die Abschaltung von Signalwegen zu gewährleisten. Es kann sonst zur unkontrollierten Aktivierung von Signalwegen kommen (Jékely und Rørth 2003; Vaccari und Bilder 2005)

Für die Bildung von intraluminale Vesikeln ist der ESCRT-Komplex (endosomal sorting complex required for transport) verantwortlich (Wollert und Hurley 2010). Dabei handelt es sich um zytosolische Proteinkomplexe, die für die Einstülpung und Abschnürung von vesikulären Membranen verantwortlich sind. Dieser konservierte Mechanismus ist wichtig für den endosomalen Transport, die Regulierung von Membranrezeptoren, Autophagie, Zellteilung und für die Freisetzung von Viren, wie HIV (Ravikumar et al. 1989; Übersicht in Saksena und Emr 2009).

Die ESCRT-Maschinerie ist in vier multimeren Komplexen organisiert: ESCRT-0, ESCRT-I, ESCRT-II und ESCRT-III. Diese Komplexe binden der Reihe nach an ubiquitinierte Proteine und an die Membran von Vesikeln. ESCRT-0 sorgt für eine Akkumulation dieser Proteine in einem Bereich der Vesikelmembran, indem sowohl monoubiquitinierte Proteine und Clathrin als auch spezifische Phospholipide (PI(3)P) der frühen Endosomenmembran gebunden werden (Raiborg et al. 2001; Burd und Emr 1998; Komada und Soriano 1999). Tsg101 des ESCRT-I-Komplexes wird dann durch Hrs rekrutiert. ESCRT-I ist ebenfalls in der Lage ubiquitinierte Proteine zu binden (Gill et al. 2007). Die ESCRT-II-Komponenten werden mittels Bindung von Vps28 und Vps36 rekrutiert (Teo et al. 2004; Hierro et al. 2004). Es kommt immer mehr zu einer Einstülpung der endosomalen Membran. Im Anschluss wird ESCRT-III über die Interaktion von Vps25 mit Vps20 an die endosomale Membran gebunden. Durch diese Interaktion wird erst die Komplexbildung von ESCRT-III initiiert. Während die ESCRT-Komplexe 0-II als multimeren Komplexe im Zytoplasma vorliegen polymerisiert ESCRT-III erst an der Plasmamembran (Katzmann et al. 2001; Babst et al. 2002). Im Zytoplasma liegen die einzelnen Komponenten monomer vor (Babst et al. 2002; Saksena et al. 2009).

Alle Komponenten des ESCRT-III-Komplexes haben einen ähnlichen Aufbau (Muzioł et al. 2006). Sie sind N-terminal aus einer basischen *core*-Region, die aus vier α -Helices besteht, aufgebaut. C-terminal bestehen sie aus einer sauren autoinhibitorischen Region mit einer α -Helix und einer MIR (*MIT-interacting-region*)-Domäne (Scott et al. 2005). Im Zytoplasma liegen sie in einer geschlossenen Konformation vor, indem das autoinhibitorische Ende an die *core*-Region bindet. Nachdem sie an die Membran rekrutiert wurden kommt es zu einer Konformationsänderung in die offene Form und sie polymerisieren (Zamborlini et al. 2006). Die ESCRT-III-Untereinheit Shrub (Snf7, CHMP4) bildet lange Filamente um den Hals des eingestülpten Vesikels und es kommt zur Abschnürung (Übersicht in Wollert und Hurley 2010). Die ATPase Vps4 sorgt dann unter Energieverbrauch für die Ablösung der ESCRT-Komponenten von der Membran des Endosoms, wodurch sie wieder für die Bildung von weiteren ILVs zur Verfügung stehen (Babst et al. 1998).

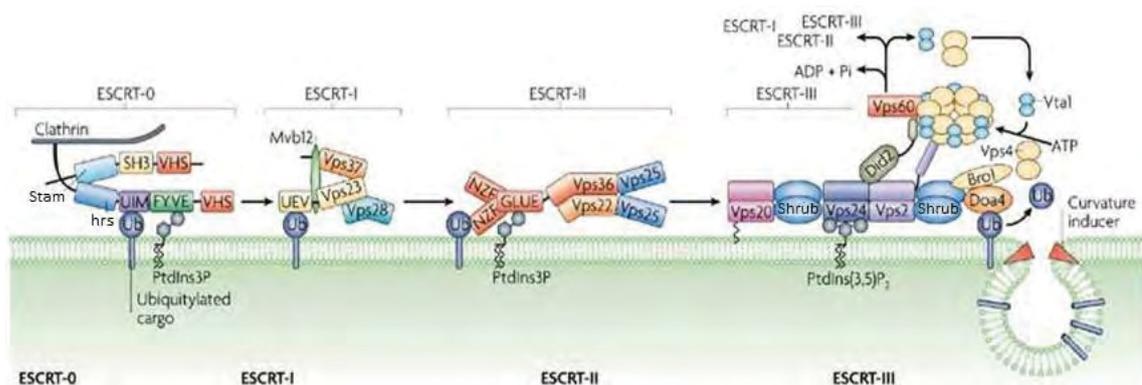


Abb. 1.4: Die ESCRT-Maschinerie. Die ESCRT-Maschinerie ist verantwortlich für die Bildung von intraluminalen Vesikeln während der Reifung von Endosomen im endosomal Transportweg. Der ESCRT-0-Komplex besteht aus den Komponenten Hrs (Hepatocyte growth factor regulated tyrosine kinase substrate; Vps27) und Stam (Signal transducing adaptor molecule; Hse1). Diese binden an die Membran des Endosoms und erkennen ubiquitinierte Proteine. Dadurch werden Proteine in einem Bereich der Membran gesammelt. ESCRT-I wird rekrutiert und die Einwölbung der Membran beginnt. Die Proteine des ESCRT-II-Komplexes verstärken diesen Effekt weiter bis sich die Membran zu einem großen Teil eingestülpt hat. Am Hals des Vesikels bildet der ESCRT-III-Komplex eine filamentartige Struktur. Dafür ist hauptsächlich die Komponente Shrub (Snf7, CHMP4) verantwortlich. Dieses Filament zieht sich zu und schnürt so das Vesikel von der Membran ab. Die Energie für diesen Prozess stellt die ATPase Vps4 bereit. Zusammen mit Vta1 und Chmp5 (Vps60) kommt es dann zur Ablösung der ESCRT-Komponenten von der Membran, sodass diese wieder zur freien Verfügung stehen (nach Williams und Urbé 2007).

Der Verlust von *shrub* und einigen anderen ESCRT-Komponenten führt zur Akkumulation von Transmembranproteinen in reifenden Endosomen (Morawa et al. 2015; Schneider et al. 2013; Troost et al. 2012). Dies ist auf die fehlerhafte Bildung von ILVs zurückzuführen, wodurch Transmembranproteine an der endosomal Membran

zurück bleiben. Aktivierte Signalmoleküle können dann weiter signalisieren und ektopisch Signalwege anschalten. Dadurch kommt es zur Entartung von Zellen und Bildung von tumorösem Gewebe. Häufig kommt es auch zur vermehrten Apoptose der betroffenen Zellen und zu einer starken Überproliferation in benachbartem Gewebe (Li und Cohen 1996; Moberg et al. 2005; Vaccari und Bilder 2005; Thompson et al. 2005). Darüber hinaus ist *shrub* an der Neurodegeneration beteiligt. In *Drosophila* wurde *shrub* in einem genetischen Screen identifiziert bei dem nach Genen gesucht wurde, die an der Dendritenentwicklung beteiligt sind. Ein vollständiger Verlust der *shrub*-Funktion führt zur embryonalen Letalität (Gao et al. 1999; Sweeney et al. 2006).

1.5 Die Oogenese bei *Drosophila melanogaster*

Die paarig angelegten Ovarien liegen im Abdomen der weiblichen Tiere. Jedes Ovar besteht aus 16-20 Ovariolschläuchen von denen jeder Ovariolschlauch mehrere Eikammern in unterschiedlichen Entwicklungsstadien enthält. Die Eikammern werden ausgehend vom Germarium gebildet und können anhand morphologischer Kriterien in 14 verschiedene Stadien eingeteilt werden (Horne-Badovinac und Bilder 2005).

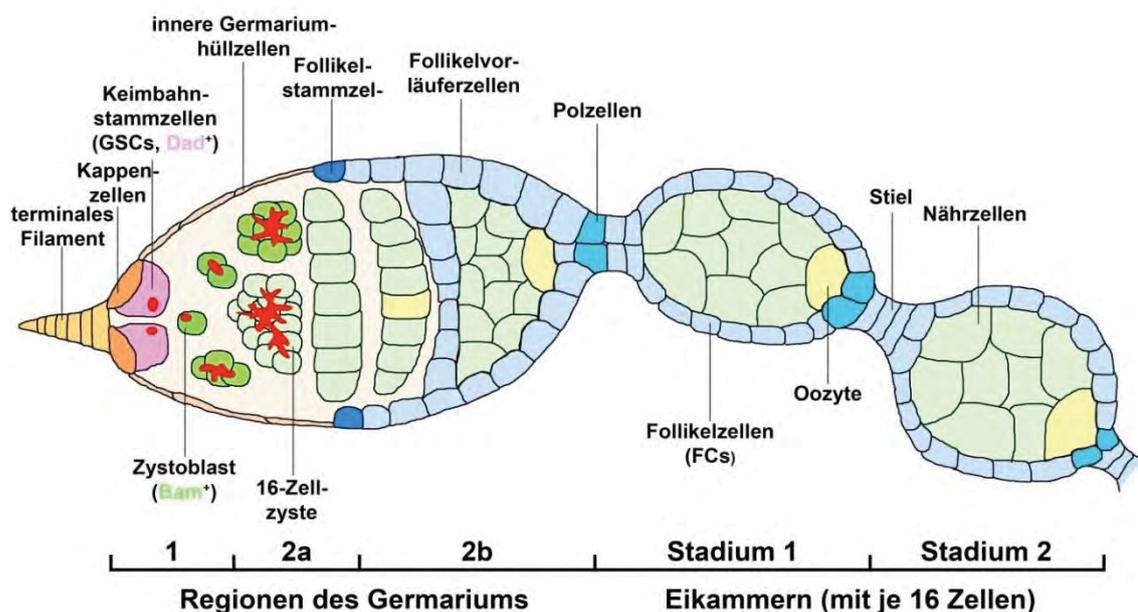


Abb. 1.5: Die Oogenese in *Drosophila melanogaster*. Ein Ovariolschlauch besteht aus Eikammern in verschiedenen Reifestadien. Diese Stadien können anhand von morphologischen Kriterien bestimmt werden. Im anterioren Bereich befindet sich das Germarium in dem auch die Stammzellen lokalisiert sind. Das Germarium ist in drei Bereiche unterteilt. In Region 1 sind die Keimbahnstammzellen (germline stem cells, GSCs; rosa) lokalisiert. Sie werden über das terminale Filament (beige) und die Kappenzellen (orange) mit Signalen versorgt, die ihr Stammzellschicksal aufrechterhalten. Da an diesem Prozess hauptsächlich der Dpp-Signalweg beteiligt ist, zeichnen sie sich durch die Expression des Dpp-Zielgens *daughters against Dpp* (*dad*) aus. Das Spektrosom (rot) ist spezifisch für die GSC. Die GSC teilt sich asymmetrisch in eine weitere GSC und eine Tochterzelle, die sich zum Zystoblasten (grün) entwickelt.

Der Zystoblast beginnt sich zu differenzieren und exprimiert nun das Gen *bag of marbles* (*bam*). Er teilt sich vier Mal, sodass eine 16-Zellzyste (*mint*) entsteht. Durch diese unvollständigen Teilungen entstehen *Fusome* (*rot*), spezifisch für die mehrzelligen Zysten sind. Dies geschieht in Region 2a. In Region 2b differenziert sich die am weitesten posterior gelegene Zelle zur Oozyte (*gelb*) und die übrigen Zystzellen zu Nährzellen (*mint*). Beim Austritt aus dem Germarium werden diese 16 Zellen von einem einschichtigen Follikelepithel (*hellblau*) umhüllt. Die Follikelstammzellen (*follicle stem cells*, *FSCs*; *dunkelblau*) sitzen an der Grenze zwischen Region 2a und 2b. Dieses Gebilde wird dann als Eikammer bezeichnet. Zwischen den einzelnen Eikammern sitzen Stielzellen, die die Eikammern verbinden.

Die Eikammer wird von zwei Stammzelltypen gebildet. An der anterioren Spitze des Germariums befinden sich zwei bis drei Keimbahnstammzellen (*germline stem cells*, *GSCs*) (**Abb. 1.5**). Diese sind von sogenannten Kappenzellen (*cap cells*, *CCs*) umgeben. Ein wichtiges Signal, dass das Stammzellschicksal aufrecht erhält ist *Decapentaplegic* (*Dpp*), der Ligand des *Dpp*-Signalweges (Song et al. 2004; Xie und Spradling 2000). Außerdem hat er Anteil an der Achsenbildung im frühen Embryo (Übersicht in Hamaratoglu et al. 2014). Darüber hinaus kommt es durch ihn zur Ausbildung von anterior und posterior während der Musterbildung in der Flügelimaginalscheibe (Strigini und Cohen 1997; Sturtevant et al. 1997). Dieser Signalweg ist hochkonserviert und wird in Säugern als *TGFβ*-Signalweg (*transforming growth factor β*) bezeichnet. Dort wird er mit Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Immunabwehr in Verbindung gebracht (Letterio und Roberts 1998).

Bei *Dpp* handelt es sich um ein Morphogen. Es gehört zu der Gruppe der *BMPs* (*bone morphogenetic proteins*) (Nellen et al. 1996). Von den Kappenzellen aus gelangt der Ligand in die Nische um die Keimbahnstammzellen (*GSCs*) herum. Die *GSCs* nehmen das Signal wahr, indem der Ligand *Dpp* an den Typ-II-Rezeptor *Punt* bindet, wodurch er mit dem Typ-I-Rezeptor *Thickveins* (*Tkv*) einen Rezeptor-Komplex bildet (Wrana et al. 1992; Brummel et al. 1994; Nellen et al. 1994; Xie et al. 1994). Dadurch wird ein Inhibitor verdrängt, der die Phosphorylierungsstelle für *Mothers against Dpp* (*Mad*) besetzt. Im Anschluss können sich die Rezeptoren des Komplexes gegenseitig phosphorylieren und befinden sich nun in ihrer aktiven Form (Wrana et al. 1994). Dieser aktive Rezeptorkomplex phosphoryliert den Signaltransduktor *Mad* wodurch aus ihm *pMad* (*phosphoryliertes Mad*) wird. *pMad* bindet dann an *Medea* (*Med*) und beide bilden zusammen einen Transkriptionsfaktor-Komplex, durch den Zielgene transkribiert werden können (**Abb. 1.6**; Macías-Silva et al. 1996; Newfeld et al. 1997; Inoue et al. 1998). Ein bedeutendes Zielgen des *Dpp*-Signalweges ist *daughters against Dpp* (*dad*). Es wird in den Keimbahnstammzellen und teilweise in den frühen Zystoblasten

exprimiert. In der Keimbahn wird *dad* nur dort exprimiert wo die Transkription des Gens *bag of marbels (bam)* unterdrückt ist. Die Expression von *bam* wird verhindert, indem die Transkriptionsfaktoren Mad/Medea an das *Silencer*-Element von *bam* binden (Chen und McKearin 2003; Song et al. 2004; Jiang et al. 2008). Bam ist für die Differenzierung von der Keimbahnstammzelle zum Zystoblasten verantwortlich. Durch das Zusammenspiel von Bam und dem Dpp-Signalweg wird das Stammzellschicksal der Keimbahnstammzellen aufrechterhalten. Kontrolliert wird dieser gesamte Prozess durch die Konzentration des Liganden Dpp. Die GSCs bleiben nur bei sehr hohen Dpp-Konzentrationen erhalten (Übersicht in Spradling et al. 2008). Die Tochterzelle differenziert bereits zum Zystoblasten, da die Konzentration von Dpp zu gering ist um die *bam*-Expression zu verhindern (Chen und McKearin 2003). Der Translationsregulator Bam vermittelt dann die Differenzierung über den Zystoblasten hin zur Zyste (**Abb. 1.6**, Übersicht in Harris und Ashe 2011).

Diese scharfe Grenze von nur einer Zelle in der die *bam*-Expression unterdrückt wird kann nicht alleine durch den diffusionsbedingten Konzentrationsgradienten von Dpp geregelt werden. Zusätzlich existiert ein negativer Rückkopplungsprozess, der den Abbau des Rezeptors Tkv reguliert. Eine geringere Konzentration an Dpp sorgt für weniger Aktivität der Rezeptoren, wodurch weniger pMad entsteht. pMad hat die Fähigkeit die Serin/Threonin-Kinase Fused (Fu) zu inhibieren. Darüber hinaus sorgt Dad, das als inhibitorisches Smad fungiert, auch noch dafür, dass weniger Mad phosphoryliert wird (Tsuneizumi et al. 1997). Liegt in einer Zelle eine gewisse Konzentration von pMad unterhalb eines Schwellenwertes vor, wird Fused nicht mehr ausreichend degradiert und kann einen Komplex mit der E3-Ubiquitin-Ligase Smurf bilden. Dieser Komplex ubiquitiniert dann die aktivierte Form des Tkv-Rezeptors und markiert ihn so für den Abbau. Der Mechanismus wird weiter verstärkt, so dass eine Alles-oder-Nichts-Situation entsteht (**Abb. 1.6**; Narbonne-Reveau et al. 2006; Xia et al. 2010; Xia et al. 2012). Ein Ausfall der Kinase *fused* führt zu Eikammern mit zusätzlichen Zellen (Narbonne-Reveau et al. 2006).

Nachdem sich die GSC asymmetrisch in eine Keimbahnstammzelle und eine Tochterzelle geteilt hat und letztere zum Zystoblasten (cystoblast; CB) differenziert ist, durchläuft sie vier mitotische Teilungen. Es entsteht eine Zyste aus 16 Zellen, die über sogenannte Ringkanäle miteinander verbunden bleiben (Cuevas et al. 1997; Spradling et al. 1997). Die Ringkanäle werden durch Spectrin stabilisiert. Dabei handelt es sich um ein Protein des Zytoskeletts. In den Keimbahnstammzellen bildet es das sogenannte

Spektrosom, welches eine runde Form hat. Da es in den Zysten zu einer unvollständigen Zellteilung kommt wird dieses Gebilde in die Länge gezogen und spaltet sich auf. Ab diesem Stadium wird es Fusom genannt (Spradling et al. 1997; Cuevas et al. 1997; Lin et al. 1994).

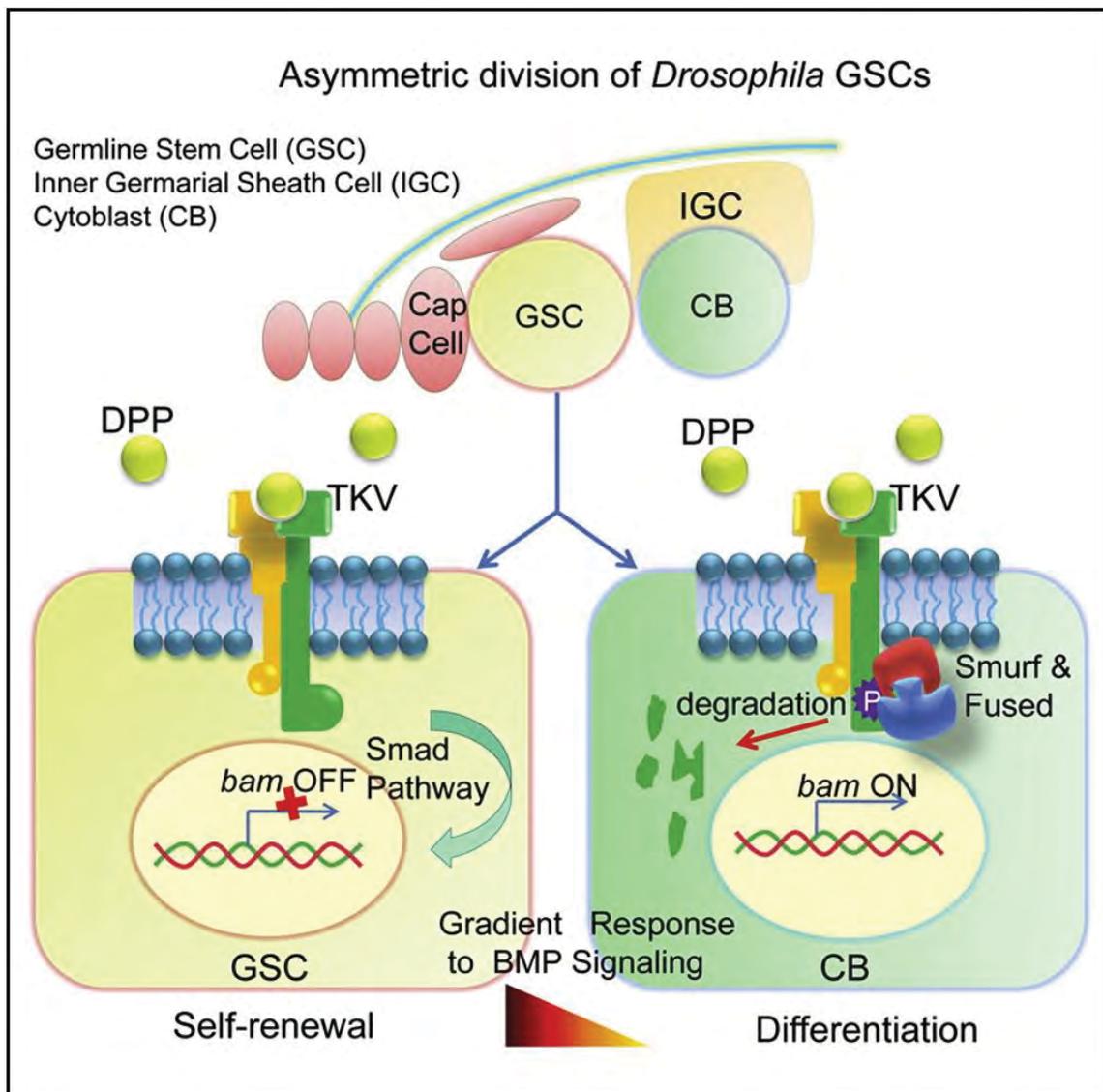


Abb. 1.6: Der Dpp-Signalweg während der asymmetrischen Zellteilung in den Keimbahnstammzellen von *Drosophila*. Der Ligand Dpp wird von den Kappenzellen in den Intrazellulärraum um die GSCs sekretiert. Dpp bindet an den Typ-II-Rezeptor Punt (gelb), der daraufhin einen Rezeptorkomplex mit dem Typ-I-Rezeptor Tkv (grün) bildet. Dadurch kann Mad phosphoryliert werden und eine Verbindung mit Medea eingehen. Gemeinsam sorgen sie für die Transkription von Zielgenen. Unter anderem wird die Transkription vom *bam* unterdrückt, wodurch wiederum die Expression von *dad* nicht weiter unterdrückt wird. *Dad* ist demnach in den GSCs vorhanden. Nimmt das Dpp-Signal ab kann sich der Fused/Smurf-Komplex bilden. Dieser sorgt spezifisch für die Degradation von aktivierten Tkv-Rezeptormolekülen. Dementsprechend wird das Dpp-Signal noch drastischer herunterreguliert. Der Smad-Signalweg wird nicht angeschaltet und die Expression von *bam* wird nicht länger inhibiert. *Bam* schaltet schließlich in den Zytoblasten die Differenzierung an (aus Xia et al. 2010).

Die am weitesten posterior gelegene von diesen Zellen differenziert weiter zur Oozyte und die anderen 15 Zellen werden zu Nährzellen (nurse cells; NCs). Während der Zellteilung interagiert Cyclin A (CycA) direkt mit Cyclin-abhängigen Kinasen, um den Zellzyklus zu regulieren (Knoblich et al. 1994). Sie initiiert und komplettiert die DNA-Replikation während der S-Phase und verhindert, dass mehr als eine DNA-Kopie entsteht. In der G-Phase transloziert CycA an die Pole der mitotischen Spindel (Bergman et al. 2015). Die Expression ist am Ende der S-Phase und nahezu während der gesamten G₂-Phase besonders hoch, da CycA eine entscheidende Rolle bei dem Wechsel von S- zur G₂-Phase spielt (Sprenger et al. 1997; Dong et al. 1997; Sallé et al. 2012). Dementsprechend ist CycA ein geeigneter Marker, um Zellen anzuzeigen die sich in der Zellteilung befinden.

Beim Austritt aus dem Germarium wird die Zyste vom sogenannten Follikelepithel umhüllt und bildet eine für sich abgeschlossene Eikammer. Das Follikelepithel entsteht aus somatischen Stammzellen. Zwei bis drei von diesen sind an der Grenze zwischen den Regionen 2a und 2b des Germariums lokalisiert. Diese teilen sich auch asymmetrisch in eine Stammzelle und eine Follikelvorläuferzelle. Die Follikelvorläuferzellen bilden Follikelzellen, die sich zum Follikelepithel differenzieren (**Abb. 1.5**). Das Follikelepithel umhüllt die einzelnen Eikammern und degeneriert am Ende der Eientwicklung zur Vitellinmembran, die das Chorion abscheidet und das Ei vor Umwelteinflüssen schützen soll. In der weiteren Entwicklung spielt Dpp erst wieder ab Stadium 9 eine Rolle. Dort wird Dad exprimiert, um die Differenzierung des Embryos in Dorsal und Ventral einzuleiten (Nellen et al. 1994).

Die einzelnen Eikammern sind über Stiele verbunden. Für deren Bildung ist unter anderem der Notch-Signalweg zuständig (Morawa et al. 2015; Struhl und Basler 1993; Larkin et al. 1996; Schneider und Markus Hubertus 2012). Das Stadium in dem sich eine Eikammer befindet kann mittels morphologischer Kriterien bestimmt werden. Eikammern die sich in Stadium 6/7 befinden wechseln vom Mitosezyklus in den Endozyklus. Der Notch-Signalweg induziert diesen M/E-Switch. Im Anschluss wird das Zielgen *hindsight (hnt)* im Follikelepithel exprimiert (Sun und Deng 2005; Schneider und Markus Hubertus 2012).

1.6 Das Tumorsuppressorgen *lethal (2) giant discs*

Lgd wurde erstmals 1971 von Bryant und Schubiger analysiert. Ein Funktionsverlust von Lgd in *Drosophila* führt in erster Linie zu einer Vergrößerung aller

Imaginalscheiben. Diese massive Überproliferation wird durch die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges bedingt (Bryant et al. 1993; Bryant und Schubiger 1971; Childress et al. 2006; Jaekel und Klein 2006). Des Weiteren kommt es zu einer verlängerten larvalen Phase und zu einer frühen pupalen Letalität (Jaekel und Klein 2006; Klein 2003; Troost et al. 2012). In einer *lgd*-hypomorphen Situation sterben die Fliegen als *pharate adults*. Sie zeigen einen Verlust von Mikro- und Makrochaeten, da die Vorläuferzellen lediglich zu Sockelzellen differenzieren. Darüber hinaus entstehen zusätzliche Beingelenke und Flügeldefekte. All diese phänotypischen Veränderungen lassen sich auf die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges zurückführen (Jaekel und Klein 2006; Bishop et al. 1999; Celis und Bray 2000).

Lgd gehört zu einer Proteinfamilie, die durch zwei Arten von Domänen definiert ist. Dabei handelt es sich um eine C2- und vier DM14-Domänen. Die DM14-Domänen wurde erstmals in einem *in-silico* Screen für neuartige Proteindomänen entdeckt (Ponting et al. 2001). Die Interaktion mit der ESCRT-III-Komponente Shrub findet vermutlich über zwei der vier DM14-Domänen statt (Troost et al. 2012). Die C-terminale C2-Domäne hingegen ist für die korrekte subzelluläre Lokalisation verantwortlich (Troost et al. 2012). Darüber hinaus dient diese Domäne in einigen Proteinen der Bindung von Proteinen an Membranen über Phospholipide (Gallagher und Knoblich 2006) und kann außerdem Protein-Protein-Interaktionen vermitteln (Benes et al. 2005).

Lgd ist hochkonserviert, da es im gesamten Tierreich vom Schleimpilz bis zum Menschen vorkommt (Jaekel und Klein 2006; Gallagher und Knoblich 2006). In Vertebraten existieren zwei Orthologe, Lgd1 (hLgd1, CC2D1B, Freud-2) und Lgd2 (hLgd2, CC2D1A, Freud-1, Aki) (Jaekel und Klein 2006). Das humane Lgd1 ist dabei strukturell sehr ähnlich zum *Drosophila*-Lgd, während hLgd2 einen verlängerten C-Terminus besitzt. Auch die Funktion scheint konserviert zu sein, da die Expression von murinen Orthologen, sowie humanen Orthologen den *lgd*-mutanten Phänotyp zumindest teilweise retten kann (Jaekel und Klein 2006; Dissertation Schulz 2015) Für diese Orthologe sind diverse Funktionen beschrieben wie Aktivierung des NF- κ B-Signalweges, Regulation der Transkription des Serotonin-1A-Rezeptors, Funktion im EGF-abhängigen PDK1/Akt-Signalweg und eine Rolle während der Zellteilung (Matsuda et al. 2003; Ou et al. 2003; Zhao et al. 2010; Nakamura et al. 2008).

Die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges in *lgd*-mutanten Zellen ist unabhängig von den Liganden Dl und Ser, allerdings sind die Fusion mit dem Lysosom

und die Aktivität des γ -Secretase-Komplexes weiterhin notwendig. Darüber hinaus konnten sehr große Rab5- und Rab7-positive Endosomen beobachtet werden, in denen komplette Notch-Rezeptoren akkumulieren (Jaekel und Klein 2006).

Da gezeigt werden konnte, dass Lgd direkt über seine DM14-Domänen mit der ESCRT-III-Komponente Shrub interagiert und es zu einem Defekt im endosomalen Transportweg kommt, wird vermutet, dass Lgd für die korrekte Funktion von Shrub gebraucht wird (Troost et al. 2012; Schneider et al. 2013).

Die bis dato gewonnenen Erkenntnisse weisen darauf hin, dass es in *lgd*-mutanten Zellen zu einer normalen Biogenese von MVBs kommt, aber einige MVBs eine verlängerte Reifung durchlaufen und vergrößert sind. Obwohl ILVs beobachtet werden konnten ist nicht auszuschließen, dass einige Notch-Rezeptoren nicht richtig in ILVs verpackt werden und an der limitierenden Membran der Endosomen zurückbleiben (Schneider et al. 2013). Dadurch wären Rezeptoren weiterhin in Kontakt mit dem Zytoplasma. Es wird vermutet, dass Lgd Shrub in seiner geschlossenen Konformation hält bevor es an das Endosom gelangt. Normalerweise bildet Shrub nicht im Zytoplasma Filamente, sondern erst am Hals des Vesikels, sodass es am Endosom ILVs abschnüren kann (Übersicht in Jouvenet 2012; Babst et al. 2002; Lin et al. 2005; Tang et al. 2015). Es konnte gezeigt werden, dass die Fusion des MVB mit dem Lysosom zwingend notwendig für die ektopische Aktivierung von N ist (Schneider et al. 2013). Vermutlich wird nach der Fusion mit dem Lysosom die Konformation der extrazellulären Domäne von Notch verändert, sodass der S3-Schnitt stattfinden kann. Die NICD wird frei und gelangt in den Kern. Zielgene, wie *wg* an der d/v-Grenze oder *hnt* in den SOPs und dem Follikelepithel, werden ektopisch aktiviert (**Abb. 1.7**; Schneider et al. 2013; Jaekel und Klein 2006).

Erstmals wurden die Effekte des Funktionsverlustes von Lgd während der Oogenese 1991 von Szabad et al. untersucht. Es wurden vermehrte Keimzellen in einigen Eikammern beobachtet, allerdings keine Veränderungen im Follikelepithel (Szabad et al. 1991).

Eine genauere Analyse des *lgd*-Funktionsverlustes während der Oogenese wurde mittels klonaler Analyse in mutantem Follikelepithel und Keimbahngewebe durchgeführt (Morawa et al. 2015; Schneider et al. 2013).

Zunächst wurden *lgd*-mutante Zellklone im Follikelepithel betrachtet. Dabei konnte gezeigt werden, dass es zu einer Verlängerung der Stiele zwischen den Eikammern kommt. Dies ist vermutlich bedingt durch eine ektopische Aktivierung des Notch-

Signalweges, welche bereits ab der frühen Oogenese ektopisch beobachtbar ist (Larkin et al. 1996; Assa-Kunik et al. 2007; Schneider und Markus Hubertus 2012). Darüber hinaus treten die Follikelzellen bereits ab Stadium 5 in den Endozyklus ein, was zu einer verfrühten Expression des Notch-Zielgens *hindsight (hnt)* und vergrößerten Follikelzellen im Vergleich zu wildtypischem Nachbargewebe führt (Schneider und Markus Hubertus 2012). Außerdem wird das Dpp-Reportergen *dad-lacZ* ektopisch, aber Notch-unabhängig im Follikelepithel exprimiert (Schneider und Markus Hubertus 2012).

Ähnlich, wie aus der Flügelimaginalscheibe bekannt, führt der Verlust von *lgd* zu einer Akkumulation von Notch-positiven Vesikeln, die als reifende Endosomen identifiziert werden konnten. Die verstärkte Akkumulation von Notch in reifenden Endosomen und die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges kann auch bei dem Verlust von Mitgliedern der ESCRT-Komplexe I, II und III beobachtet werden. Der ektopische Aktivierung von Notch bedarf im Fall von *lgd*-mutanten Follikelzellen die Fusion mit dem Lysosom. Im Gegensatz dazu ist dies bei dem Verlust der ESCRT-III-Komponente *shrub* nicht der Fall (Schneider und Markus Hubertus 2012).

Die Analyse des Funktionsverlustes von *lgd* in der Keimbahn zeigte, dass einige Eikammern 32 Zellen enthalten anstatt wildtypischen 16 Zellen (Eikenes et al. 2015; Morawa et al. 2015; Matias et al. 2015). Dabei liegt dies nicht an einem Verpackungsdefekt, sondern vermutlich an einer zusätzlichen Mitose (Schneider und Markus Hubertus 2012; Morawa et al. 2015; Matias et al. 2015). Darüber hinaus konnte, wie im Follikelepithel, eine ektopische Expression des Reportergens *dad-lacZ* beobachtet werden. Dieser Phänotyp ist, ebenso wie die überzähligen Zellen pro Eikammer, unabhängig vom Notch-Signalweg. Auch in diesem Gewebetyp konnte eine Akkumulation von Transmembranproteinen, wie Dl und Notch, beobachtet werden (Schneider und Markus Hubertus 2012; Morawa et al. 2015).

Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass die ektopische Expression des *dad-lacZ*-Reporters sowohl in der Keimbahn als auch im Follikelepithel abhängig vom Dpp-Signalweg ist. Die zellautonome Aktivierung weist dabei auf einen Liganden-unabhängigen Prozess hin. Fraglich war, ob sich die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges auch auf der Ebene des Rezeptors abspielt, wie im Falle von Notch. Ein Abbaufekt des Tkv-Rezeptors im Follikelepithel konnte mittels Antikörperfärbung nicht nachgewiesen werden. In der Keimbahn konnte erst ab Stadium 4 eine Akkumulation des Tkv-Rezeptors beobachtet werden. Allerdings konnte gezeigt

werden, dass die Fusion mit dem Lysosom für die Aktivierung des Dpp-Signalweges nicht notwendig ist (Masterarbeit Morawa 2012). Letztlich wurde beobachtet, dass die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges verantwortlich ist für die vermehrte Keimzellzahl in den Eikammern. Die Analyse des Verlustes von ESCRT-Komponenten zeigte, dass diese ebenfalls die Keimzellanzahl beeinflussen (Masterarbeit Morawa 2012).

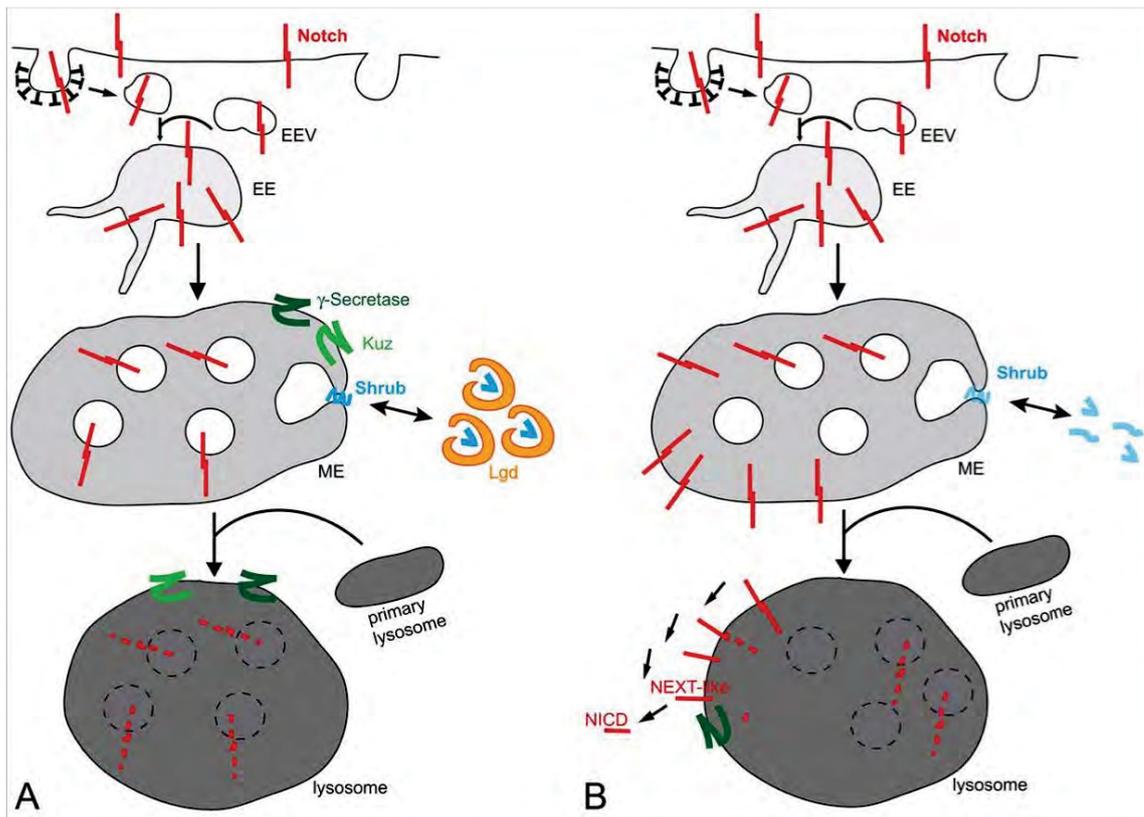


Abb. 1.7: Model der Lgd-Funktion. (A) In wildtypischen Zellen werden nicht-aktivierte Notch-Rezeptor regelmäßig von der Plasmamembran endozytiert. Dies dient der Aufrechterhaltung eines Gleichgewichts. Die frühen endozytotischen Vesikel (early endocytic vesicle, EEV) fusionieren zum frühen Endosomen (early endosome, EE). Von hier können Rezeptoren auch zurück zur Plasmamembran recycelt werden. Damit die Rezeptoren, die zum Abbau bestimmt sind, vollständig vom Zytoplasma getrennt werden kommt es zur Bildung von intraluminalen Vesikeln. Diese entstehen mit Hilfe der ESCRT-Maschinerie, allen voraus der ESCRT-III-Komponente Shrub. Ab diesem Zeitpunkt wird das reifende Endosom (maturing endosome; ME) aufgrund seiner Morphologie auch *multi vesicular body* (MVB) genannt. Damit der Inhalt des ME abgebaut werden kann kommt es zur Fusion mit dem Lysosom (vgl. Kapitel 1.3). (B) In *lgd*-mutanten Zellen der Flügelimaginalscheibe kommt es vermutlich bei der Bildung von ILVs zu Defekten. Es wird vermutet, dass Lgd für die korrekte Funktion von Shrub verantwortlich ist. Fehlt Lgd kommt es zu einem Verpackungsdefekt. In der Folge können nicht alle Notch-Rezeptoren in ILVs verpackt werden. Kommt es dann zu der Fusion mit dem Lysosom bedingt der niedrige pH eine Konformationsänderung der extrazellulären Domäne von Notch. Im Anschluss kann die γ -Secretase schneiden und NICD wird frei. NICD transloziert in den Zellkern und aktiviert Zielgene (Schneider et al. 2013).

1.7 Ziele der Arbeit

Ein Ziel dieser Arbeit war, basierend auf vorherigen Ergebnissen eine weiterführende Analyse des Tumorsuppressorgens *lgd* während der Oogenese von *Drosophila* vorzunehmen.

Die bisherigen Untersuchungen führten bereits zu der Beobachtung, dass die ektopische Expression des Dpp-Reporters *dad-lacZ* Notch-unabhängig, aber Dpp-abhängig zustande kommt. Darüber hinaus ist die Aktivierung des Dpp-Signalweges in *lgd*-mutanten Zellen nicht abhängig von der Fusion mit dem Lysosom. Um den ektopischen Aktivierungsmechanismus des Tkv-Rezeptors aufzudecken wurden Experimente mit der E3-Ligase Fused durchgeführt. Darüber hinaus konnte bereits die Akkumulation von Transmembranproteinen, wie Notch, in reifenden Endosomen beobachtet werden. Für Tkv, den Typ-I-Rezeptor des Dpp-Signalweges, konnte nur in der späten Keimbahn eine Akkumulation festgestellt werden. Deshalb sollte in dieser Arbeit der Akkumulationsdefekt mittels des Reporterkonstrukt Tkv-YFP untersucht werden. Des Weiteren ist der Dpp-Signalweg verantwortlich für die Bildung von Eikammern mit 32 Zellen. Es soll geklärt werden wie *lgd* über den Dpp-Signalweg einen Einfluss auf den Zellzyklus hat, sodass es zu einer zusätzlichen Mitose kommt.

Im zweiten Projekt dieser Arbeit sollte ein Modifier-Screen durchgeführt werden um neue Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase Mind bomb 1 zu finden. Zuvor konnten bereits 105 der insgesamt 462 Defizienzen des *Bloomington Deficiency Kits* analysiert werden. Zunächst sollte der Modifier-Screen zu Ende geführt werden. Anschließend sollten die Defizienzen verkleinert werden, um schließlich die einzelnen Kandidatengene zu identifizieren. Von diesen Kandidatengenen sollte ein Interaktionsnetzwerk erstellt werden. *In silico* Analysen sollten anschließend Hinweise auf Prozesse liefern an denen die potenziellen Interaktoren und Mind bomb 1 beteiligt sind. Des Weiteren sollten Mutanten einzelner Kandidaten erzeugt und näher untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Chemikalien

Sofern nicht anders vermerkt, wurden Chemikalien von den Firmen Sigma Aldrich, Merck und Roth bezogen.

Ausnahmen sind DNA-Standard 1 kb GenRuler (Fermentas), Normales Ziegen Serum (normal goat serum, NGS) (Jackson Immuno Research) und Vectashield H-1000 (Vector Laboratories).

2.1.2 Verwendete Fliegenstämme

Folgende Fliegenstämme wurden in dieser Arbeit verwendet:

Tab. 2.1: Liste der in dieser Arbeit verwendeten Fliegenstämme.

verwendete Fliegenstämme	
UAS- <i>mib1</i> ;+/+;C5-Gal4 (Modifier Stamm)	hergestellt von Soya Kim
UAS- <i>mib1</i> ;UAS- <i>Dcr2</i> /+;C5-Gal4	hergestellt in dieser Arbeit
<i>Bloomington Deficiency Kit</i> (Stand 25.02.2011)	Bloomington Drosophila Stock Center (Kap. 9.1.1, Tab. 9.1)
Verkleinerte Defizienzen	Bloomington Drosophila Stock Center (Kap. 9.1.2, Tab. 9.2)
Allele (Kandidatengen)	Bloomington Drosophila Stock Center (Kap. 9.1.3, Tab. 9.3)
RNAi-Linien (Kandidatengen)	VDRC (Kap. 9.1.4, Tab. 9.4)
<i>w</i> ¹¹¹⁸ (<i>w</i>)	Stammsammlung AG Klein
<i>w</i> ;lf/CyO ^{wg-lacZ} /MKRS/TM6b (MB)	Frank Sprenger, CyO ^{wg-lacZ} : (Kassis et al. 1992)
<i>w</i> ;Tkv-YFP/CyO ^{wg-lacZ} .MKRS/TM6b	Tobias Troost, Tkv-YFP: Kyoto Stock Center
<i>w</i> ;lgd ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	(Jaekel und Klein 2006)
<i>w</i> ;lgd ^{d7} ;Tkv-YFP/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	(Masterarbeit Morawa 2012)
hsFlp ^{1.22} ;His-RFP FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	Stammsammlung AG Klein
hsFlp ^{1.22} ;His-RFP FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;dad-lacZ/TM6b	(Masterarbeit Morawa 2012)
N-YFP;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	Stammsammlung AG Klein
<i>w</i> ;lgd ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;Df ^{rev10} 82B/TM6b	Stammsammlung AG Klein
hsFlp ^{1.22} ;His-RFP FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;GFP FRT82B/TM6b	Stammsammlung AG Klein
N-YFP;lgd ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	Stammsammlung AG Klein
<i>w</i> ;shrub ⁴⁻¹ FRTG13/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	(Sweeney et al. 2006)
<i>w</i> ;shrub ⁴⁻¹ FRTG13/CyO ^{wg-lacZ} ;dad-lacZ/TM6b	Stammsammlung AG Klein
<i>w</i> ;shrub ⁴⁻¹ FRTG13;lgd ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ}	Nadja Ohlenhard

<i>lacZ</i> ;MKRS/TM6b	
w; <i>shrub</i> ⁴⁻¹ FRTG13, <i>lgd</i> ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-} <i>lacZ</i> ;Dad- <i>lacZ</i> /TM6b	hergestellt in dieser Arbeit
w; <i>lf</i> /CyO ^{wg-lacZ} ;dad- <i>lacZ</i> /TM6b	(Casanueva und Ferguson 2004)
w; <i>lf</i> /CyO ^{wg-lacZ} ;Bam-GFP/TM6b	zur Verfügung gestellt von Masahiko Takemura (Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe, Japan)
w; <i>lgd</i> ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;Bam-GFP/TM6b	hergestellt in dieser Arbeit
<i>fu</i> ^{1/+} ;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	(Nüsslein-Volhard und Wieschaus 1980)
w; <i>tkv</i> ^{a12} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;Bam-GFP/TM6b	(Terracol und Lengyel 1994)
<i>fu</i> ^{1/+} ;l <i>gd</i> ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	hergestellt in dieser Arbeit
w;l <i>gd</i> ^{RSK83a} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	(Jaekel und Klein 2006)
w;l <i>gd</i> ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;l <i>gdP</i> /l <i>gd</i> -RFP/TM6b	(Troost et al. 2012)
w; <i>Dmon1</i> ^{mut4} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;dad- <i>lacZ</i> /TM6b	hergestellt in dieser Arbeit (<i>Dmon1</i> ^{mut4} aus Yousefian et al. 2013)
w; <i>Dmon1</i> ^{mut4} ,l <i>gd</i> ^{d7} FRT40A/CyO ^{wg-lacZ} ;dad- <i>lacZ</i> /TM6b	hergestellt in dieser Arbeit
w; <i>dpp</i> ^{d10} /CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	zur Verfügung gestellt von Hugo Bellen; (Segal und Gelbart 1985)
w; <i>dpp</i> ^{d12} /CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	zur Verfügung gestellt von Hugo Bellen; (Segal und Gelbart 1985)
<i>dx</i> ^{ENU} /+;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	Stammsammlung AG Klein
w; <i>aph-1</i> ^{D35} /CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	Stammsammlung AG Klein
w; <i>kuz</i> ^{ES24} /CyO ^{wg-lacZ} ;MKRS/TM6b	Stammsammlung AG Klein
w;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;mib1 ² /TM6b	Stammsammlung AG Klein (Lai et al. 2005)
w;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;Dl ^{rev10} /TM6b	(Micchelli et al. 1997)
w;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;H ^{E31} /TM6b	Stammsammlung AG Klein
w;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;Ser ^{Rx106} /TM6b	Stammsammlung AG Klein
w;lf/CyO ^{wg-lacZ} ;CG11714 ¹⁵ /TM6b	hergestellt in dieser Arbeit
<i>SkpA</i> ¹ ;+/+;+/+	(Phuong Thao et al. 2006)

2.1.3 Software

Word (Microsoft), Citavi 5.2.0.8 (Swiss Academic Software GmbH), Photoshop CS5 (Adobe), Cytoscape (Cytoscape Consortium)

2.1.4 Datenbanken

Zur *in silico* und Interaktionsanalyse, sowie zur Bestellung von Fliegenstämmen und RNAi-Linien wurden folgende Datenbanken verwendet:

Tab. 2.2: In dieser Arbeit verwendete Datenbanken.

Datenbank	Link
NCBI Pubmed	pubmed.com (Stand 05.01.2015)
Flybase	flybase.org (Stand 05.01.2015)
Bloomington Drosophila Stock Center	flystocks.bio.indiana.edu (Stand 05.01.2015)
Vienna Drosophila Resource Center (VDRC)	stockcenter.vdrc.at (Stand 05.01.2015)
BioGRID	thebiogrid.org (Stand 05.01.2015)
DPiM	interfly.med.harvard.edu (Stand 05.01.2015)
Droid	droidb.org (Stand 05.01.2015)
InterlogFinder	interologfinder.org (Stand 05.01.2015)
Signalink	signalink.org (Stand 05.01.2015)
Esemble	ensembl.org (Stand 05.01.2015)

2.2 Methoden

2.2.1 Anzucht und Haltung von Fliegen der Gattung *Drosophila melanogaster*

Die in dieser Arbeit verwendeten Fliegen wurden in zylindrischen Röhrchen auf einer geeigneten Menge Futtermedium gehalten und vermehrt. Die langfristige Haltung der Fliegen fand in der Regel auf 18 °C statt. Dazu wurden die Fliegen circa alle vier Wochen auf neue Röhrchen umgesetzt. Kreuzungen zwischen jungfräulichen Weibchen und beliebig alten Männchen wurden in einem Verhältnis von 4:1 angesetzt. Im Anschluss wurden diese auf 25 °C herangezogen. Fliegen in denen RNAi-Konstrukte (**Kapitel 2.2.2**) exprimiert werden sollten wurden auf 29 °C in einem Wärmeschrank (Function line) der Firma Heraeus gehalten.

Die tägliche Fliegenarbeit wurde mit Hilfe des Binokular Stemi DRC (Zeiss Germany) durchgeführt.

Futtermedium

100 g Agar-Agar, 190 g Sojamehl, 336 g Trockenhefe, 900 g Malzextrakt, 800 g Rübensirup, 1424 g Maisschrot, 90 ml Propionsäure, 30 g Nipaginpulver

2.2.2 RNA-Interferenz

RNA-Interferenz (RNAi) ist ein natürlicher Mechanismus in eukaryotischen Zellen um bestimmte Gene posttranslational herunterzuregulieren. Die RNAi wird exprimiert und bildet ein doppelsträngiges RNA-Molekül. Dieses wird von dem zelleigenen Enzym Dicer in kurze Stücke geschnitten. Diese kurzen doppelsträngigen RNA-Stücke erkennt der Risc-Komplex und entfernt einen RNA-Strang. Die übrigen kurzen einzelsträngigen RNA-Stücke lagern sich dann an die ebenfalls einzelsträngige komplementäre mRNA (*messenger RNA*) an. Dies führt zum Abbau der mRNA.

RNAi-Konstrukte wurden in dieser Arbeit ausschließlich unter dem UAS-Promotor exprimiert (**Kapitel 2.2.3**). Zusätzlich wurde Dicer2 exprimiert, um die Effizienz der RNAi zu erhöhen. Außerdem wurden Fliegen in denen RNAi-Konstrukte exprimiert wurden auf 29 °C in einem Wärmeschrank (Function line) der Firma Heraeus gehalten. Alle RNAi-Linien wurden bei VDRC geordert.

2.2.3 Das Gal4/UAS-System

Das Gal4/UAS-System stammt ursprünglich aus *E. coli* und dient dort als Expressionssystem. Bei Gal4 handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor, der an die UAS-Sequenz (*upstream activating sequence*) binden kann. Dadurch werden Gene oder

Konstrukte, die der UAS nachgeschaltet sind, exprimiert. Gängig ist, dass ein Fliegenstamm das Gal4 unter einem gewünschten Promotor trägt (z.B. *C5-Gal4*) und ein anderer UAS mit einem nach geschalteten Zielgen (z. B. *UAS-mib1*). Kreuzt man beide Stämme kommt es in der Regel zu einer massiven Überexpression in der F1 Generation. Dieses System lässt sich durch den Gal4-Inhibitor Gal80 ergänzen.

2.2.4 Das FLP/FRT-System

Das FLP/FRT-System basiert auf dem Mechanismus der mitotischen Rekombination und wird in *Drosophila* genutzt um Mosaikgewebe zu erzeugen. Ansonsten letale Mutationen können so im Umfeld von wildtypischem beziehungsweise heterozygot-mutantem Gewebe untersucht werden.

Die Flippase (eine Rekombinase) kann die FRT-Sequenz auf den Chromosomen erkennen und dort die mitotische Rekombination einleiten. Kommt es zum Austausch von nicht-Schwesterchromatiden können die Chromosomen bei der Zellteilung so aufgeteilt werden, dass die eine Tochterzelle zwei Chromosomen mit einer Mutation erhält und die andere einen Chromosomensatz mit einem integrierten Marker. Dadurch ist das mutante Gewebe negativ markiert und das übrige Gewebe lässt sich durch einen Marker, wie GFP oder HisRFP, zuordnen.

2.2.5 Antikörperfärbungen an Ovarien von *Drosophila melanogaster*

Die adulten Fliegen wurden zunächst mit CO₂ betäubt und dann einzeln in ein schwarzes Blockschälchen mit PBS überführt. Die Ovarien wurden aus dem Abdomen der Fliegen herauspräpariert und in ein 2 ml Reaktionsgefäß mit 1x PBS überführt, welches zuvor kurz mit 5 %igem NGS ausgespült wurde um das Anhaften der Ovarien an den Rand des Gefäßes zu vermeiden.

Die gesamte Färbung fand zur gleichmäßigen Verteilung der Lösungen einem Taumler (HeidolphPolymax 2040) statt. Zunächst wurden die Ovarien für 10 min in 4 %igem PFA. Nach zwei Waschsritten á 10 min mit 0,3 %igem PBT wurden die unspezifischen Bindestellen für Antikörper für 1 h mit 5%igem NGS blockiert. Dabei wurde die vorherige Lösung jeweils vorsichtig unter Drehbewegungen mit einer 1 ml-Pipette abgesaugt und die neue Lösung hinzupipettiert. Nach dem Blockschritt wurden die Ovarien mit bis zu zwei verschiedenen primären Antikörpern gleichzeitig für 90 min bei RT (Raumtemperatur) oder über Nacht bei 4 C° inkubiert. Nach drei weiteren Waschsritten á 10 min mit 0,3% PBT wurde mit den sekundären Antikörpern inkubiert. Im Anschluss wurde noch einmal für 10 min mit 0,3% PBT gewaschen und

danach für 4 min mit Hoechst gefärbt, um die Zellkerne sichtbar zu machen. Nach zwei weiteren Waschschritten á 10 min war die Färbung beendet und die Ovarien wurden in PBS gelagert. Während der Färbung wurden die Präparate auf einem Taumler konstant bewegt.

Im Anschluss wurden die einzelnen Ovariolschläuche in einem Blockschälchen mit PBS vorsichtig voneinander getrennt und auf einen Objektträger überführt. Das Präparat wurde dann mit einem Tropfen *Vectashield* (*Vector Laboratories*) benetzt und mit einem Deckglas abgedeckt.

Die weitere Analyse erfolgte dann am Axio Imager Z1 mit Apotom (Zeiss) mit dem Programm Axio Vision SE64 Rel. 4.8 (Zeiss).

Tab. 2.3: Primäre und sekundäre Antikörper, die für Färbungen an Ovarien verwendet wurden.

primäre Antikörper (in 5 % NGS)			
anti-CycA	Maus	1:5	DSHB
anti-Spec	Maus	1:20	DSHB
anti-Hnt	Maus	1:50	DSHB
anti-Nextra	Maus	1:100	DSHB
anti-DI	Maus	1:100	DSHB
anti-Tkv	Kaninchen	1:500	zur Verfügung gestellt von A. Nakamura
anti-Rab7	Kaninchen	1:500	abcam
anti-β-Gal	Kaninchen	1:1500	Cappel
sekundäre Antikörper (in 5 % NGS)			
A488	Ziege	1:500	Invitrogen
A568	Ziege	1:500	Invitrogen
A647	Ziege	1:500	Invitrogen
A488	Ziege	1:500	Invitrogen
A568	Ziege	1:500	Invitrogen
A647	Ziege	1:500	Invitrogen

1x PBS (phosphate-buffered saline)

137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO

4 % PFA (Paraformaldehyd)

PFA in 1x PBS

0,3 % PBT

0,3 % Triton X 100 in 1x PBS

5 % NGS (normal goat serum)

5 % NGS in 0,3 % PBT

Hoechst # 33258

1:100 vorverdünnt in dH₂O und 1:100 eingesetzt in 0,3 % PBT

2.2.6 Präparation von Flügeln von *Drosophila melanogaster*

Adulte Fliegen wurden bis auf weiteres in 1 ml Methanol in einem 2 ml Reaktionsgefäß gesammelt. Zur Präparation wurden die Fliegen in ein durchsichtiges 3er Blockschälchen mit Methanol überführt. Die Flügel wurden an der Gelenkregion vom Thorax abgetrennt und in einer freien Vertiefung des Blockschälchens gelagert. Dort konnte das Methanol kurz verdampfen. Anschließend wurden die Flügel auf einen Objektträger mit vorgelegtem Hoyersmedium überführt und mit einem Deckglas abgedeckt. Luftblasen wurden mit dem stumpfen Ende der Pinzette vorsichtig herausgestrichen. Die Objektträger wurden dann über Nacht auf einer Heizplatte bei 65 °C beschwert, damit das Hoyersmedium aushärten konnte. Die Präparate sind unbegrenzt haltbar.

Aufnahmen wurden dann mittels AxioCam MRc am Axiophot mit dem Programm Axio Vision SE64 Rel. 4.8 (Zeiss) durchgeführt.

Hoyersmedium (50 ml)

30 g Gummi Arabicum, 200g Chlorhydrat, 20 ml Glycerol, 1:1 mit Milchsäure versetzt

2.2.7 Rekombination

Die Rekombination ist eine genetische Methode, bei der zwei Allele oder Konstrukte, die auf verschiedenen Schwesterchromosomen liegen, auf ein und dasselbe Chromosom lokalisiert werden. Dabei wird sich der natürliche Mechanismus der mitotischen Rekombination zunutze gemacht. Es kann während der Mitose zur Überlagerung (*crossing over*) von zwei nicht-Schwesterchromatiden kommen. Dabei werden möglicherweise Chromosomenstücke ausgetauscht. Je weiter die Gene voneinander entfernt sind, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit eines Austausches.

Damit dieses Ereignis zustande kommen kann sind drei Kreuzungen notwendig. Zunächst müssen Fliegen entstehen, die beide Chromosomen, die ausgetauscht werden sollen, erhalten. Danach kreuzt man die Weibchen mit dem richtigen Genotyp gegen Multi-Balancer (MB), da nur in den Weibchen die mitotische Rekombination stattfinden kann. Die männlichen Nachkommen, die das potenzielle Ereignis in ihrer Keimbahn tragen werden einzeln abermals gegen MB gekreuzt. Es werden Männchen verwendet, da hier keine Rekombination stattfindet und so das Ereignis fixiert bleibt.

Der Erfolg eines Rekombinationsereignisses kann mittels eines Komplementationstests oder Markern festgestellt werden.

2.2.8 Jump-Out – Herstellung von Mutanten mittels Mobilisation eines P-Elements

Die Mobilisation von P-Elementen stellt eine genetische Methode zur Mutation von Genen dar. Dabei wird das P-Element aus dem Gen herausgelöst. In einigen Fällen geschieht dies unpräzise und es kommt zur Deletion von DNA-Sequenzen.

Der Stamm 19181, dem das P-Element P{XP} im dritten Exon inseriert ist wurde zunächst gegen den Stamm $\Delta 2-3$ gekreuzt. $\Delta 2-3$ kodiert eine Transposase, die in der Lage ist die *inverted repeats* des P-Elements zu erkennen und es so zu mobilisieren. Fliegen, die sowohl P-Element als auch D2-3 tragen wurden gegen MB-Fliegen gekreuzt, wodurch es in der Keimbahn zur Mobilisation des P-Elementes kommt. Dies lässt sich mittels mini-white-Markierung des P-Elements in den Augen verfolgen. Die weiß-äugigen Nachkommen dieser Kreuzung wurden dann einzeln gegen MB-Fliegen gekreuzt, um das Einzelereignis zu vermehren.

Im Anschluss wurden diese Stämme auf mögliche Mutationen hin untersucht.

2.2.9 Isolierung genomischer DNA aus Fliegen

Zur Isolierung von genomischer DNA aus Fliegen wurden zunächst einzelne Fliegen in 1,5 ml Reaktionsgefäßen bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Später wurde die Fliege mit der Pipettenspitze zerdrückt und langsam 50 μl Squishingbuffer (mit 1 μl Proteinase K) hinzugegeben. Anschließend wurde bei $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 25 min inkubiert. Zu Inaktivierung der Proteinase K wurde die Probe für 2 min auf $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhitzt.

Squishingbuffer

10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 25 mM NaCl \rightarrow pH 8,2

2.2.10 DNA-Konzentrationsbestimmung

Die Konzentration sowie die Reinheit der Proben wurden mittels des NanoDrop 2000c (Peqlab) ermittelt. Dazu wurde 1 μl der Flüssigkeit aufgetragen, in der die DNA gelöst wurde, um eine Referenz zu erzeugen. Danach wurde je 1 μl der Proben aufgetragen. Die optimale Reinheit für DNA liegt bei 1,8-2,0. Niedrigere Werte sprechen für Verunreinigungen mit Proteinen.

2.2.11 *single fly* Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die PCR dient der Vermehrung von spezifischen DNA-Sequenzen. Es wurde 1 µl der gewonnenen genomischen DNA zur Durchführung der PCR eingesetzt. Die Zusammensetzung des PCR-Ansatzes ist in **Tab. 2.5** und das verwendete PCR-Programm in **Tab. 2.6** dargestellt. Die PCR wurde im Thermocycler (peqSTAR, Peqlab) durchgeführt.

Tab. 2.4: Zusammensetzung des PCR-Ansatzes.

PCR-Ansatz	
genomische DNA	1 µl
forward Primer	1 µl
reverse Primer	1 µl
dNTPs	0,5 µl
One Taq Polymerase (NEB)	0,5 µl
One Taq Puffer (NEB)	10 µl
dH ₂ O	36 µl

Tab. 2.5: Das verwendete PCR-Programm.

PCR-Programm			
heat lid		110 °C	
Initiale Denaturierung		94 °C	3 min
35 Zyklen	Denaturierung	94 °C	30 s
	Anlagerung	55 °C	30 s
	Verlängerung	68 °C	2:15 min (1 min pro kb)
Finale Verlängerung		68 °C	2 min

Tab. 2.6: Für PCR und Sequenzierung verwendete Primer (Oligonukleotide).

Primer (Oligonukleotide)	
CG11714 forward 1	cgccaagaactgcgttacggccaaagatg
CG11714 reverse 1	gctgactgtgatgacgcgacctcgc
CG11714 forward 2	gaggcagatcgttccgtctgctg
CG11714 reverse 2	cttcgcaatccagagtacgtccaattc
CG11714 forward 3	gatactctgattcgctctgtgagttg
CG11714 reverse 3	cgagatatagtcagtaagtgtgatc
CG11714 forward 4	cgtcgggaaaactggatgcgcttg
CG11714 reverse 4	ggcgctccgaggagttcatcgc

2.2.12 DNA-Gelelektrophorese und Gelextraktion

Die Gelelektrophorese dient der Auftrennung von DNA-Fragmenten ihrer Größe nach. Dazu wurden 1 %ige Agarosegele (0,7 µg/ml EtBr) verwendet. Das Gel wurde dazu in einer Laufkammer platziert und mit 1x TAE Laufpuffer bedeckt. Nach geeigneter Auftrennung konnten die DNA-Banden mittels UV-Licht in der Geldokumentationskammer (Quantum-Systems) betrachtet und Aufnahmen gemacht werden.

Zur weiteren Verwendung wurden DNA-Fragmente aus dem Gel ausgeschnitten und mit Hilfe des NucleoSpin[®] Gel and PCR Clean-up Gelextraktions Kit (Macherey-Nagel) aufgereinigt. Dabei wurde die DNA in 20 µl 10 mM Tris-HCl pH 8,5 eluiert.

50x TAE (für 1 Liter, Laufpuffer für DNA-Gelelektrophorese)

242 g Tris, 57,1 ml Eisessig, 100 ml EDTA (0,5 M); pH 8 mit Eisessig einstellen.

6x Ladepuffer

10 mM Tris-HCl (pH 7,6), 0,03 % Bromphenolblau, 0,03 % Xylenecyanol FF, 60 % Glycerol, 60 mM EDTA

2.2.13 Sequenzierungen

Genomische DNA von Fliegen, die eine Verschiebung im Bandenmuster zeigten, wurde sequenziert. Der Sequenzierungsansatz bestand aus circa 140 ng DNA und 20 pmol eines Primers. Schließlich wurde auf 15 µl mit dH₂O aufgefüllt. Je ein Ansatz pro Primer wurde dann an die Firma *Seqlab* (Göttingen) übermittelt, die dann die Sequenzierung durchführten. Nach einem Werktag konnten die Sequenzen vom Server (seqlab.de) heruntergeladen und mit dem Programm Sequence Viewer 6 (CLCbio) ausgewertet werden.

3 Ergebnisse

3.1 Analyse des Tumorsuppressorgens *lethal (2) giant discs* während der Oogenese von *Drosophila melanogaster*

Die Analyse der Funktion des Tumorsuppressorgens *lethal (2) giant discs (lgd)* während der Entwicklung der Flügelimaginalscheibe deckte die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges durch fehlerhafte Degradation des Notch-Rezeptors auf (Troost et al. 2012; Schneider et al. 2013). Um zu überprüfen, ob es sich dabei um einen gewebespezifischen Prozess handelt, sollte *lgd* auch in anderen Geweben, wie dem Follikelepithel und der Keimbahn untersucht werden. Aus diesem Grund wurden zunächst Experimente zum Notch-Signalweg durchgeführt. Um den Einfluss von *lgd* auf andere Signalwege zu überprüfen wurde im weiteren Verlauf der Dpp-Signalweg untersucht.

3.1.1 Analyse der Transendozytose des Notch-Rezeptors durch seinen Liganden Delta in der Keimbahn

In vorherigen Experimenten konnte gezeigt werden, dass der Verlust der *lgd*-Funktion in der Keimbahn zu einer ektopischen Expression des Dpp-Reporters *dad-lacZ* und zu einer Verdoppelung der Keimzellanzahl führt (Morawa et al. 2015; Matias et al. 2015; Eikenes et al. 2015; Schneider und Markus Hubertus 2012). Dieser Phänotyp ist unabhängig vom Notch-Signalweg und abhängig vom Dpp-Signalweg. Darüber hinaus konnte beobachtet werden, dass es zu einer starken Akkumulation der extrazellulären Domäne von Notch (**Abb. 3.3C''-C'''**, **3.1C''**), sowie des *protein traps* Notch-YFP kommt (Morawa et al. 2015; Morawa 2012, Schneider und Markus Hubertus 2012, 2012).

Eine Expression von Notch-Zielgenen innerhalb der Keimbahn wurde bislang nicht beobachtet. Somit ist es verwunderlich, dass Notch in der Keimbahn vorhanden ist, obwohl dieser Signalweg keine Funktion dort zu haben scheint. Aus diesem Grunde sollte überprüft werden, ob Notch in der Keimbahn exprimiert wird oder auf andere Weise in die Keimbahn gelangt. Eine solche Möglichkeit wäre die Transendozytose durch seinen Liganden Delta, der nachweislich aus der Keimbahn in das Follikelepithel signalisiert (López-Schier und St Johnston 2001). Die Anwesenheit von N_{extra} kann besonders gut im *lgd*-mutanten Hintergrund untersucht werden, da es hier zu einer starken Akkumulation in Vesikeln kommt (**Abb. 3.3C''-C'''**, **3.1C''**). Um nun die

Theorie der Transendozytose zu überprüfen wurden *lgd^{d7}*, *DI^{rev10}*-doppelmutante Zellklone erzeugt. Es konnten keine *N_{extra}*-positiven Vesikel mehr beobachtet werden (Abb. 3.1C-C''). Das bedeutet, dass ohne DI kein N in der Keimbahn zu finden ist.

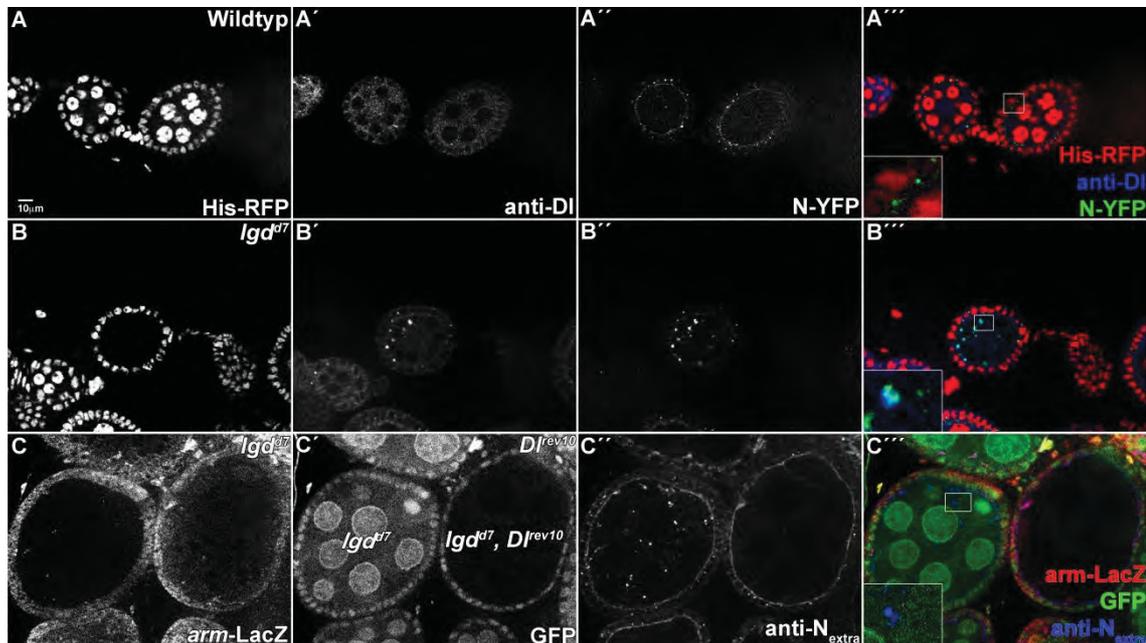


Abb. 1.1: Analyse der Transendozytose von Notch mittels Delta in der Keimbahn. links=Anterior, recht=Posterior. (A-A'') Vergrößerung wildtypischer Eikammern. (A) His-RFP markiert die Zellkerne. (A') Die anti-DI-Antikörperfärbung zeigt eine Verteilung an den Plasmamembranen sowohl im Follikelepithel als auch in der Keimbahn. DI-positive Vesikel sind beobachtbar (Pfeil). (A'') Das Reporterkonstrukt N-YFP zeigt auch eine Verteilung an Plasmamembranen und in Vesikeln (Pfeile). (A''') Die Überlagerung von His-RFP (rot), anti-DI (blau) und N-YFP (grün) zeigt eine Kolokalisation von N-YFP und DI (Pfeil). (B-B'') Vergrößerung einer *lgd*-mutanten Eikammer. (B) Die *lgd*-mutante Eikammer ist durch Abwesenheit von His-RFP markiert. (B') Der anti-DI-Antikörper zeigt in der *lgd*-mutanten Eikammer eine Akkumulation in vergrößerten Vesikeln (Pfeil). (B'') Das Reporter-Konstrukt Tkv-YFP zeigt in der *lgd*-mutanten Eikammer eine Akkumulation in vergrößerten Vesikeln (Pfeil). (B''') Die Überlagerung von His-RFP (rot), anti-DI (blau) und N-YFP (grün) zeigt eine Kolokalisation von N-YFP und DI (Pfeil). (C-C'') Vergrößerung einer *lgd*-mutanten und einer *lgd*, *DI*-doppelmutanten Eikammer. (C) Die anti-β-Gal-Antikörperfärbung ist gegen *arm-lacZ* gerichtet und markiert durch Abwesenheit die *lgd*-mutanten Eikammern. (C') Durch GFP ist die *DI*-mutante Eikammer negativ markiert. Dementsprechend ist die rechte Eikammer doppelmutant für *lgd* und *DI*. (C'') Die anti-N_{extra}-Antikörperfärbung zeigt eine Akkumulation in der *lgd*-mutanten Eikammer (Pfeil), aber keine Akkumulation in der *lgd*, *DI*-doppelmutanten Eikammer. (C''') Überlagerung von anti-β-Gal (rot), GFP (grün) und anti-N_{extra} (blau). In der *lgd*-mutanten Eikammer akkumuliert N_{extra} (Pfeil), während dies in der *lgd*, *DI*-doppelmutanten Eikammern nicht beobachtet werden konnte.

Dadurch konnte bestätigt werden, dass der Notch-Rezeptor die Keimbahn ausschließlich durch Transendozytose durch den Liganden DI erreicht. Da es sich dabei lediglich um die extrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors handelt kann der Notch-Signalweg vermutlich keine Funktion innerhalb der Keimbahn ausüben.

3.1.2 Analyse des *protein traps* Tkv-YFP in wildtypischen Follikel- und Keimbahnzellen

Die Analyse der Akkumulation des Tkv-Rezeptors konnte zuvor ausschließlich mit dem Anti-Tkv-Antikörper untersucht werden. Dabei wurde beobachtet, dass es in *lgd*-mutanten Follikel- und Keimbahnzellen zu einer Akkumulation des Tkv-Rezeptors kommt. Allerdings konnte dies in der Keimbahn erst ab Stadium 4 nachgewiesen werden (Masterarbeit Morawa 2012). Da die Quantität sowie die Qualität des Antikörpers für genauere Analysen unzureichend war sollte nun das *protein trap* Tkv-YFP untersucht werden. Das YFP ist *in frame* in das zweite Intron des endogenen Tkv inseriert (Kyoto Stock Center; FlyBase). Dadurch sind alle bekannten Isoformen affektiert. Um diese Ergebnisse mit den Vorherigen abgleichen zu können wurde zunächst eine genaue Analyse von Tkv-YFP in wildtypischen Follikel- und Keimbahnzellen durchgeführt. Das Expressionsmuster von Tkv-YFP wird hier erstmals beschrieben.

In wildtypischen Follikelzellen kommt es bereits im Germarium zu einer deutlichen Expression des *protein trap* Tkv-YFP. Tkv-YFP ist an der Membran lokalisiert. Tkv-YFP ist in allen Zellen des Germariums exprimiert, allerdings in unterschiedlicher Stärke. Die inneren Germariumhüllzellen (*inner germarial sheath cells*, IGSs) sowie die Follikelzellen um die frühen Zysten zeigen die stärkste Expression im Bereich der Region 2B. Überraschenderweise ist die Expression innerhalb der GSCs und der Zystoblasten relativ schwach im Vergleich zum umliegenden Gewebe (**Abb. 3.2B'+B'''**, **3.2D'+D'''**, **3.2E'-E'''**, **3.2F'+F'''**; Pfeilkopf). Im Folgenden ist Tkv-YFP an der Membran von Follikelzellen und innerhalb des Germariums gleichmäßig verteilt und die Expression bleibt konstant bis es in Stadium 7 Eikammern zu einer deutlich Herunterregulierung der Expression in Follikelzellen kommt (**Abb. 3.2A'+A'''**, **3.2B'+B'''**, **3.2C'+C'''**, **3.2E'+E'''**, **3.2F'+F'''**). Ab diesem Stadium kommt es zum Mitose-Endozyklus-Switch, wodurch es zu einer Hochregulation des Notch-Zielgens *hindsight* kommt (**Abb. 3.2E'+E'''**, **3.2F'+F'''**; Sun und Deng 2007). In Stadium 7 Eikammern kommt es zu einer zeitweiligen Koexpression von *hnt* und Tkv-YFP. In wildtypischen Keimbahnzellen kommt es zu einer immer stärker werdenden Akkumulation von Tkv in der Oozyte ab Stadium 3. Diese ist sowohl mit Tkv-YFP als auch mit dem anti-Tkv-Antikörper beobachtbar (**Abb. 3.2A'+A'''**, **3.2B'-B'''**, **3.2C'-C'''**, **3.2E'+E'''**, **3.2F'+F'''**; Pfeil). Des Weiteren ist Tkv an der Membran der Nährzellen lokalisiert (**Abb. 3.2C'-C'''**). Nach diesem Stadium kommt es zu einer

geringeren Expression im Follikelepithel und der Keimbahn mit Ausnahme der Oozyte. Dort bleibt eine starke Expression bis zum Ende der Entwicklung erhalten (Abb. 3.2E''', 3.2F'''). Ab Stadium 10 kommt es wieder zu einer deutlichen Hochregulation in Follikelzellen, die die Oozyte umgeben (Abb. 3.2A'+A''').

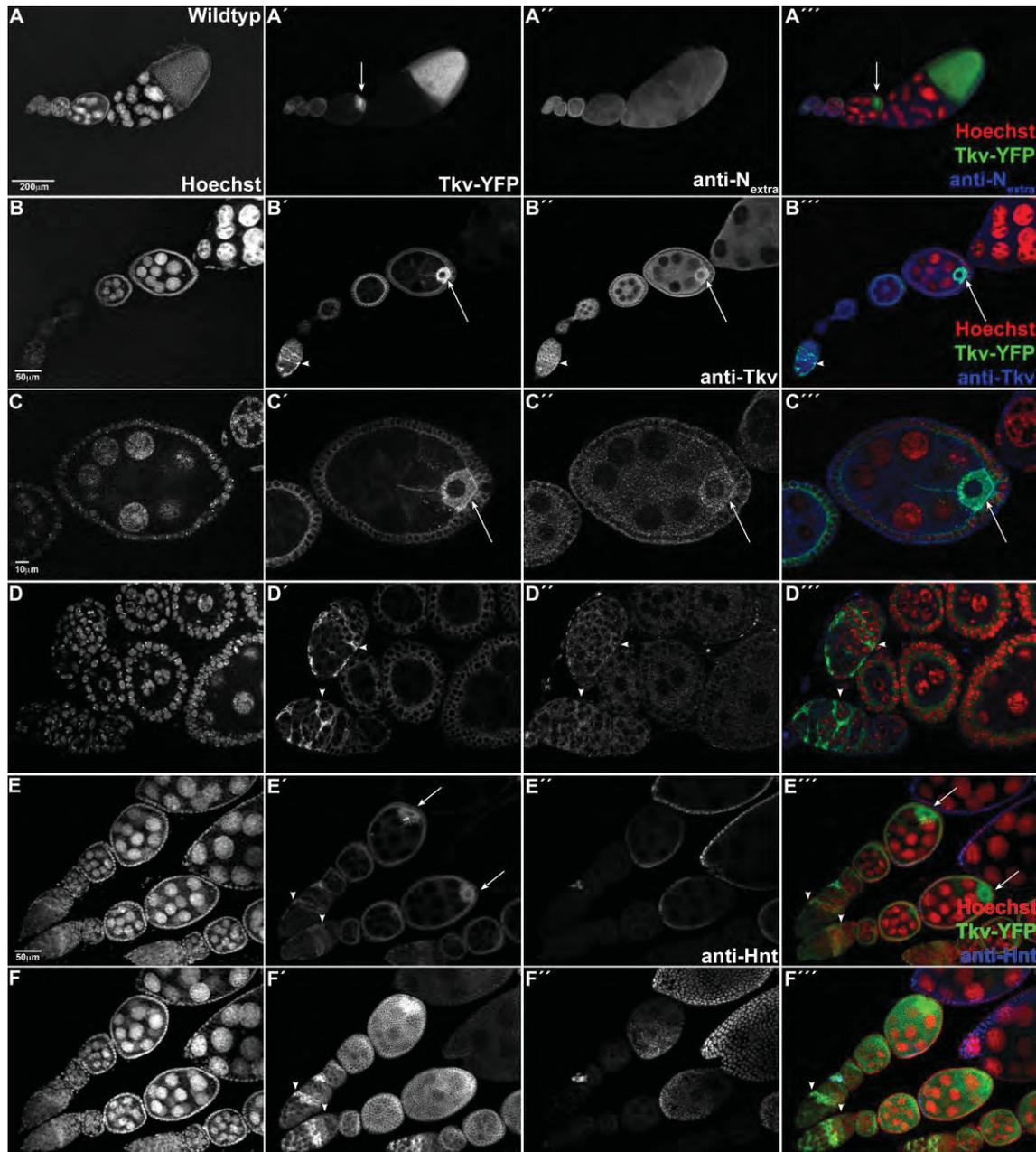


Abb. 3.2: Die Lokalisation des Reporterkonstrukts Tkv-YFP in wildtypischen Follikel- und Keimbahnzellen.

links=Anterior, recht= Posterior. (A-A''') Ein wildtypischer Ovariolschlauch. (A) Die Hoechstfärbung zeigt die Zellkerne an. (A') Das Reporterkonstrukt Tkv-YFP ist stark in den Follikelzellen des Germariums lokalisiert und moderat in den Follikelzellen bis es in Stadium 7 herunterreguliert wird. Ebenso ist eine deutliche Akkumulation in der Oozyte ab Stadium 6 beobachtbar (Pfeil). (A'') Die Antikörperfärbung gegen die extrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors zeigt eine gleichmäßige Verteilung innerhalb des Follikelepithels. (A''') Überlagerung von Hoechst (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-N_{extra} (blau). (B-B''') Querschnitt durch einen wildtypischen. (B) Hoechst. (B') Die Expression von Tkv-YFP ist besonders stark in den Follikelzellen um die Zysten im Germarium (Pfeilkopf) und ab

Stadium 6 innerhalb der Oozyte (Pfeil). Nach diesem Stadium kommt es zu einer deutlichen Herunterregulierung im Follikelepithel. (B'') Der anti-Tkv-Antikörper zeigt ebenso ein starkes Signal im Germarium (Pfeilkopf) und eine Akkumulation in der Oozyte ab Stadium 6 (Pfeil). (B''') Die Überlagerung von Hoechst (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-Tkv (blau) zeigt eine deutliche Kolokalisation des Tkv-Antikörpers mit dem Tkv-YFP Reporter-Konstrukt. (C-C''') Vergrößerung der Stadium 6 Eikammer aus B-B'''. (C) Hoechst. (C') Das Reporterkonstrukt Tkv-YFP zeigt eine Lokalisation an der Plasmamembran von Follikelzellen. Innerhalb der Keimbahn ist Tkv-YFP deutlich im Zytoplasma der Oozyte akkumuliert und nicht im Oozytenkern. Auch an der Plasmamembran der Nährzellen ist das Konstrukt zu beobachten und in vesikelartigen Strukturen in der Nähe der Oozyte. (C'') Die Anti-Tkv-Antikörperfärbung lässt sich undeutlich an der Plasmamembran von Follikelzellen beobachten. Ebenfalls ist keine Färbung in den Zellkernen zu erkennen, aber eine deutliche Akkumulation im Zytoplasma der Oozyte. (C''') Die Überlagerung von Hoechst (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-Tkv (blau) zeigt eine Kolokalisation von Tkv-YFP mit dem Antikörper. (D-D''') Ein wildtypisches Germarium. (D) Hoechst. (D') Tkv-YFP ist besonders stark in den inneren Germariumhüllzellen und im Follikelepithel um die frühen Zysten herum lokalisiert (Pfeilkopf), während es moderat an der Plasmamembran der übrigen Zellen vorhanden ist. (D'') Der Antikörper von Tkv zeigt ebenfalls um die frühen Zysten herum ein stärkeres Signal (Pfeilkopf). (D''') Überlagerung von Hoechst (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-Tkv (blau) zeigt ebenfalls eine Kolokalisation. (E-E''') Ovariolschlauch im Querschnitt. (E) Hoechst. (E') Lokalisation von Tkv-YFP. Diese ist besonders stark im Follikelepithel der frühen Zysten (Pfeilkopf) und in Oozyten ab Stadium 6 (Pfeil). Allerdings beginnt die Akkumulation in der Oozyte teilweise bereits schon früher. (E'') Die anti-Hnt-Antikörperfärbung zeigt, dass *hnt* bereits ab Stadium 7 im Follikelepithel exprimiert wird, als Folge des M/E-Switches. (E''') Überlagerung von Hoechst (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-Hnt (blau). Die Expression von Tkv-YFP wird ab Stadium 7 im Follikelepithel herunterreguliert während Hnt hochreguliert wird. (F-F''') Vergrößerung des Ovariolschlauchs aus E-E'''' in der Aufsicht. (F) Hoechst. (F') In der Aufsicht erkennt man ebenfalls die Lokalisation von Tkv-YFP an der Membran, sowie die Herunterregulierung ab Stadium 7 im Follikelepithel. Ebenso ist in der Aufsicht die Lokalisation innerhalb der inneren Germariumhüllzellen und um die frühen Zysten herum zu beobachten. (F'') Die anti-Hnt-Antikörperfärbung zeigt eine beginnende Expression ab Stadium 7 von Anterior nach Posterior. (F''') Überlagerung von Hoechst (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-Hnt (blau).

Der Vergleich von Tkv-YFP mit dem anti-Tkv-Antikörper zeigt eine ähnliche Verteilung von Tkv-Rezeptoren. Mit Tkv-YFP lässt sich ein stärkeres Signal im Germarium beobachten. Eine Lokalisation an der Membran ist vordringlich. Lediglich mit dem Tkv-Antikörper ist eine Verteilung innerhalb der Keimbahn beobachtbar. Dabei handelt es sich möglicherweise um unspezifische Bindungen (**Abb. 3.2B-D''''**).

Eine Lokalisation von Notch kann ebenfalls an der Membran beobachtet werden. Die Überlagerung zeigt die Kolokalisation von N- und Tkv-Rezeptor im frühen Follikelepithel bis Stadium 7. Im Anschluss wird Tkv-YFP herunterreguliert (**Abb. 3.2A-A''''**).

Insgesamt zeigt Tkv-YFP ein konstantes und spezifisches Signal, sodass dieses Reporter-Konstrukt für weitere Analysen verwendet werden kann. Da durch die zusätzliche Expression von Tkv-YFP keine morphologischen Veränderungen beobachtet werden konnten kann vermutet werden, dass das Reporter-Konstrukt Tkv-YFP vollständig funktional ist.

3.1.3 Analyse des Reporterkonstrukts Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Follikel- und Keimbahnzellen

Die Analyse von Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Keimbahn- und Follikelzellen erfolgte mittels klonaler Analyse. Dazu musste zunächst eine Rekombination von Tkv-YFP und *lgd^{d7}* auf den gleichen Chromosomenarm stattfinden. Aus diesem Grunde sind in den hier gezeigten Bildern in *lgd*-mutanten Zellen jeweils zwei Kopien des *protein traps* Tkv-YFP vorhanden. Um eine ausreichende Vergleichbarkeit herzustellen war dies bei den vorherigen Analysen von Tkv-YFP in wildtypischen Zellen ebenfalls der Fall (**Kap. 3.2.1**).

Die Analyse *lgd*-mutanter Follikelzellen zeigt eine deutliche Akkumulation des Tkv-YFP Reporter-Konstrukts in vesikulären Strukturen (**Abb. 3.3E-F''**). Diese Vesikel kolokalisieren mit der extrazellulären Domäne des Notch-Rezeptors. Da bereits gezeigt werden konnte das N_{extra} ebenfalls mit Rab7 kolokalisiert konnten die Tkv-YFP Vesikel so indirekt als reifende Endosomen identifiziert werden (**Abb. 3.3E'-E''''**, Vergrößerung; Schneider et al. 2013).

Mittels klonaler Analyse wurden zudem *lgd*-mutante Eikammern erzeugt, die zwei Kopien des Reporter-Konstrukts Tkv-YFP tragen. Zusätzlich zur wildtypischen Expression (**Kap. 3.2.1**) ist eine starke Akkumulation von Tkv-YFP zu beobachten, die mit dem Alter der Eikammern zunimmt (**Abb. 3.3A'-A''''**, Pfeile). Diese ist eindeutig ab Stadium 4 zu erkennen (**Abb. 3.3B'-B''''**). In jüngeren Eikammern sind ebenfalls bereits kleinere Vesikel beobachtbar (**Abb. 3.3C'-C''''**, Pfeil). Im Vergleich zu wildtypischen Germarien scheint die Expression von Tkv-YFP dort stärker zu sein (**Abb. 3.3B-B''''**, Pfeilkopf).

Wie im Follikelepithel konnte auch in der Keimbahn eine Kolokalisation von Tkv-YFP und NECD beobachtet werden (**Abb. 3.3C-C''''**). Darüber hinaus konnte auch eine Kolokalisation von Tkv-YFP und Rab7 beobachtet werden (**Abb. 3.3D-D''''**). Dementsprechend konnte bestätigt werden, dass Tkv-YFP, genau wie der N-Rezeptor, in reifenden Endosomen akkumuliert.

Durch diese Analyse konnte die Akkumulation von Tkv im Follikelepithel und der Keimbahn bestätigt werden. Darüber hinaus konnte durch die Kolokalisation von Notch mit Rab7 eine Akkumulation in reifenden Endosomen festgestellt werden. Außerdem konnte die Vermutung verifiziert werden, dass die Akkumulation von Tkv in der Keimbahn bereits schon vor Stadium 4 beginnt.

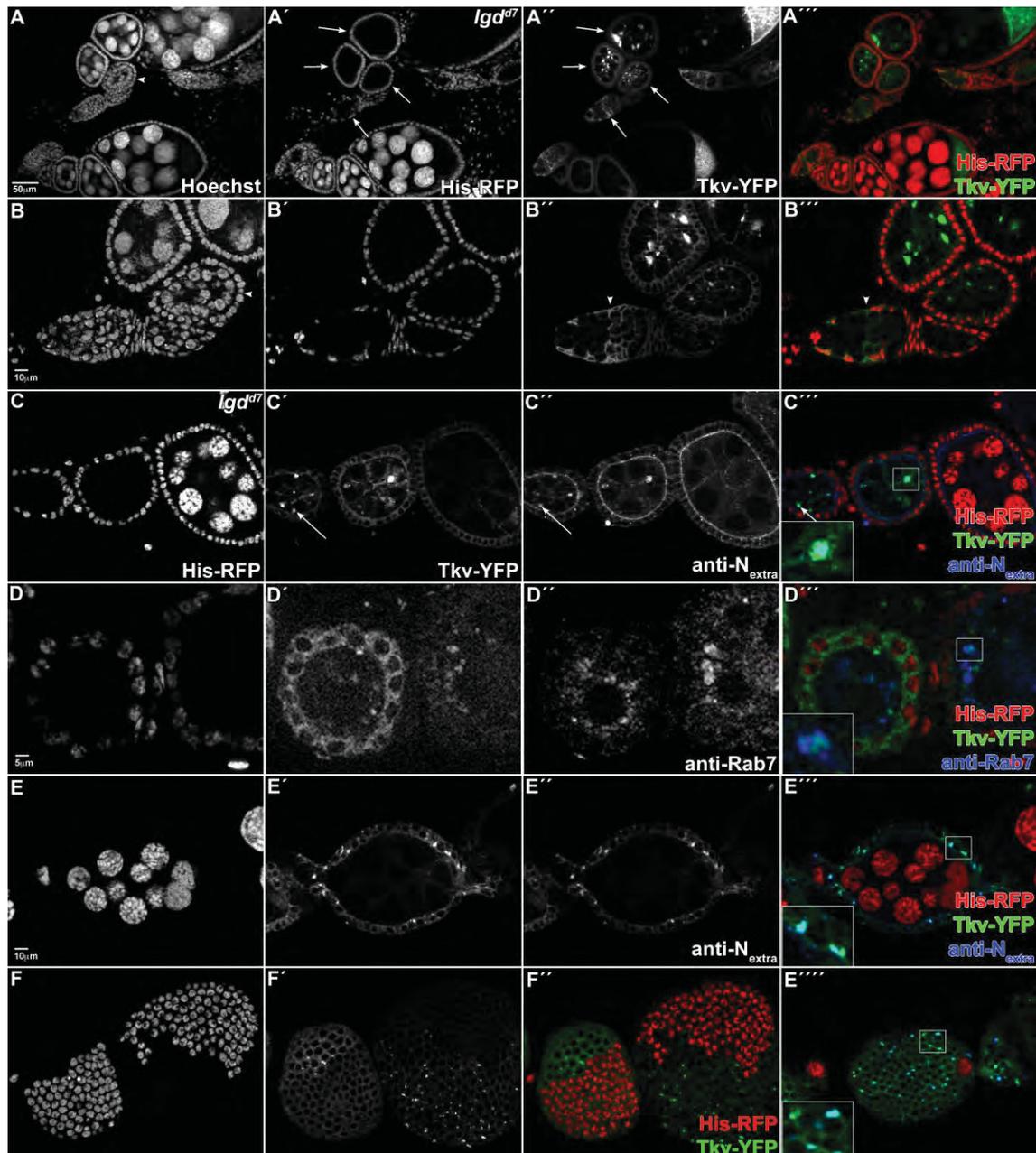


Abb. 3.3: Analyse des Reporterkonstruktes Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Follikel- und Keimbahnzellen. links=Anterior, recht= Posterior. (A-A''') wildtypischer und *lgd*-mutanter Ovariolschlauchs. (A) Die Hoechstfärbung zeigt eine *lgd*-mutante Eikammer mit 32 Zellen (Pfeilkopf). (A') Das Fehlen von His-RFP markiert die *lgd*-mutanten Zellen (Pfeile). (A'') Tkv-YFP akkumuliert in älter werdenden *lgd*-mutanten Eikammern immer stärker (Pfeile). (A''') Überlagerung von His-RFP (rot) und Tkv-YFP (grün) zeigt die Akkumulation innerhalb der *lgd*-mutanten Eikammern. (B-B''') Vergrößerung des *lgd*-mutanten Ovariolschlauchs aus A-A'''. (B) Die Hoechstfärbung zeigt eine Eikammer mit 32 Zellen (Pfeilkopf). (B') Die *lgd*-mutante Keimbahn ist durch das Fehlen von His-RFP markiert. (B'') Eine Akkumulation von Tkv-YFP ist in den *lgd*-mutanten Eikammern sichtbar. Ebenso ist ein verstärktes Signal im Bereich des Germariums zu beobachten (Pfeilkopf). (B''') Überlagerung von His-RFP (rot) und Tkv-YFP (grün) zeigt die Akkumulation innerhalb der *lgd*-mutanten Eikammern. (C-C''') Vergrößerung *lgd*-mutanter Eikammern der Stadien 3 und 5. (C) His-RFP markiert die *lgd*-mutanten Eikammern negativ. (C') Akkumulation von Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Eikammern beginnt bereits vor Stadium 4 (Pfeil). (C'') Akkumulation von N_{extra} in *lgd*-mutanten Eikammern beginnt bereits früh (Pfeil). (C''') Überlagerung von His-RFP (rot), Tkv-YFP (grün) und N_{extra} (blau) zeigt die Akkumulation innerhalb der *lgd*-mutanten Eikammern. Tkv-YFP und N_{extra}

kolokalisieren (Vergrößerung) auch bereits in frühen Eikammern (Pfeil). **(D-D''')** *lgd*-mutante Eikammern. **(D)** *lgd*-mutante Eikammern markiert durch das Fehlen von His-RFP. **(D')** Akkumulation von Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Eikammern. **(D'')** Akkumulation des spät-endosomalen Markers Rab7 in *lgd*-mutanten Eikammern. **(D''')** Überlagerung von His-RFP (rot), Tkv-YFP (grün) und Rab7 (blau) zeigt die Akkumulation innerhalb der *lgd*-mutanten Eikammern. Tkv-YFP und Rab7 kolokalisieren (Vergrößerung). Dementsprechend akkumuliert Tkv-YFP in reifenden Endosomen. **(E-E''')** *lgd*-mutante Follikelzellen im Querschnitt und der Aufsicht. **(E)** His-RFP markiert die *lgd*-mutanten Follikelzellen negativ. **(E')** Akkumulation von Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Follikelzellen. **(E'')** Akkumulation von N_{extra} in *lgd*-mutanten Follikelzellen. **(E''')** Überlagerung von His-RFP (rot), Tkv-YFP (grün) und N_{extra} (blau) zeigt die Akkumulation innerhalb der *lgd*-mutanten Follikelzellen. Tkv-YFP und N_{extra} kolokalisieren (Vergrößerung). **(E''''')** Aufsicht auf das *lgd*-mutante Follikelkephel aus E-E'''. **(F-F'')** *lgd*-mutante Follikelzellen in der Aufsicht. **(F)** His-RFP markiert die *lgd*-mutanten Follikelzellen negativ. **(F')** Akkumulation von Tkv-YFP in *lgd*-mutanten Follikelzellen. **(F'')** Überlagerung von His-RFP (rot) und Tkv-YFP (grün) zeigt die Akkumulation innerhalb der *lgd*-mutanten Follikelzellen.

3.1.4 Der Verlust von *lgd* und *shrub* in der Keimbahn hat einen Einfluss auf den Zellzyklus

In vorherigen Studien wurde bereits beobachtet, dass es in circa 15 % der *lgd*-mutanten Eikammern und in circa 30 % der *shrub* heterozygot-mutanten Eikammern zu einer Verdopplung der Keimzellanzahl von 16 auf 32 kommt (**Abb. 3.10**). Dieser Phänotyp ist abhängig vom Dpp-Signalweg. Dabei konnte ausgeschlossen werden, dass es sich um einen Verpackungsdefekt handelt, da lediglich eine Oozyte in solch einer Eikammer beobachtet werden konnte. Somit lag die Vermutung nahe, dass der Verlust von *lgd* und *shrub* eine zusätzliche Mitose auslöst und so einen Einfluss auf den Zellzyklus ausübt (Morawa et al. 2015; Morawa 2012; Schneider und Markus Hubertus 2012). Normalerweise durchlaufen die Zystoblasten vier mitotische Teilungen, bevor sie sich in den Endozyklus begeben und zu Nährzellen differenzieren, die die Oozyte versorgen. Um einen Einfluss auf die Anzahl der Zellteilungen näher zu analysieren wurde ein Antikörper gegen den Zellzyklusmarker Cyclin A (*CycA*) verwendet.

In wildtypischen Germarien ist *CycA* besonders stark in den Stammzellen und den sich teilenden Zysten exprimiert. In den Zysten, die bereits die vier Zellteilungen zur 16-Zellzyste durchgeführt haben, wird *CycA* deutlich herunterreguliert und in der Keimbahn nicht wieder angeschaltet (**Abb. 3.4A-A''**, Pfeil). Dieses Expressionsmuster ist im Wildtyp zu 100 % stereotyp (**Abb. 3.5**).

Die Analyse der anti-*CycA*-Antikörperfärbung in *lgd*-mutanten Germarien gleicht in den meisten Fällen dem stereotypen Wildtypmuster (**Abb. 3.4C-C''**, Pfeil). Allerdings kommt es in 14,3 % der Fälle zu einem veränderten Expressionsmuster (**Abb. 3.5**). Es kommt zu einem verstärkten Signal in den sich teilenden Zysten und zu keiner Herunterregulation in den späten Zysten. In den Eikammern ist weiterhin kein Signal

beobachtbar (**Abb. 3.4B-B''**, Pfeilkopf). Die Anzahl der Zysten in denen *CycA* nicht herunterreguliert ist (**Abb. 3.5**; 14,3 %) deckt sich mit der Anzahl an Eikammern mit 32 Zellen (**Abb. 3.10**; 14,6 %).

Die Analyse der anti-*CycA*-Antikörperfärbung in *shrub*-heterozygot-mutanten Germarien entspricht den Beobachtungen in *lgd*-mutanten Germarien. Auch hier entspricht die Verteilung von *CycA* in den meisten Fällen dem Wildtyp (**Abb. 3.4E'-E''**). In 41,6 % der Fälle kommt es auch hier zu keinerlei Herunterregulation der *CycA*-Expression (**Abb. 3.5**, **Abb. 3.4D'-D''**). Die Anzahl der Zysten mit ektoptischer *CycA*-Expression liegt circa 10 % höher als die Anzahl der Eikammern mit 32 Zellen im *shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund (**Abb. 3.10**; 29 %).

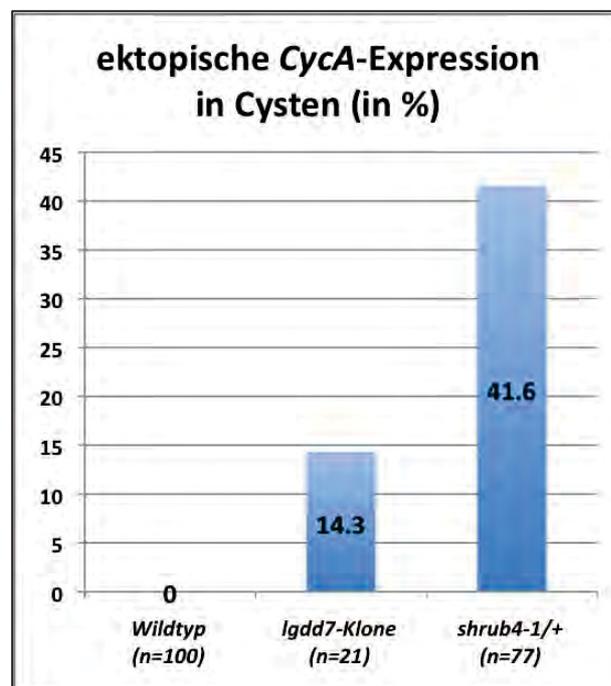


Abb. 3.5: Statistische Analyse der ektoptischen *CycA*-Expression in späten Zysten von wildtypischen, *lgd*-mutanten und *shrub*-heterozygot-mutanten Germarien. In wildtypischen Germarien kommt es zu keiner ektoptischen Expression von *CycA* in späten Zysten (n=100). In *lgd*-mutanten Germarien konnte in 14,3 % der Fälle eine ektoptische *CycA*-Expression beobachtet werden (n=21). In *shrub*-heterozygot-mutanten Germarien kommt es in 41,6 % der Fälle zu einer ektoptischen Expression von *CycA* in späten Zysten (n=77).

Durch die Analyse von *CycA* lässt sich vermuten, dass *lgd* und *shrub* einen Einfluss auf den Zellzyklus ausüben. Darüberhinaus konnte beobachtet werden, dass die Anzahl der Zysten mit ektoptischer *CycA*-Expression im Falle von *lgd* und *shrub* mit der Anzahl an Eikammern mit 32 Zellen der entsprechenden Genotypen übereinstimmt. Dies legt den Schluss nahe, dass *lgd* beziehungsweise *shrub* Repressoren von *CycA* sind und es dementsprechend zu einer zusätzlichen Mitose kommt, die in Eikammern mit 32 Zellen resultiert.

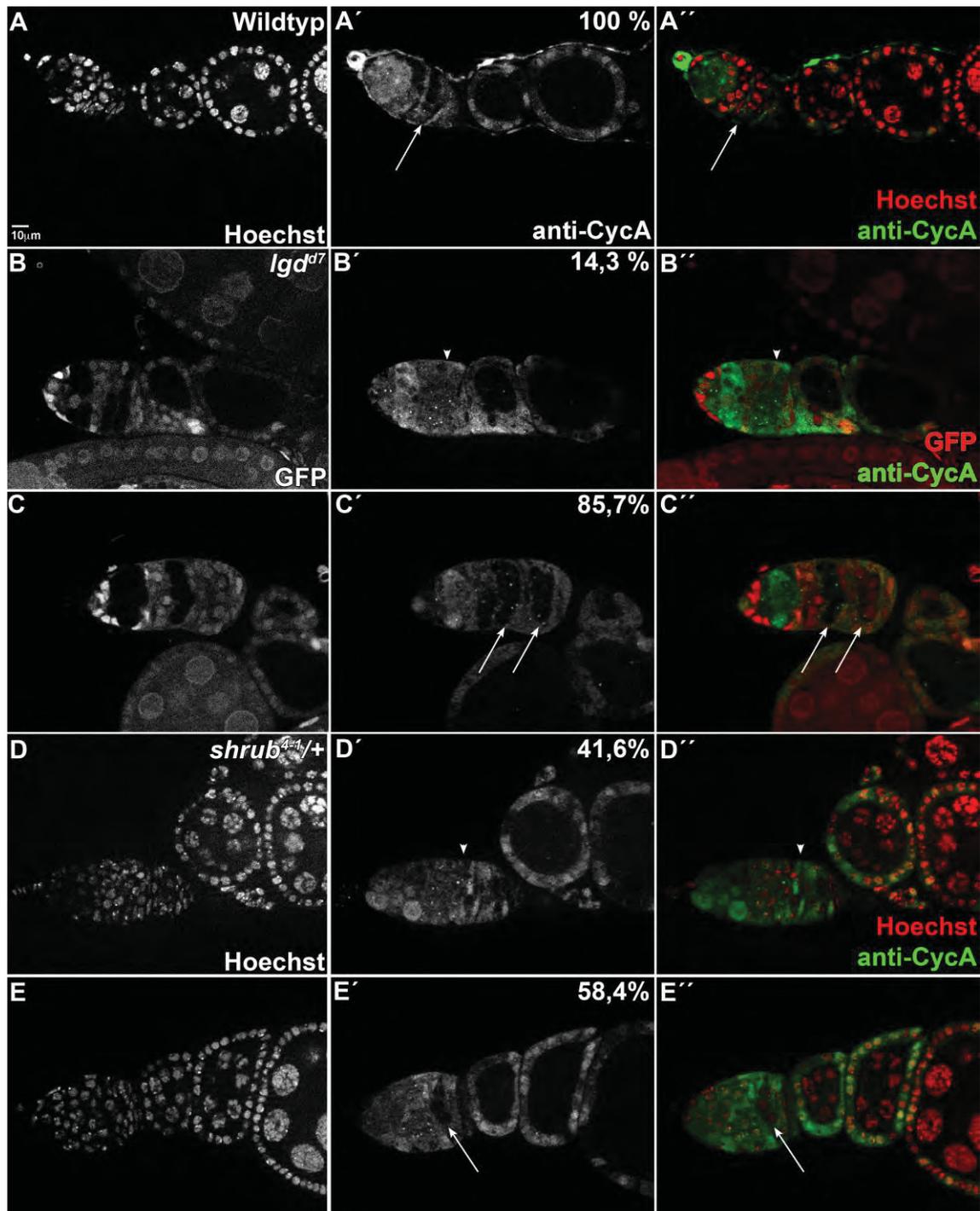


Abb. 3.4: Analyse von CycA in wildtypischen, *lgd*-mutanten und *shrub*-heterozygot-mutanten Germarien. links=Anterior, recht= Posterior (A-A'') wildtypischer Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (A) Hoechst. (A') Die anti-CycA-Antikörperfärbung zeigt eine deutliche Expression in den Keimbahnstammzellen und den sich teilenden Zysten. In den späten Zysten, die bereits von Follikelpithel umhüllt sind ist keine Expression von *CycA* mehr erkennbar (Pfeil). (A'') Überlagerung von Hoechst (rot) und anti-CycA (grün). (B-B'') *lgd*-mutanter Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (B) Das Fehlen von GFP zeigt die *lgd*-mutanten Bereiche. (B') Die CycA-Expression findet in einigen späten Zysten ektopisch statt (14,3 %; Pfeilkopf). (B'') Überlagerung von GFP (rot) und anti-CycA (grün). (C-C'') *lgd*-mutanter Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (C) Das Fehlen von GFP zeigt die *lgd*-mutanten Bereiche. (C') Die CycA-Expression gleicht in diesem Beispiel dem Wildtyp. Die CycA-Expression wird in den späten Zysten herunterreguliert (85,7 %; Pfeil). (C'') Überlagerung von GFP (rot) und anti-CycA (grün). (D-D'') *shrub*-heterozygot mutanter Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (D) Hoechst.

(D') Die anti-CycA-Antikörperfärbung zeigt in einigen *shrub*-heterozygot-mutanten späten Zysten eine ektopische Expression (41,6 %; Pfeilkopf). (D'') Überlagerung von Hoechst (rot) und anti-CycA (grün). (E-E'') *shrub*-heterozygot mutanter Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (E) Hoechst. (E') Die anti-CycA-Antikörperfärbung zeigt in einigen *shrub*-heterozygot mutanten späten Zysten eine wildtypische Expression. *CycA* wird in den späten Zysten herunterreguliert (58,4 %, Pfeil). (E'') Überlagerung von Hoechst (rot) und anti-CycA (grün).

3.1.5 *lgd* und *shrub* mutante Germarien enthalten zusätzliche *dad*-exprimierende Zellen

Das Dpp-Zielgen *dad* wird hauptsächlich in den Keimbahnstammzellen und teilweise in den frühen Zystoblasten exprimiert. In der Regel handelt es sich dabei um 2-3 Zellen pro Germarium. In der Keimbahn wird *dad* nur dort exprimiert wo die Transkription des Gens *bag of marbels* (*bam*) unterdrückt ist. Die Expression von *bam* wird verhindert, indem die Transkriptionsfaktoren Mad/Medea an das *Silencer*-Element von *bam* binden. Mad und Medea sind Bestandteil der Smad-Kaskade, die vom Dpp-Signalweg angeschaltet wird (Chen und McKearin 2003; Song et al. 2004; Jiang et al. 2008). Bam ist für die Differenzierung von der Keimbahnstammzelle zum Zystoblasten verantwortlich. Durch das Zusammenspiel von Bam und dem Dpp-Signalweg wird das Stammzellschicksal der Keimbahnstammzellen aufrechterhalten.

Im Folgenden sollte untersucht werden, ob die ektopische *dad-lacZ* Expression, die in den frühen *lgd*-mutanten Eikammern beobachtet wurde bereits zu Beginn des Germariums verändert ist (Morawa et al. 2015; Morawa 2012; Schneider und Markus Hubertus 2012). Darüber hinaus sollte auch die Expression von *bam* mittels des Reporter-Konstrukts Bam-GFP untersucht werden.

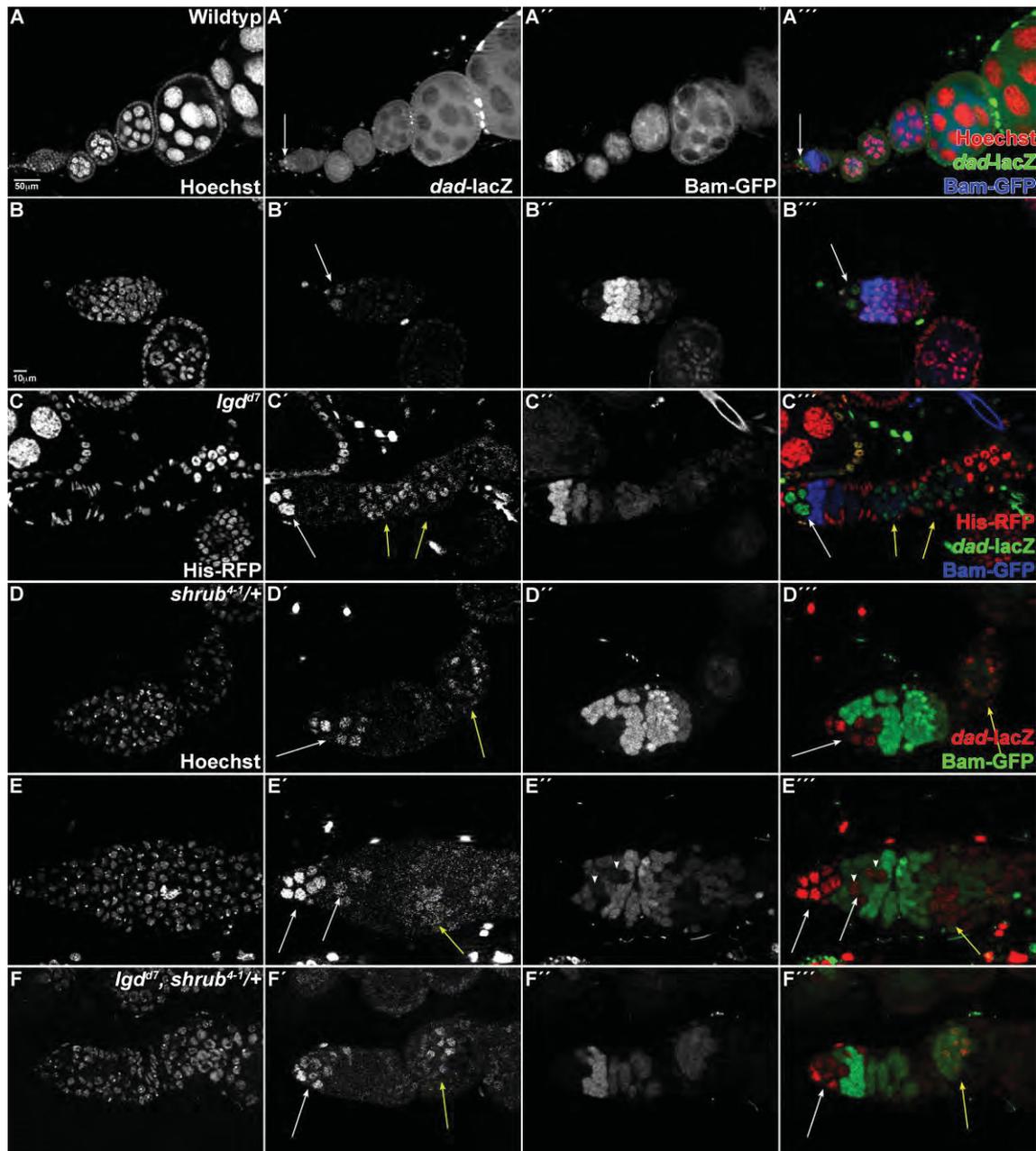


Abb. 3.6: Analyse von *dad-lacZ* und *Bam-GFP* in wildtypischen, *lgd*-mutanten, *shrub*-heterozygot mutanten und *lgd*, *shrub*-heterozygot-mutanten Germarien. links=Anterior, recht= Posterior. (A-A''') wildtypischer Ovariolschlauchs. (A) Hoechst. (A') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in den Keimbahnstammzellen (Pfeil). (A'') Das Reporterkonstrukt *Bam-GFP* ist besonders in den sich teilenden und differenzierenden frühen Zysten exprimiert und wird dann kontinuierlich herunterreguliert. (A''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti- β -Gal (grün) und *Bam-GFP* (blau). Die Expression von *dad-lacZ* und *Bam-GFP* schließen sich gegenseitig aus (Pfeil). (B-B''') wildtypischer Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (B) Hoechst. (B') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in den beiden Keimbahnstammzellen (Pfeil). (B'') Das Reporterkonstrukt *Bam-GFP* ist besonders in den sich teilenden und differenzierenden frühen Zysten exprimiert und schwächer in den späten Zysten. (B''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti- β -Gal (grün, Pfeil) und *Bam-GFP* (blau). (C-C''') *lgd*-mutanter Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (C) His-RFP markiert die *lgd*-mutanten Bereiche negativ. (C') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in drei Zellen (Pfeil). In den frühen Eikammern ist *dad-lacZ* abermals hochreguliert (gelber Pfeil). (C'') Die Expression des Reporterkonstrukt *Bam-GFP* entspricht dem wildtypischen Muster. (C''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (grün, Pfeil) und *Bam-GFP* (blau). (D-D''') *shrub*^{+/+} Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (D) Hoechst. (D') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in den beiden Keimbahnstammzellen (Pfeil). (D'') Das Reporterkonstrukt *Bam-GFP* ist besonders in den sich teilenden und differenzierenden frühen Zysten exprimiert und schwächer in den späten Zysten. (D''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti- β -Gal (grün, Pfeil) und *Bam-GFP* (blau). (E-E''') *lgd*, *shrub*^{+/+} Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (E) Hoechst. (E') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in den beiden Keimbahnstammzellen (Pfeil). (E'') Das Reporterkonstrukt *Bam-GFP* ist besonders in den sich teilenden und differenzierenden frühen Zysten exprimiert und schwächer in den späten Zysten. (E''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti- β -Gal (grün, Pfeil) und *Bam-GFP* (blau). (F-F''') *lgd*, *shrub*^{+/+} Ovariolschlauchs mit Fokus auf das Germarium. (F) Hoechst. (F') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in den beiden Keimbahnstammzellen (Pfeil). (F'') Das Reporterkonstrukt *Bam-GFP* ist besonders in den sich teilenden und differenzierenden frühen Zysten exprimiert und schwächer in den späten Zysten. (F''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti- β -Gal (grün, Pfeil) und *Bam-GFP* (blau).

Gal (grün, Pfeil) und *Bam*-GFP (blau). (**D-D''**) *shrub*-heterozygoten Germarium. (**D**) Hoechst. (**D'**) Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in mindestens sechs Zellen (Pfeil). Darüber hinaus ist *dad-lacZ* in den frühen Eikammern hochreguliert (gelber Pfeil). (**D''**) Die Expressionsdomäne des Reporter-Konstruktes *Bam*-GFP ist extrem verbreitert. Selbst in späten Zysten ist die Expression noch deutlich erhöht. (**D'''**) Überlagerung von anti- β -Gal (rot, Pfeil) und *Bam*-GFP (grün). Die Expression von *dad-lacZ* und *Bam*-GFP schließt sich weiterhin aus. (**E-E''**) *shrub*-heterozygoten Germarium. (**E**) Hoechst. (**E'**) Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in mehreren Zellen auch im weiter hinten gelegenen Bereich des Germariums (Pfeil) und eine erneute Hochregulation in frühen Eikammern (gelber Pfeil). (**E''**) Die Expressionsdomäne des Reporter-Konstruktes *Bam*-GFP ist extrem verbreitert. In einigen Zellen ist *Bam*-GFP nochmals deutlich herunterreguliert herunterreguliert (Pfeilkopf). (**E'''**) Überlagerung von anti- β -Gal (rot, Pfeil) und *Bam*-GFP (grün, Pfeilkopf). Die Expression von *dad-lacZ* und *Bam*-GFP schließt sich auch hier aus. (**F-F''**) *lgd,shrub*-heterozygot-mutantes Germarium. (**F**) Hoechst. (**F'**) Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ* in einigen Zellen (Pfeil). In den frühen Eikammern ist *dad-lacZ* abermals hochreguliert (gelber Pfeil). (**F''**) Die Expressionsdomäne des Reporter-Konstruktes *Bam*-GFP ähnelt hier stark dem *lgd*-mutanten Phänotyp. (**F'''**) Überlagerung von anti- β -Gal (rot, Pfeil) und *Bam*-GFP (grün).

Im Wildtyp ist das Reporterkonstrukt *dad-lacZ* ausschließlich in den Keimbahnstammzellen und dem frühen Zystoblasten exprimiert. Ansonsten ist innerhalb der Keimbahn keinerlei Expression zu beobachten (**Abb. 3.6A'+A''**, **3.6B'-B''**, Pfeil). Die Expression von *Bam*-GFP ist ausschließlich innerhalb des Germariums in den differenzierenden Zysten zu beobachten. Die Expression ist besonders stark in den jungen Zysten und schwächt dann in den späten Zysten ab. Innerhalb der Keimbahnstammzellen kommt es zu keinerlei *Bam*-GFP Expression (**Abb. 3.6A''+A'''**, **3.6B''-B'''**).

Der Verlust der *lgd*-Funktion führt zu einer signifikanten Erhöhung der *dad-lacZ* exprimierenden Zellen auf 3,6 pro Germarium. Dementsprechend ist die Anzahl der *dad*-positiven Zellen im Schnitt um 1 erhöht (**Abb. 3.7**). Dadurch erhalten diese Zellen einen Keimbahnstammzell-ähnlichen Charakter. Darüber hinaus ist die *dad-lacZ* Expression in den frühen Eikammern noch einmal hochreguliert (**Abb. 3.6C'+C''**, gelber Pfeil). Die Expression von *Bam*-GFP ist dadurch verzögert (**Abb. 3.6C''+C'''**).

Der Verlust einer Kopie *shrub* sorgt für durchschnittlich 4,9 *dad*-positive Zellen pro Germarium. Dabei handelt es sich um nahezu doppelt so viele Zellen mit Stammzellcharakter im Vergleich zum Wildtyp (**Abb. 3.7**; **Abb. 3.6D'+D''**, Pfeil). Die Expression von *Bam*-GFP ist sowohl in frühen als auch in späten Zysten deutlich erhöht (**Abb. 3.6D''+D'''**). Teilweise kommt es sogar zu einer ektopischen Expression von *dad-lacZ* in einigen Zellen, die bereits von *Bam*-GFP exprimierenden Zellen umgeben sind (**Abb. 3.6E'-E'''**, Pfeil und Pfeilkopf).

Überraschenderweise kommt es durch den Verlust einer Kopie von *shrub* im *lgd*-mutanten Hintergrund zu keinerlei Reduktion des *shrub*-heterozygot-mutanten Phänotyps in Bezug auf die erhöhte Anzahl der *dad*-positiven Zellen (Abb. 3.7). Im Vorfeld konnte allerdings beobachtet werden, dass es in diesem Genotyp zu einer Reduktion der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen kommt. Während dies in *lgd*-mutanten Zellen in 14,6 % der Fälle vorkommt und in *shrub*-heterozygot mutanten Eikammern in 29 % der Fälle, kommt es dagegen in *lgd, shrub/+* mutanten Eikammern lediglich in 7 % der Eikammern zu einer Verdoppelung der Keimzellanzahl (Abb. 3.10). Ein solcher antagonistischer Effekt kann dementsprechend in Bezug auf die *dad*-Expression nicht beobachtet werden. Ähnliches konnte in der Flügelimaginalscheibe beobachtet werden. Dort unterdrückt der zusätzliche Verlust vom *shrub* die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges ausgelöst durch den Verlust von *lgd*, verstärkt aber trotzdem den Vesikelphänotyp (Troost et al. 2012)

In Bezug auf *dad-lacZ* und *Bam-GFP* entspricht das Expressionsmuster dem von *lgd*. Es gibt zusätzliche *dad-lacZ* exprimierende Zellen. *Bam-GFP* ist zunächst stark exprimiert in frühen Zysten und in späten Zysten etwas herunterreguliert (Abb. 3.6F'-F''', Pfeil).

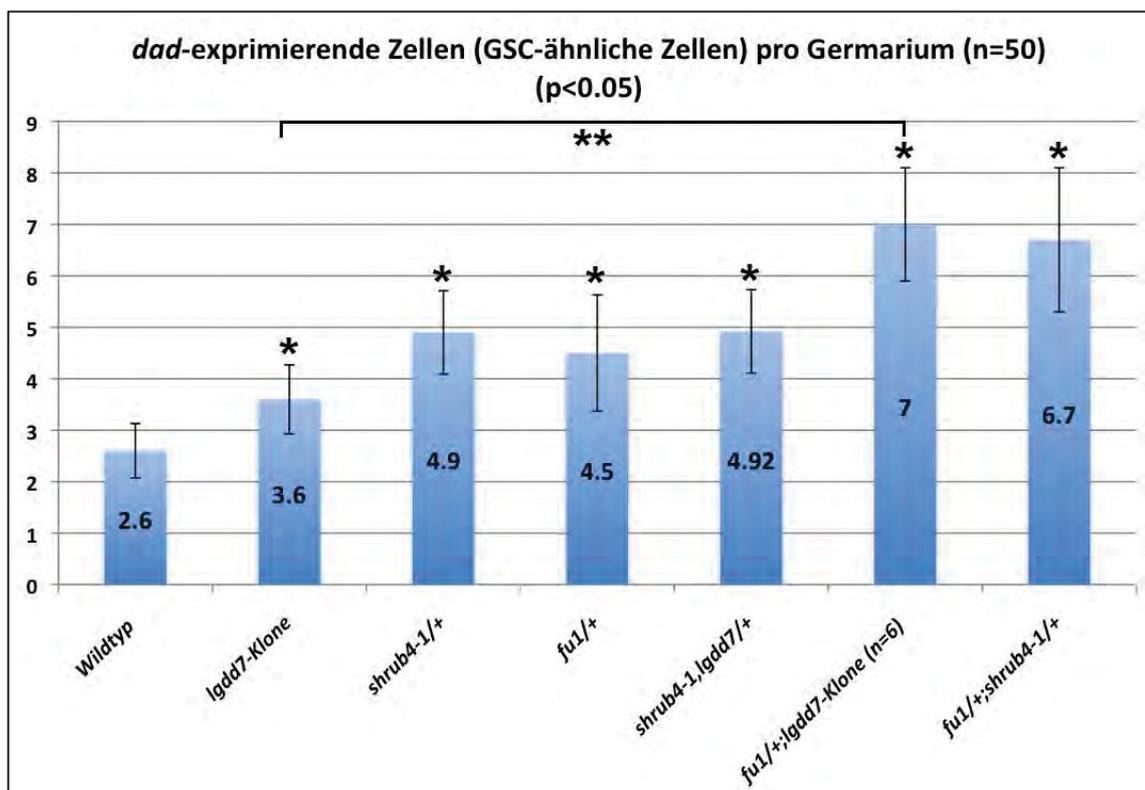


Abb. 3.7: Statistik über die Anzahl *dad*-exprimierender Zellen in wildtypischen, *lgd*-mutanten, *shrub*-heterozygot-mutanten, *fu*-heterozygot-mutanten, *shrub, lgd*-heterozygot-doppelmutanten, *fu/+; lgd*-mutanten und *fu, shrub*-heterozygot-mutanten Germarien. Pro Genotyp wurden falls nicht anders vermerkt n=50 Germarien analysiert. * zeigt die Signifikanz im Vergleich zum Wildtyp und ** zeigt die Signifikanz zwischen *lgd* und *fu/+;lgd*;

$p < 0.05$. In wildtypischen Germarien konnten durchschnittlich 2,6 *dad*-positive Zellen beobachtet werden. Diese Anzahl entspricht der Literaturaussage. *lgd*-mutante Germarien enthalten im Schnitt 3,6 *dad-lacZ* exprimierende Zellen. Dabei handelt es sich um einen signifikanten Unterschied im Vergleich zum Wildtyp. *shrub*-heterozygot-mutante Germarien enthalten fast doppelt so viele *dad*-positive Zellen im Vergleich zum Wildtyp. In *fu*-heterozygot-mutanten Germarien kommt es statistisch in 4,5 Zellen zu einer *dad*-Expression. Im *shrub,lgd*-doppelheterozygot-mutanten Hintergrund entspricht die Anzahl der *dad*-positiven Zellen dem *shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund (4,92). Der Verlust von einer Kopie *fu* im *lgd*-mutanten Hintergrund führt zu einer Erhöhung der *dad*-positiven Zellen auf durchschnittlich 7 pro Germarium. Damit ist der Phänotyp gegenüber *lgd* signifikant verstärkt, was auf eine genetische Interaktion hinweist (**). Auch eine genetische Interaktion zwischen *fu* und *shrub* ist beobachtbar. Die Anzahl der *dad*-positiven Zellen ist im *fu, shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund auf durchschnittlich 6,7 Zellen erhöht.

3.1.6 Die *dad*-exprimierenden Zellen in *lgd* und *shrub* mutanten Germarien behalten länger ihren Stammzell-ähnlichen Charakter

Um nun zu überprüfen, ob die zusätzlichen *dad*-positiven Zellen in *lgd*- und *shrub*-mutanten Germarien auch darüber hinaus stammzellähnlichen Charakter haben, wurde α -Spectrin untersucht. Spectrin ist ein Protein des Zytoskeletts bildet in den Keimbahnstammzellen das sogenannte Spektrosom, welches eine runde Form hat. Da es in den Zysten zu einer unvollständigen Zellteilung kommt wird dieses Gebilde in die Länge gezogen und spaltet sich auf. Ab diesem Stadium wird es Fusom genannt. Folglich sind Keimbahnstammzellen durch eine punktförmige Spectrin-Färbung markiert und Zysten durch eine länglich-gespaltene Spectrin-Färbung (Lin et al. 1994; Cuevas et al. 1997; Spradling et al. 1997).

In wildtypischen Germarien erkennt man in der Regel abhängig von der Fokusebene meist nur ein Spektrosom im Bereich der Keimbahnstammzellen, die hier durch *dad-lacZ* markiert sind (**Abb. 3.8A'+A'''**, **3.8B'+B'''**, Pfeil). In den sich bereits teilenden Zysten zeigt die anti-Spec-Antikörperfärbung die Fusome, die je nach Anzahl der bereits durchgeführten Teilungen länglich bis aufgespalten wirken kann (**Abb. 3.8A''+A'''**, **3.8B''+B'''**, Pfeilkopf).

Der Verlust von *lgd* führt zu einer vermehrten Anzahl von Spektrosomen (**Abb. 3.8C''+C'''**, Pfeil). Korrelierend mit der ektopischen Expression von *dad-lacZ* deutet dies darauf hin, dass es sich bei diesen Zellen um Stammzellen beziehungsweise stammzellähnliche Zellen handelt (**Abb. 3.8C'+C'''**). Die Lokalisation der Fusome scheint im Vergleich zum Wildtyp nicht verändert (**Abb. 3.8C''-C'''**).

Die Analyse des Funktionsverlustes einer Kopie von *shrub* zeigte eine große Anzahl an Spektrosomen im Germarium, die auch weiter posterior im Germariums auftraten (**Abb. 3.8D''+D'''**, Pfeile). Fusome waren lediglich im Bereich fast abschnürender Zysten zu

beobachten (Abb. 3.8D''+D''', Pfeilkopf). Auch hier korreliert das Auftreten der vermehrten Spektrosome mit der ektopischen Expression von *dad-lacZ* (Abb. 3.8D'+D''').

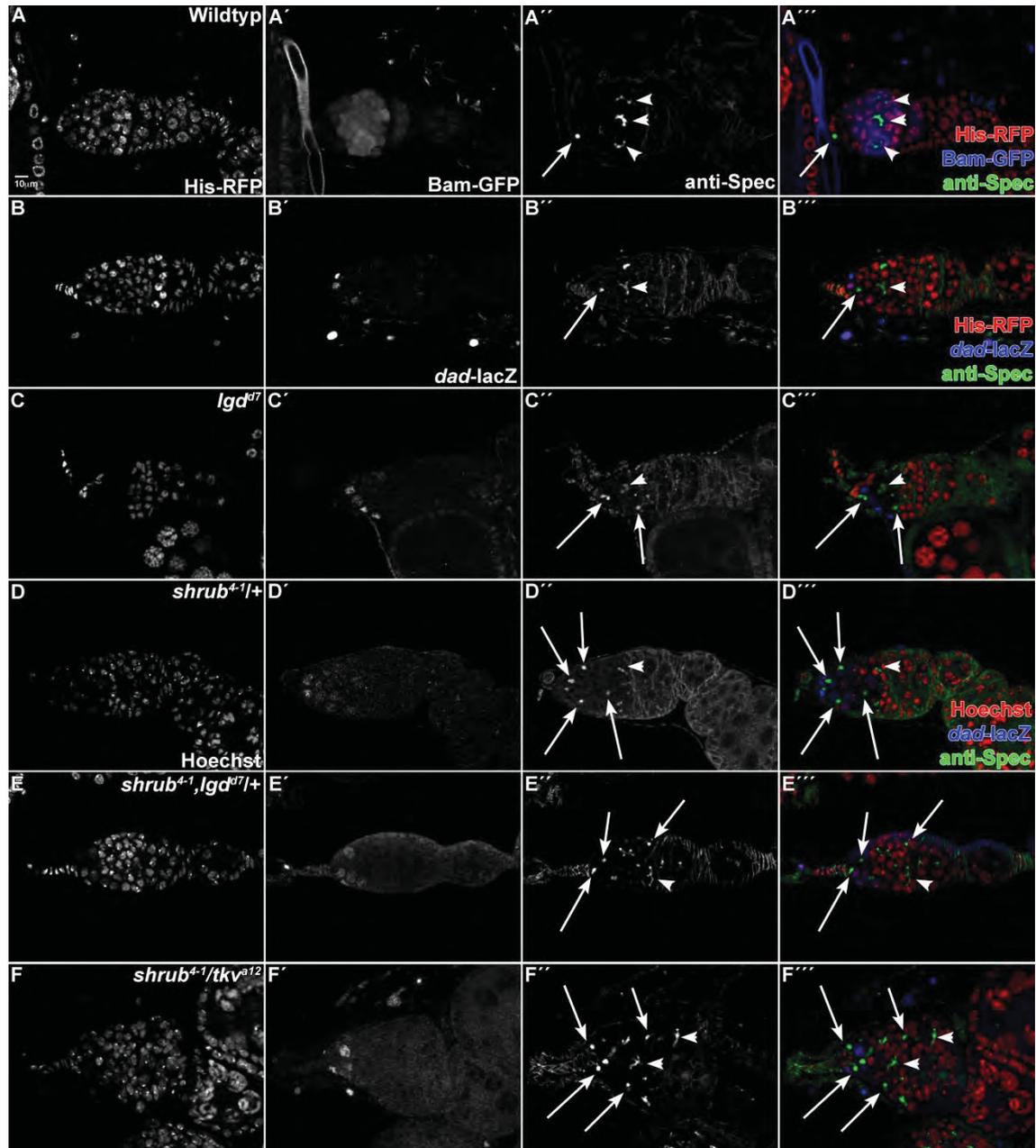


Abb. 3.8: Analyse der anti-Spec-Antikörperfärbung in wildtypischen, *lgd*-mutanten, *shrub*-heterozygot mutanten, *lgd*, *shrub*-heterozygot-mutanten und *shrub*, *tkv*-heterozygot-doppelmutanten Germarien. links=Anterior, recht= Posterior (A-A''') wildtypisches Germarium. (A) His-RFP markiert die Zellkerne. (A') Bam-GFP ist in den differenzierenden Zysten exprimiert. (A'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt ein Spektrosome im Bereich der Keimbahnstammzellen und weitere Fusome im Bereich der Zysten. (A''') Überlagerung von His-RFP (rot), Bam-GFP (blau) und anti-Spec (grün). (B-B''') wildtypisches Germarium. (B) His-RFP markiert die Zellkerne. (B') *dad-lacZ* ist in den beiden Keimbahnstammzellen exprimiert. (B'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt ein Spektrosome im Bereich der Keimbahnstammzellen und weitere Fusome im Bereich der Zysten. (B''') Überlagerung von His-RFP (rot), *dad-lacZ* (blau) und anti-Spec (grün). Die Lokalisation des Spektrosoms korreliert mit der *dad-lacZ* Färbung. (C-C''') *lgd*-mutantes Germarium. (C) His-RFP markiert die *lgd*-mutanten Bereiche

negativ. (C') *dad-lacZ* ist in mehreren Zellen exprimiert. (C'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome und weitere Fusome im hinteren Bereich des Germariums. (C''') Überlagerung von His-RFP (rot), *dad-lacZ* (blau) und anti-Spec (grün). (D-D'') *shrub*-heterozygot-mutantes Germarium. (D) Hoechst. (D') *dad-lacZ* ist in mehreren Zellen exprimiert. (D'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome im Großteil des Germariums und nur wenige Fusome im hinteren Bereich des Germariums. (D''') Überlagerung von Hoechst (rot), *dad-lacZ* (blau) und anti-Spec (grün). (E-E'') *shrub,lgd*-heterozygot-doppelmutantes Germarium. (E) Hoechst. (E') *dad-lacZ* ist in mehreren Zellen im anterioren Bereich des Germariums exprimiert. (E'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome im vorderen Bereich des Germariums (Pfeile). Fusome sind erst im hinteren Bereich des Germariums zu sehen (Pfeilköpfe). (E''') Überlagerung von Hoechst (rot), *dad-lacZ* (blau) und anti-Spec (grün). (F-F'') *shrub, tkv*-doppelheterozygot-mutantes Germarium. (F) Hoechst. (F') *dad-lacZ* ist in nur wenigen Zellen exprimiert. (F'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome, aber auch einige Fusome im hinteren Bereich des Germariums. (F''') Überlagerung von Hoechst (rot), *dad-lacZ* (blau) und anti-Spec (grün).

Die Analyse von *shrub, lgd*-heterozygot-doppelmutanten Germarien zeigte ebenfalls zusätzliche *dad*-exprimierende Zellen und zusätzliche Spektrosome bis in Region 2B (Abb. 3.8E'-E'', Pfeile). Erst im hinteren Bereich des Germariums konnten Fusome beobachtet werden (Abb. 3.8E'''+E''', Pfeilkopf). Im Vergleich zur *shrub*-Heterozygose wurden weniger zusätzliche *dad*-positive Zellen und Spektrosome beobachtet als in *shrub/+*-Germarien (Abb. 3.8D'''+D''', Pfeile). Die Lokalisation der Fusome war allerdings nicht verändert. Der Phänotyp von *shrub/+* scheint durch zusätzlichen Verlust einer Kopie *lgd* ebenfalls abgeschwächt zu sein.

Um nun zu überprüfen, ob der *shrub*-heterozygot-mutante Phänotyp durch die Abschwächung des Dpp-Signalweges ebenfalls abgeschwächt werden kann wurde zusätzlich eine Kopie des Tkv-Rezeptors entfernt. In diesem Fall konnte immer noch eine ektopische Anzahl an Spektrosomen beobachtet werden (Abb. 3.8.F'''+F''', Pfeile). Allerdings ist die Lokalisation der Fusome wieder weiter Richtung anterior gerückt (Abb. 3.8.F'''+F''', Pfeilkopf). Darüber hinaus kommt es auch zu einer weniger starken ektopischen *dad-lacZ* Expression im Vergleich zu *shrub/+* (Abb. 3.8D'+D''', 3.8F'+F'''). Der *shrub*-heterozygot-mutante Phänotyp scheint durch den Verlust einer Kopie von *tkv* reduziert zu sein.

Aufgrund der Beobachtung, dass die ektopisch *dad-lacZ* exprimierenden Zellen im Germarium nur Spektrosome besitzen, lässt sich schließen, dass es sich dabei um Stammzellen oder wenigstens stammzellähnliche Zellen handeln muss. Dementsprechend scheinen *lgd* und *shrub* einen Einfluss auf das Keimbahnstammzellschicksal zu haben. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass dieser Einfluss über den Dpp-Signalweg läuft, da bereits der Verlust einer Kopie von *tkv* den *shrub*-heterozygot-mutanten Phänotyp abschwächt.

3.1.7 Analyse der genetischen Interaktion von *fu*, *lgd* und *shrub* während der Keimbahnentwicklung

Es wurde beobachtet, dass der Ausfall der Kinase *fused* ebenfalls zu Eikammern mit zusätzlichen Zellen führt (Narbonne-Reveau et al. 2006). Der Komplex aus Fused und der E3-Ub-Ligase Smurf ist spezifisch für den Abbau der aktivierten Form von Tkv innerhalb der Keimbahnstammzellnische verantwortlich (Xia et al. 2010). Der Funktionsverlust von *fu* verhindert den Abbau von aktivierten Tkv-Rezeptoren in den Vorläufern der Keimbahnstammzellen und so kommt es zu einer Erhöhung der Reichweite des Dpp-Signalweges. Diese ektopische Aktivierung ist zellautonom, aber abhängig von dem Dpp-Liganden. Dadurch kommt es unter anderem zu Eikammern mit 32 Zellen, wie es auch beim Verlust von *lgd* beobachtet werden konnte (**Abb. 3.10**) (Narbonne-Reveau et al. 2006).

Es konnte bereits gezeigt werden, dass der Verlust von *lgd* in der Keimbahn zur Akkumulation von Transmembranproteinen wie Dl, Tkv und der extrazellulären Domäne von N führt (Morawa et al. 2015; Morawa 2012; Schneider und Markus Hubertus 2012). Darüber hinaus konnte ebenfalls festgestellt werden, dass die Reichweite des Dpp-Signalweges in *lgd*-mutanten Germarien erhöht ist (**Kapitel 3.1.5**). Um nun herauszufinden, ob die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges durch einen generellen Abbaufekt verursacht wurde, der auch die aktivierte Form des Tkv-Rezeptors betrifft, wurde die genetische Interaktion zwischen *lgd* und *fu* untersucht.

Der Verlust einer Kopie der Kinase *fu* führt bereits zu Defekten in der Keimbahn. Es kommt zu einer erhöhten Expression von Tkv im Bereich früher Zysten im Germarium (**Abb. 3.9A'+A''', 3.9B'+B'''**). Die Verteilung von NECD ist dort nicht verändert (**Abb. 3.9A'''+A''', 3.9B'''+B'''**). Darüber hinaus kommt es zu einer ektopischen Expression des Dpp-Reporters *dad-lacZ* (**Abb 3.9C'+C''**). Durchschnittlich befinden sich 4,5 *dad*-positive Zellen in einen *fu*-heterozygot-mutanten Germarien (**Abb. 3.7**). Allerdings hat der Verlust einer Kopie *fu* keinen Einfluss auf die Anzahl der Keimzellen (**Abb. 3.10**).

Der Verlust einer Kopie von *fu* in *lgd*-mutanten Germarien erhöht die Anzahl an *dad*-positiven Zellen signifikant auf 7 (**Abb. 3.7**). Wie zu erwarten kommt es auch hier in der Keimbahn zu einer Akkumulation von NECD und Tkv-YFP in Vesikeln (**Abb. 3.9D'''+D''', 3.9E'-E'''**). Außerdem scheint es zu einer Verstärkung des Tkv-YFP-Signals im Germarium zu kommen (**Abb. 3.9E'**). Die Anzahl an Eikammern mit 32

Zellen in *lgd*-mutanten Eikammern scheint durch den Verlust einer Kopie *fu* leicht reduziert auf 10,7 % zu sein (Abb. 3.10).

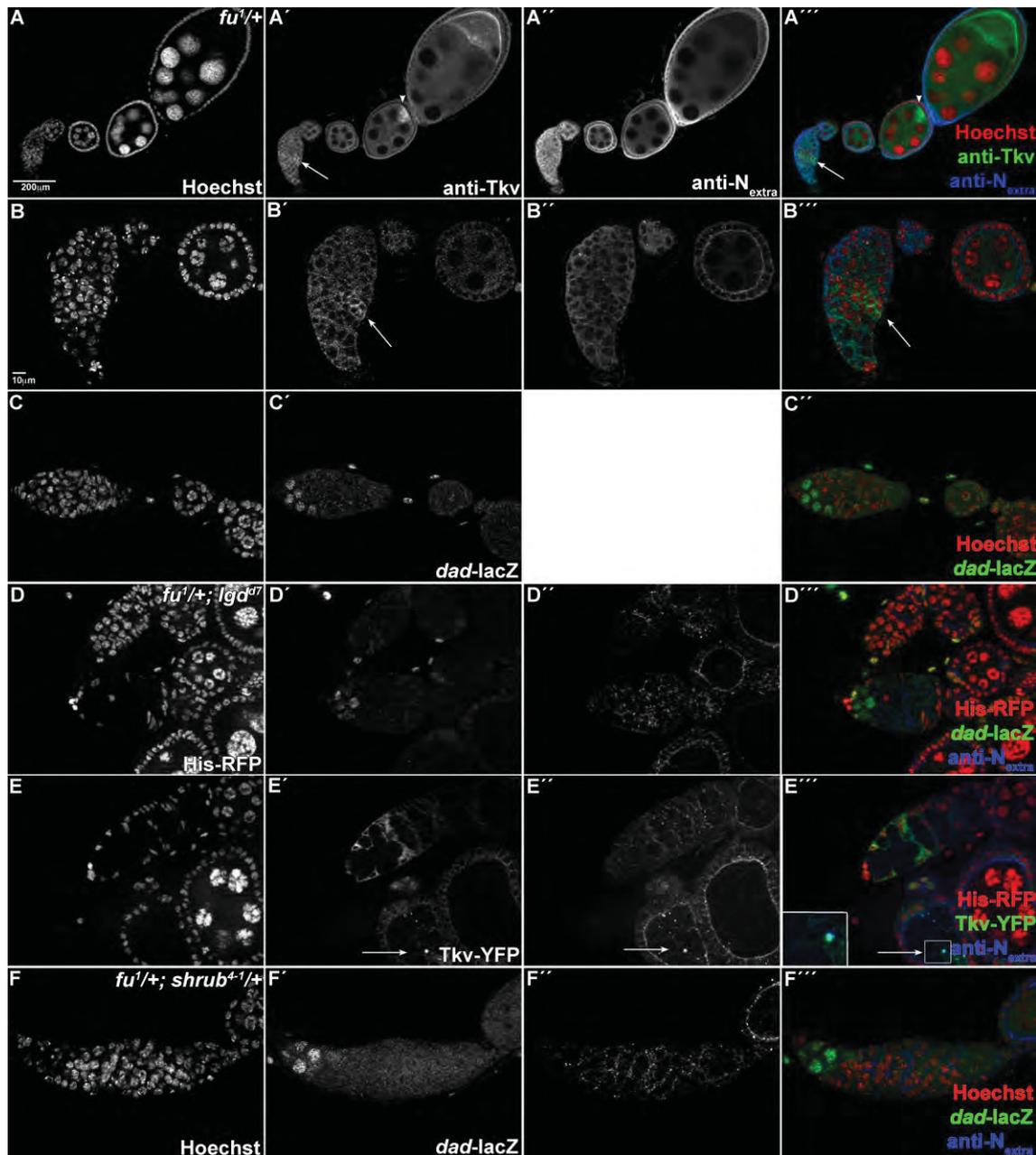


Abb. 3.9: Analyse der Heterozygose von *fu*, dem Verlust einer Kopie *fu* im *lgd*-mutanten Hintergrund und *fu*, *shrub* Heterozygose. links=Anterior, recht= Posterior (A-A'') *fu*-heterozygot-mutanter Ovarienschlauch. (A) Hoechst. (A') Die anti-Tkv-Antikörperfärbung zeigt eine wildtypische Verteilung. Man erkennt eine Akkumulation in den frühen Zysten des Germariums (Pfeil) und in der Oozyte ab Stadium 6 (Pfeilkopf). Dies entspricht der wildtypischen Verteilung. (A'') Die anti-N_{extra}-Antikörperfärbung zeigt eine wildtypische Verteilung. N_{extra} ist gleichmäßig an den Plasmamembranen lokalisiert. (A''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti-Tkv (grün) und anti-N_{extra} (blau). (B-B'') *fu*-heterozygot-mutantes Germarium. (B) Hoechst. (B') Die anti-Tkv-Antikörperfärbung zeigt eine Akkumulation in den frühen Zysten des Germariums (Pfeil). (B'') Die anti-N_{extra}-Antikörperfärbung zeigt eine wildtypische Verteilung. N_{extra} ist gleichmäßig an den Plasmamembranen lokalisiert. (B''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti-Tkv (grün) und anti-N_{extra} (blau). (C-C'') *fu*-heterozygot-mutantes Germarium. (C) Hoechst. (C') Die anti-β-Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression des Reporters *dad-lacZ*. Man kann fünf *dad*-positive Zellen

erkennen. (C'') Überlagerung von Hoechst (rot) und anti- β -Gal (grün). (D-D'') *fu/+;lgd*-mutanter Ovariolschlauch mit Fokus auf das Germarium. (D) His-RFP zeigt durch seine Abwesenheit die *lgd*-mutanten Bereiche an. (D') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression des Reporters *dad-lacZ*. Man kann mehrere *dad*-positive Zellen erkennen. (D'') Die anti-N_{extra}-Antikörperfärbung zeigt eine Akkumulation. (D''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (grün) und anti-N_{extra} (blau). (E-E'') *fu/+;lgd*-mutanter Ovariolschlauch mit Fokus auf das Germarium. (E) His-RFP zeigt durch seine Abwesenheit die *lgd*-mutanten Bereiche an. (E') Das Reporter-Konstrukt Tkv-YFP zeigt eine Akkumulation in der Keimbahn (Pfeil) und ein starkes Signal im Germarium. (E'') Die anti-N_{extra}-Antikörperfärbung zeigt auch eine Akkumulation in der Keimbahn (Pfeil). (E''') Überlagerung von His-RFP (rot), Tkv-YFP (grün) und anti-N_{extra} (blau) zeigt eine Kolo-kalisation (Vergrößerung). (F-F'') *fu, shrub*-heterozygot-mutantes Germarium. (F) Hoechst. (F') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression des Reporters *dad-lacZ*. Man kann mehrere *dad*-positive Zellen erkennen. (F'') Die anti-N_{extra}-Antikörperfärbung zeigt eine deutliche Akkumulation. (F''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (grün) und anti-N_{extra} (blau).

Der Verlust je einer Kopie *fu* und *shrub* erhöht ebenso die Anzahl der *dad*-positiven Zellen auf 6,7 pro Germarium (Abb. 3.9F'+F'''; Abb. 3.7). Die Anzahl der Eikammern mit 32 Zellen ist auf 52 % erhöht (Abb. 3.10). Dies lässt vermuten, dass es zwischen *shrub* und *fu* zu einer synergistischen Interaktion kommt. Gleiches gilt für die Interaktion von *lgd* und *fu* in Bezug auf die ektopischen *dad*-positiven Zellen. Dementsprechend scheint die Interaktion von *lgd* und *shrub* mit *fu* gleichgerichtet zu sein.

In Bezug auf den 32-Keimzellphänotyp konnte allerdings zwischen *lgd* und *shrub* eine antagonistische Interaktion beobachtet werden (Abb. 3.7, Abb. 3.10). In der Flügelimaginalscheibe konnte ebenfalls eine antagonistische Interaktion von *shrub* und *lgd* in Bezug auf die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges beobachtet werden. Eine synergistische Interaktion besteht in Bezug auf die vergrößerten Endosomen (Troost et al. 2012). Darüber hinaus ist auch hier eine Akkumulation der NECD beobachtbar (Abb. 3.9F''+F''').

Der Verlust von *fu* führt vermutlich dazu, dass der Tkv-Rezeptor nicht mehr ubiquitiniert, und dementsprechend nicht mehr in intraluminale Vesikel verpackt wird. Bei Ausfall von *lgd* und *shrub* kommt es zu einer verminderten Bildung von intraluminale Vesikeln durch die Fehlfunktion der ESCRT-Maschinerie. Dadurch verbleiben auch Transmembranproteine, wie die aktivierte Form von Tkv, an der Vesikelmembran und können weiter signalisieren. *fu*, *lgd* und *shrub* wirken so an unterschiedlichen Punkten im gleichen Prozess und verstärken den Defekt.

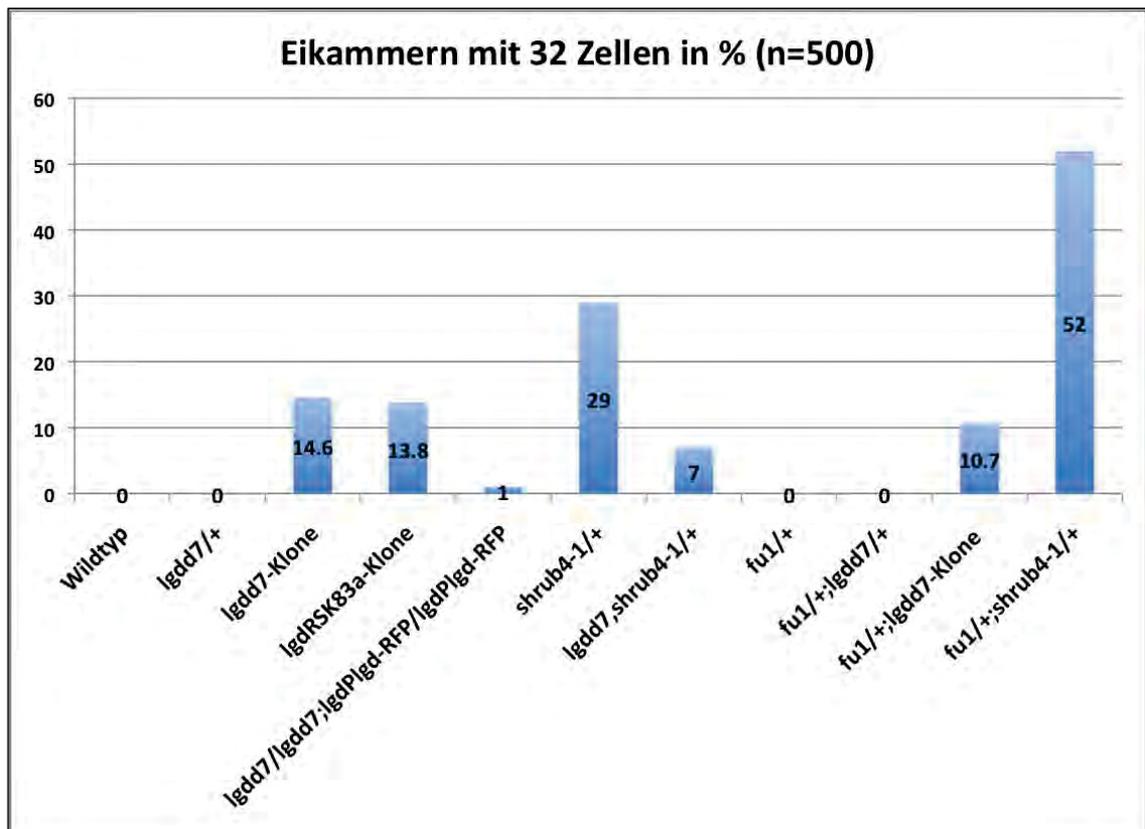


Abb. 3.10: Statistische Analyse der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen. Pro Genotyp wurden n=500 Eikammern untersucht. In wildtypischen und *lgd*-heterozygot-mutanten Eikammern kommen niemals Eikammern mit 32 Zellen vor. *lgd^{d7}*-mutante Eikammern zeigen in 14,6 % 32 Zellen. Auch ein anderes amorphes *lgd*-Allel RSK83a zeigt einen ähnlichen Wert (13,8 %). Der *lgd*-Phänotyp kann durch das Konstrukt *lgd*-RFP unter dem endogenen *lgd*-Promotor nahezu vollständig gerettet werden (1 %). *shrub* zeigt bereits in Heterozygose in 29 % der Fälle Eikammern mit 32 Zellen. Die Anzahl an Eikammern mit 32 Zellen ist im *shrub*, *lgd*-heterozygot-mutanten Hintergrund auf 7 % reduziert. Dies weist auf eine antagonistische Interaktion hin. *fu*-heterozygot-mutante Eikammern weisen keine vermehrten Keimbahnzellen auf (0 %). Dies ist auch der Fall in *fu*, *lgd*-heterozygot-doppelmutanten Eikammern (0 %). Der Verlust einer Kopie *fu* in *lgd*-mutanten Eikammern sorgt in 10,7 % der Fälle für 32 Zellen. In *fu*, *shrub*-heterozygot-doppelmutanten Eikammern kommt es in 52 % der Fälle zu 32 Zellen. Dies weist auf eine synergistische Beziehung zwischen *fu* und *shrub* hin.

3.1.8 Der Verlust von *Dmon1* in *lgd*-mutanten Zellen führt ebenfalls zu mehr GSC-ähnlichen Zellen im Germarium

Die Analyse von *lgd* in der Flügelimaginalscheibe und dem Follikel epithel zeigte, dass die Fusion mit dem Lysosom zwingend notwendig für die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges ist. Die Rezeptoren, die an der limitierenden Membran der MVBs zurückgeblieben waren könnten durch das saure Milieu aktiviert werden (Schneider et al. 2013). Diese Hypothese konnte durch jüngere Ergebnisse unterstützt werden (Couturier et al. 2014). Durch die oben beschriebenen, Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass Tkv in seiner aktiven Form ebenfalls auch an der limitierenden Membran der MVBs zurückbleibt, und von dort signalisiert. Würde das MVB länger als normal

existieren würde auch die ektopische Aktivität weiter fortbestehen. Aus diesem Grunde sollte nun der Ausfall von *Dmon1* untersucht werden. *Dmon1* ist Teil des *ccz1/mon1*-Komplexes und sorgt für die Fusion mit dem Lysosom. Fällt dieses Gen aus kommt es zu keiner Fusion mit dem Lysosom mehr und MVBs existieren unbestimmt weiter und nehmen erheblich an Größe zu. Die Morphologie der MVBs ist allerdings intakt (Yousefian et al. 2013).

Der Verlust einer Kopie von *Dmon1* führt zur Bildung von zwei bis drei *dad-lacZ* positiven Zellen pro Germarium (**Abb. 3.11A'+A''**). Darüber hinaus zeigt die anti-Spec-Antikörperfärbung ein Spektrosom im Bereich der *dad-lacZ* positiven Zellen (**Abb. 3.11A''+A'''**; Pfeil). Im hinteren Bereich sind einige Fusome sichtbar (**Abb. 3.11A''+A'''**; Pfeilkopf). Zudem kommt es nicht zur Bildung von Eikammern mit 32 Zellen (**Abb. 3.12**). Der Phänotyp entspricht dem Wildtyp.

Der vollständige Funktionsverlust von *Dmon1* führt, wie der Verlust von *lgd*, zu einer erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen im Germarium (**Abb. 3.11B'+B''**). Darüber hinaus konnten bei diesen *dad*-positiven Zellen Spektrosome nachgewiesen werden, was sie als Zellen mit Stammzellcharakter kennzeichnet (**Abb. 3.11B''+B'''**). Außerdem kommt es in 11,4 % der *Dmon1*-mutanten Eikammern zur Bildung von 32 Zellen (**Abb. 3.12**). Dies ist vermutlich auch auf den gestörten Abbau von aktiviertem Tkv zu erklären. Da die MVB-Biogenese nicht gestört ist bleibt die Fragen offen, ob es durch den gestörten Abbau zu einem Rückstau an der Plasmamembran kommt oder zu einem fehlerhaften endosomalen Transport, wodurch die aktiven Tkv-Rezeptoren akkumulieren und an der Membran von frühen Vesikeln aus weiter signalisieren.

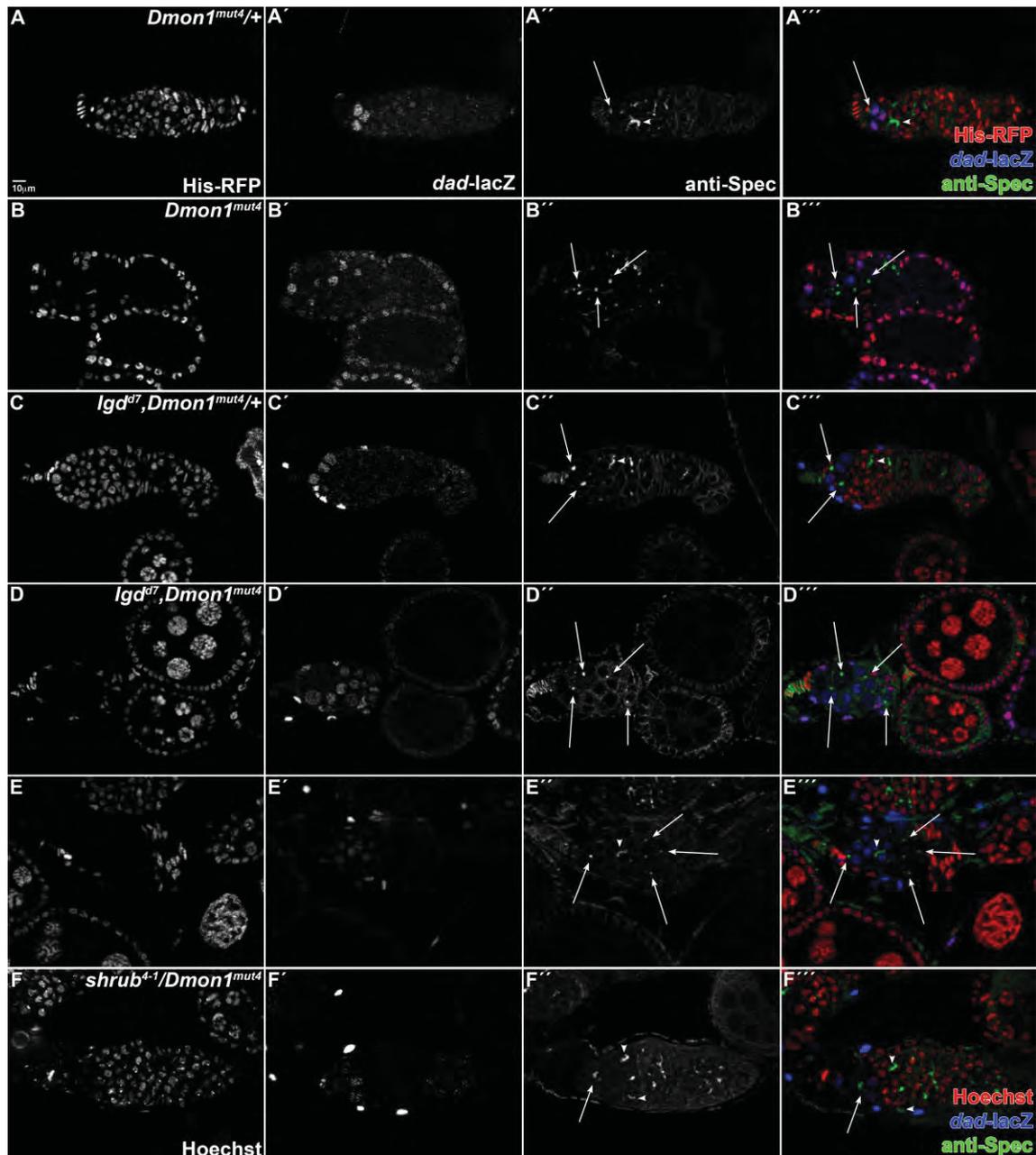


Abb. 3.11: Analyse der *Dmon1*-mutanten und *lgd*, *Dmon1*-doppelmutanten Keimbahn. links=Anterior, rechts=Posterior (A-A'') *Dmon1*-heterozygot-mutantes Germarium. (A) His-RFP markiert die Zellkerne. (A') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ*. Es sind zwei bis drei *dad*-positive Zellen beobachtbar. (A'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt ein Spektrosom (Pfeil) im Bereich der *dad*-positiven Zellen und mehrere Fusome im Bereich später Zysten. (A''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (blau) und anti-Spec (grün). (B-B'') *Dmon1*-mutantes Germarium. (B) His-RFP markiert die mutanten Bereiche negativ. (B') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ*. Es sind mehrere *dad*-positive Zellen im Germarium beobachtbar. Zusätzlich kommt es im umliegenden heterozygot-mutanten Follikel-epithel ebenfalls zu einer ektopische *dad*-Expression. (B'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome (Pfeile) im Bereich der *dad*-positiven Zellen, aber keine Fusome im Bereich später Zysten. (B''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (blau) und anti-Spec (grün). (C-C'') *lgd*, *Dmon1*-heterozygot-doppelmutantes Germarium. (C) His-RFP markiert die Zellkerne. (C') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ*. Es sind zusätzliche *dad*-positive Zellen im Germarium beobachtbar. Darüber hinaus zeigt das umliegende heterozygot-mutante Follikel-epithel ebenfalls eine ektopische *dad*-Expression (C'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mindestens

zwei Spektrosome (Pfeile) im Bereich der *dad*-positiven Zellen und mehrere Fusome im Bereich später Zysten (Pfeilkopf). (C'') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (blau) und anti-Spec (grün). (D-D'') *lgd, Dmon1*-doppelmutantes Germarium. (D) His-RFP markiert die mutanten Bereiche negativ. (D') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ*. Es sind sehr viele *dad*-positive Zellen im Germarium beobachtbar. Darüber hinaus zeigt das umliegende heterozygot-mutante Follikelepithel ebenfalls eine ektopische *dad*-Expression. (D'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome (Pfeile) im Bereich der *dad*-positiven Zellen, aber keine Fusome im Bereich später Zysten. (D''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (blau) und anti-Spec (grün). (E-E'') *lgd, Dmon1*-doppelmutantes Germarium. (E) His-RFP markiert die mutanten Bereiche negativ. (E') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ*. Es sind sehr viele *dad*-positive Zellen beobachtbar. (E'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt mehrere Spektrosome (Pfeile) im Bereich der *dad*-positiven Zellen und im mittleren Bereich ein Fusom (Pfeilkopf). (E''') Überlagerung von His-RFP (rot), anti- β -Gal (blau) und anti-Spec (grün). (F-F'') *shrub, Dmon1*-doppelheterozygot-mutantes Germarium. (F) Hoechst. (F') Die anti- β -Gal-Antikörperfärbung zeigt die Expression von *dad-lacZ*. Es sind vier Keimbahnstammzellen beobachtbar. (F'') Die anti-Spec-Antikörperfärbung zeigt ein Spektrosom (Pfeil) und im mittleren Bereich sind einige Fusome sichtbar (Pfeilkopf). Der Phänotyp scheint abgeschwächt. (F''') Überlagerung von Hoechst (rot), anti- β -Gal (blau) und anti-Spec (grün).

Der Verlust je einer Kopie *lgd* und *Dmon1* führt im Germarium zu einer erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen, was aber wiederum nicht zu Eikammern mit 32 Zellen führt (Abb. 3.12, Abb. 3.11C'+C''). Betrachtet man die anti-Spec-Antikörperfärbung erkennt man einige ektopische Spektrosome im anterioren Bereich des Germariums und im Bereich der späten Zysten Fusome (Abb. 3.11C''+C''').

Die Analyse von *lgd, Dmon1*-doppelmutanten Germarien zeigte, dass es zu sehr vielen *dad*-positiven Zellen kommt. Nahezu das gesamte Germarium ist davon betroffen (Abb. 3.11D'+D''', 3.11E'+E'''). Diese Verstärkung deutet auf eine Rolle beider Gene im selben Prozess hin. Allerdings kommt es durch den zusätzlichen Ausfall von *Dmon1* in *lgd*-mutanten Eikammern nicht zu einer Erhöhung der Anzahl an Eikammern mit 32 Zellen (14,7 %) (Abb. 3.12). Betrachtet man die anti-Spec-Antikörperfärbung erkennt man fast ausschließlich Spektrosome. Dies deutet darauf hin, dass es sich bei diesen Zellen um Stammzellen beziehungsweise stammzellähnliche Zellen handelt (Abb. 3.11D''+D''', 3.11E''+E''').

Es sollte ebenfalls überprüft werden, ob der Verlust einer Kopie *Dmon1* einen Einfluss auf den *shrub*-heterozygot-mutanten Phänotyp hat. Es sind mittels *dad*-Expression vier Keimbahnstammzellen identifizierbar. Darüber hinaus ist eine ektopische Expression von *dad* in der sich abschnürenden Eikammer am Ende des Germariums zu sehen (Abb. 3.11F'+F'''). Spektrosome sind lediglich im vorderen Bereich des Germariums zu beobachten (Abb. 3.11F''+F''', Pfeil) und Fusome ab Region 2B (Abb. 3.11F''+F''').

Der Phänotyp von *shrub*/+ scheint durch den Verlust einer Kopie *Dmon1* abgeschwächt zu sein.

Interessanterweise konnte sowohl im Fall von *Dmon1* als auch von *Dmon1,lgd* im umliegenden heterozygoten Follikelepithel eine ektopische *dad*-Expression beobachtet werden (Abb. 3.11 B-D''). Dies ist allerdings nur zu beobachten, wenn die jeweiligen Fliegen zuvor einem Hitzeschock bei 37 °C unterzogen wurden (vgl. Abb. 3.11A-A''). Dies könnte auf eine Temperatursensitivität von *Dmon1* hinweisen.

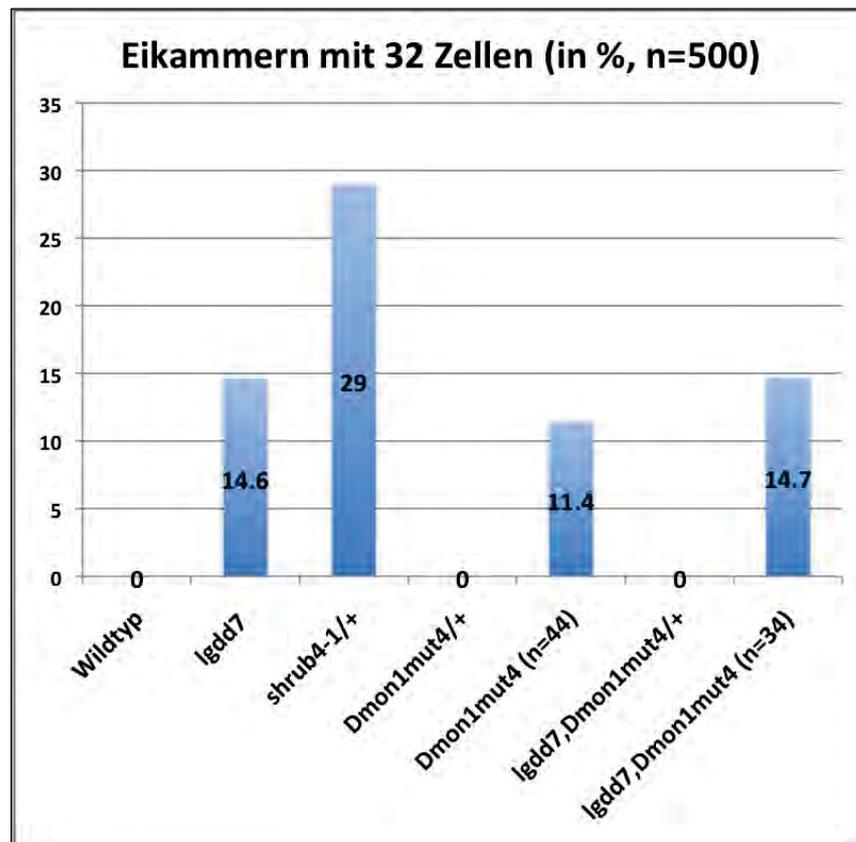


Abb. 3.12: Statistische Analyse der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen. Falls nicht anders vermerkt wurden pro Genotyp n=500 Eikammern untersucht. Im Wildtyp konnten keine Eikammern mit 32 Zellen beobachtet werden. Der Ausfall von *lgd* führt in 14,6 % der Fälle zu Eikammern mit 32 Zellen, während der Ausfall von einer Kopie *shrub* in 29 % der Fälle zu 32er Eikammern führt. Der Funktionsverlust von einer Kopie *Dmon1* führt zu keiner Verdoppelung der Keimzellanzahl, allerdings führt der komplette Verlust in 11,4 % der Fälle zu einer Verdoppelung der Keimzellanzahl. *lgd, Dmon1*-heterozygot-doppelmutante Eikammern zeigen niemals 32 Keimzellen, während der vollständige Verlust in 14,7 % der Fälle zu einer Verdoppelung führt. Damit ist der *lgd*-Phänotyp nicht verstärkt.

Schlussendlich lässt sich sagen, dass die Fusion mit dem Lysosom nicht notwendig für die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges ist. Darüber hinaus verstärkt die Verlängerung der MVB-Lebenszeit zwar die ektopische *dad*-Expression im Germarium, wodurch es zu mehr stammzellähnlichen Zellen kommt, aber dies beeinflusst nicht die Anzahl der Eikammern mit 32 Zellen.

3.1.9 Die Reduktion des Liganden *Dpp* hat einen Einfluss auf den *shrub*-mutanten Phänotyp in der Keimbahn

Um zu untersuchen, ob der Phänotyp von 32 Zellen in einigen *shrub*-heterozygot-mutanten Eikammern abhängig vom Liganden *Dpp* ist, wurden die beiden hypomorphen Allele *dpp^{d10}* und *dpp^{d12}* untersucht und deren Einfluss auf der *shrub*-heterozygot-mutanten 32-Keimzell-Phänotyp.

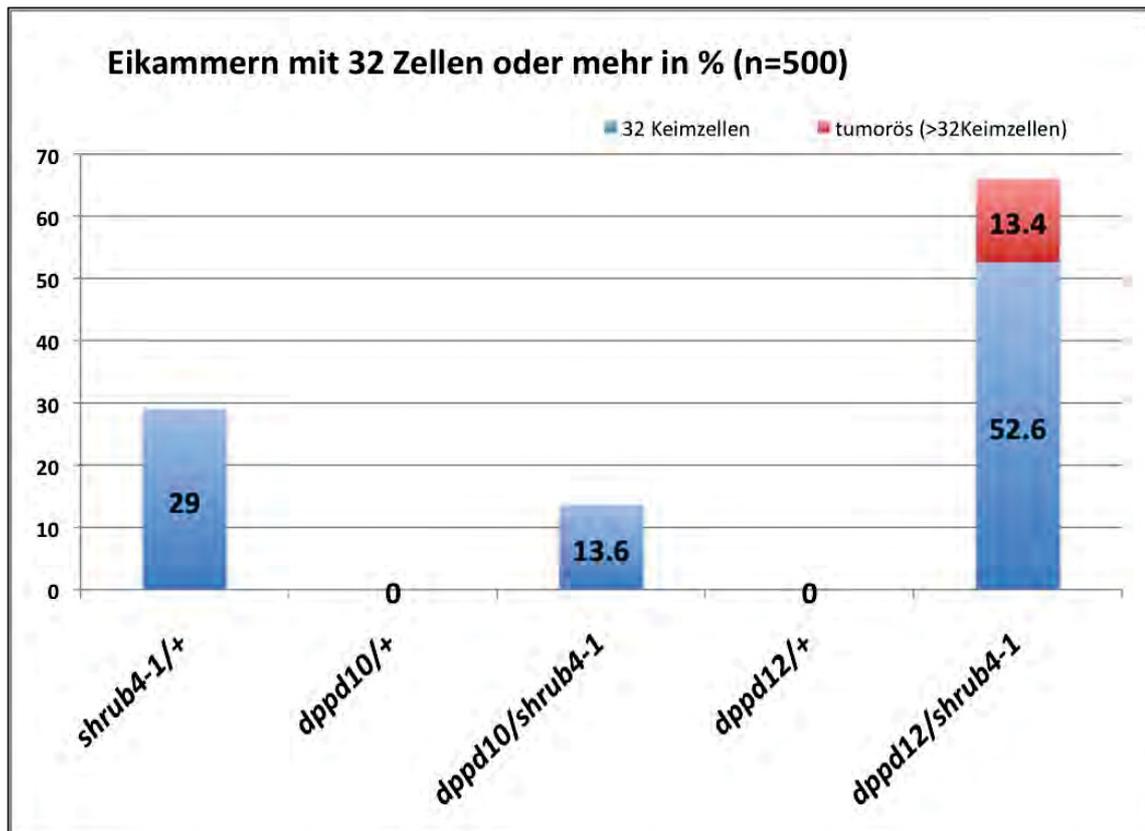


Abb. 3.13: Statistische Analyse der genetischen Interaktion von *shrub* und *dpp* in Bezug auf die Bildung von Eikammern mit 32 Zellen. Pro Genotyp wurden n=500 Eikammern untersucht. Der Verlust von einer Kopie *shrub* führt in 29 % der Fälle zu Eikammern mit 32 Zellen. Dahingegen führt der Verlust einer Kopie *dpp^{d10}* beziehungsweise einer Kopie *dpp^{d12}* zu keinerlei Veränderung in der Keimzellanzahl. Der zusätzliche Verlust einer Kopie *dpp^{d10}* im *shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund führt zu einer Reduktion des *shrub*-Phänotyps auf 13,6 %. Dahingegen kommt es beim zusätzlichen Verlust einer Kopie des hypomorphen Allels *dpp^{d12}* im *shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund zu einer Verstärkung des *shrub*-Phänotyps auf 52,6 %. Darüber hinaus entsteht eine tumoröse Fraktion von 13,4 % von Eikammern, die eine unbestimmte aber höhere Anzahl als 32 Keimzellen aufweisen.

Der Verlust einer Kopie von *dpp^{d10}* oder *dpp^{d12}* führt zu keinerlei Veränderung in der Keimzellanzahl, obwohl der zusätzliche Verlust einer Kopie von *dpp^{d10}* den Anteil der Eikammern mit verdoppelter Keimzellanzahl in *shrub*-heterozygot-mutanten von 29 % auf 13,6 % um mehr als die Hälfte reduziert. Fehlt im *shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund jedoch zusätzlich eine Kopie des hypomorphen Allels *dpp^{d12}* kommt es zu

einer Verdoppelung der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen auf 52,6 %. Darüber hinaus wurde noch eine 13,4 %ige Fraktion beobachtet, in denen die Eikammern eine größere Zellanzahl als 32 enthielten. Diese wird hier als „tumorös“ bezeichnet (**Abb. 3.13**).

Die Ergebnisse liefern einen Hinweis darauf, dass die Dosis des Liganden Dpp einen Einfluss auf die Bildung von zusätzlichen Keimbahnzellen im *shrub*-heterozygot-mutanten Hintergrund haben konnte.

3.2 Ein Modifier-Screen um neue Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase Mind bomb 1 von *Drosophila* zu finden

Für die Aktivierung des Notch-Signalweges ist die Endozytose der Liganden D1 und Ser notwendig (Seugnet et al. 1997). Diese Endozytose wird unter anderem durch die E3-Ubiquitin-Ligase Mib1 vermittelt. Das Signal für die Endozytose ist die Ubiquitinierung. Diese findet an Lysin-Resten der intrazellulären Domäne der Liganden statt (Übersicht in Le Borgne et al. 2005a; Le Borgne et al. 2005b).

Um einen genaueren Einblick in die Mib1-abhängige Endozytose zu bekommen wurde ein D1-Konstrukt hergestellt, dem alle intrazellulären Lysine fehlen, D1_{K2R}. Ohne diese Lysine sollte der Ligand nicht in der Lage sein ubiquitiniert zu werden oder den Notch-Signalweg zu aktivieren. Überraschender Weise konnte eine Mib1-abhängige Aktivierung des Notch-Signalweges in Flügelimaginalscheiben von *Drosophila* beobachtet werden, die D1_{K2R} überexprimieren. Diese Ergebnisse lassen auf eine Rolle von Mib1 in einem Prozess schließen, der zwar mit Endozytose zu tun hat, aber unabhängig von der Funktion der Ubiquitinierung ist (persönliche Kommunikation Kim, AG Klein).

Aus diesem Grund sollte ein Modifier-Screen durchgeführt werden mit dem Ziel neue Interaktionspartner von Mib1 zu finden und in Verbindung mit weiteren Prozessen zu bringen in denen Mib1 eine Rolle spielt.

3.2.1 Der Basis-Screen: Analyse des *Bloomington-Deficiency-Kit*

Der genetische Modifier-Screen wurde im adulten Flügel von *Drosophila melanogaster* durchgeführt. Dabei wurde ein besonderes Augenmerk auf die Flügelvenen gelegt. Die Vorteile waren hier nicht nur, dass der Flügel ein externer Körperanhang und somit leicht zu untersuchen ist, sondern auch, dass die Flügelvenen im Wildtyp ein stereotypes Muster bilden. Daran sind viele verschiedene Signalwege und Prozesse beteiligt (Huppert et al. 1997; Sotillos und Celis 2005; Guichard et al. 1999).

Der genetische Modifier-Screen sollte verwendet werden, da er die Möglichkeit bietet Kandidatengene durch Veränderung der Gendosis unabhängig von jeglichem Vorwissen über Zusammenhang oder Funktion zu ermitteln. Voraussetzung dafür ist ein sensitiver Modifier-Phänotyp, der sowohl verstärkbar, als auch abschwächbar ist. Um eine bessere

Auswertbarkeit zu gewährleisten sollte dieser Modifier-Phänotyp mit hoher Penetranz und geringer Varianz auftreten (Übersicht in St Johnston 2002).

Für den Modifier-Screen wurde ein sensitiver Phänotyp benutzt, der durch die Überexpression von *mib1* mittels *C5*-Gal4 in der Flügelimaginalscheibe erzeugt wurde (**Abb. 3.14B**). *C5* ist hauptsächlich in der Flügeltasche stark exprimiert. Dabei ist die d/v-Grenze ausgespart. Eine sehr schwache Expression lässt sich in einzelnen Zellen des Notums nachweisen (Yeh et al. 1995; Masterarbeit Schnute 2013; Diplomarbeit Boxhammer 2012). Dementsprechend wird bei der Analyse von adulten Flügeln während des Modifier Screens hauptsächlich die Veränderung von Flügelvenen erwartet, aber es kann auch zu Borstendefekten auf dem Notum kommen.

Die Überexpression von *mib1* im Flügelrand sorgt für eine verstärkte Aktivität des endogenen DI, wodurch es zu einer verstärkten Aktivierung des Notch-Signalweges in den Nachbarzellen kommt. Dadurch wird die *rho*-Expression sehr stark inhibiert, sodass mehr intervenöses Gewebe entsteht als im wildtypischen Fall. Dadurch kommt es im adulten Venenmuster zu Unterbrechungen der Flügelvenen. In **Abb. 3.14B** ist zu sehen, dass davon ausschließlich die Venen L3-L5 betroffen sind. Dabei sind die Venen L3 und L4 weitestgehend unterbrochen wobei am distalen Flügelrand noch Reste vorhanden sind. Die L5 ist im Gegensatz dazu soweit verkürzt, dass sie nicht mehr in Kontakt mit dem Flügelrand steht. Die L1 und L2 sind in keinem Fall unterbrochen. Allerdings lässt sich dort zusätzliches Venengewebe beobachten (**Abb. 3.14B**, Pfeile). Vermutlich kommt es durch eine negative Rückkopplungsschleife zustande, in die auch Suppressor of (Deltex) involviert ist (Mazaleyrat et al. 2003).

Zuvor durchgeführte Experimente ergaben, dass dieser Phänotyp mit einer 100 %igen Penetranz vorkommt. Er unterliegt allerdings einer leichten Varianz. Der hier gezeigte Phänotyp kommt zu 87,5 % vor, sodass die Varianz zu vernachlässigen ist (Diplomarbeit Boxhammer 2012). Um sexspezifische Variationen auszuschließen wurden nur weibliche Tiere untersucht.

Der sensitive Phänotyp, der durch die Überexpression von *mib1* erzeugt wurde ist die Grundlage für den Modifier Screen. Mit dieser Methode sollen neue Interaktionspartner von Mib1 gefunden werden, da durch die Aktivierungsfähigkeit des DI^{K2R}-Liganden die Vermutung nahe liegt, dass Mib1 noch an weiteren Prozessen beteiligt sein könnte, um den

Notch-Signalweg zu aktivieren außer der bekannten Ubiquitinierung der Liganden (**Kapitel 1.2**; persönliche Kommunikation Kim, AG Klein).

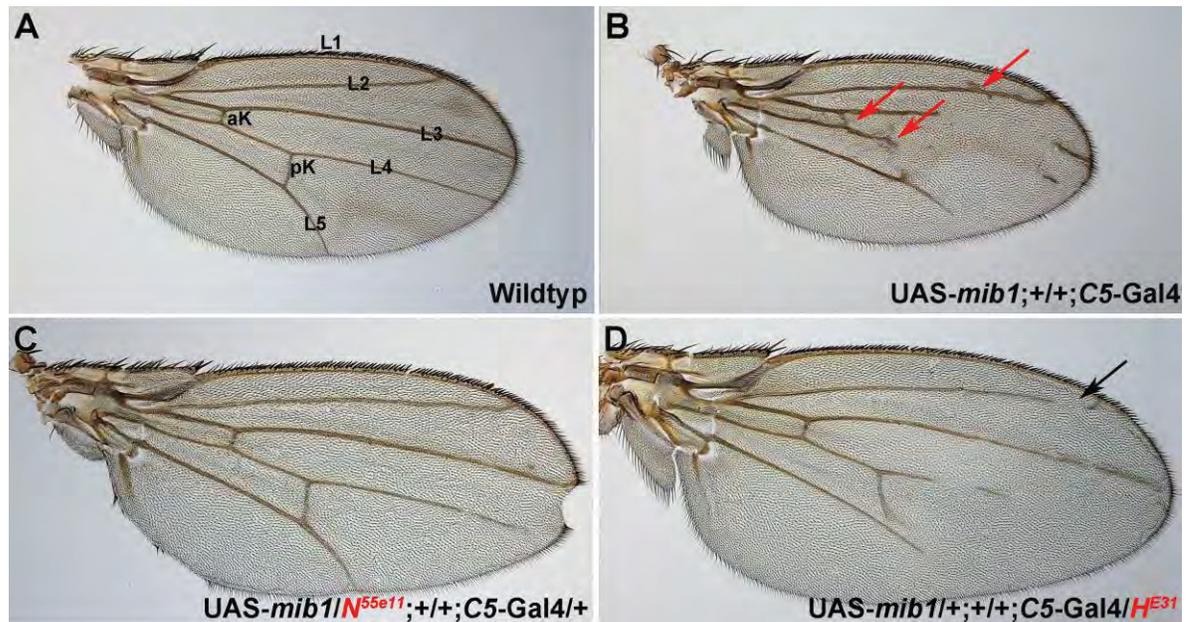


Abb. 3.14: Venenmuster eines wildtypischen Flügels von *Drosophila melanogaster*, sowie des Modifier-Stammes *UAS-mib1*; *C5-Gal4* und zweier Testkreuzungen. (A) Der wildtypische Flügel von *Drosophila* zeigt ein stereotypes Venenmuster. Dieses besteht aus 5 Longitudinalvenen (L1-5) und 2 Kreuzvenen (antere Kreuzvene = aK und posteriore Kreuzvene = pK). Die L1 ist in direktem Kontakt mit dem dorsalen Flügelrand während die L2, L3 und L4 parallel bis zum distalen Flügelrand verlaufen. Die L5 verläuft von der proximalen Gelenkregion zum ventralen Flügelrand. Die aK verbindet L3 und L4, wohingegen die pK L4 und L5 verbindet. Der Flügelrand ist durchgehend glatt und dorsal mit sensorischen Borsten ausgestattet. Die Flügelhaare sind alle homogen ausgerichtet. (B) Die Überexpression von *mib1* im Flügelfeld mittels *C5-Gal4* führt zum Verlust von Venengewebe. Die L3 und L4 sind deutlich unterbrochen, sodass am distalen Flügelrand noch etwas Venengewebe übrig ist. Die L5 ist deutlich verkürzt. Die L1 und die L2 sind nicht affektiert. Die aK ist in der Regel nicht betroffen, aber die pK in einigen Fällen. Dieser Phänotyp ist leicht variabel, aber kommt wie oben gezeigt in 87,5 % der Fälle vor. Darüber hinaus kommt es an den Kreuzvenen und besonders an der L2 zu zusätzlichem Venengewebe (rote Pfeile). (C) Die Kreuzung von einer Kopie des amorphen Allels *N^{55e11}* in den Modifier-Hintergrund *UAS-mib1*; *C5-Gal4* führt zu einer Wiederherstellung der Venen bis hin zu einem nahezu wildtypischen Level. Die L3 ist wieder durchgängig bis zum distalen Flügelrand und die L4 ist nahezu vollständig bis auf kurze Unterbrechungen im distalen Bereich. Die L5 ist wieder in Kontakt mit dem Flügelrand. Allerdings führt der Verlust von Notch zu Kerben im Flügelrand. Zusätzliches Venengewebe ist nur minimal vorhanden. Der Modifier-Phänotyp ist abschwächbar. (D) Die Kreuzung von einer Kopie des amorphen Allels *H^{E31}* in den Modifier-Hintergrund *UAS-mib1*; *C5-Gal4* führt zu einer teilweisen Reduktion der Venen. Die L5 ist weiter reduziert, während die L3 und L4 leicht wieder hergestellt sind. Die L2 ist reduziert und nicht mehr in Kontakt mit dem Flügelrand (schwarzer Pfeil). Zusätzliches Venengewebe ist nicht beobachtbar. Der Modifier-Phänotyp ist verstärkbar (Diplomarbeit Boxhammer 2012).

In Vorversuchen wurde getestet, ob mit Hilfe dieses Versuchsaufbaus Interaktionspartner von *Mib1* aufgedeckt werden können. Dazu wurden bekannte direkte Interaktionspartner und Notch-Signalwegkomponenten gegen den Modifier-Stamm (*UAS-mib1*; *C5-Gal4*) gekreuzt. Als Beispiel zeigt die Kreuzung gegen das Allel *N^{55el1}* ein nahezu wildtypisches Venenmuster. Der Phänotyp ist also abschwächbar (**Abb. 3.14C**). Das Allel *H^{E31}*, ein Co-Repressor des Notch-Signalweges, zeigt dahingegen eine weitere Reduktion der Venen. Der Phänotyp ist also auch verstärkbar (**Abb. 3.14D**, Pfeil). Es konnte gezeigt werden, dass der Versuchsaufbau geeignet ist um neue Interaktionspartner von *Mib1* zu finden. Der Modifier-Phänotyp ist sowohl verstärkbar als auch abschwächbar. Dementsprechend sind die zwingenden Voraussetzungen zur Durchführung eines Modifier Screens vorhanden.

In einer früheren Arbeit wurden bereits 105 der insgesamt 462 Stämme des *Bloomington Deficiency Kits* gekreuzt (Diplomarbeit Boxhammer 2012). Dabei zeigten einige Defizienzen eine nahezu wildtypische Veränderung bei der gleichzeitigen Überexpression von *mib1* und andere zeigten wenig bis gar keine Veränderungen. Anhand eines Bewertungssystems können die einzelnen Defizienzen in Bezug auf die Veränderung der Venen in Gruppen von Abschwächungsgraden eingeteilt werden (Diplomarbeit Boxhammer 2012). Dieses Bewertungssystem wird in dieser Arbeit weiter verwendet und erweitert (**Abb. 3.16**).

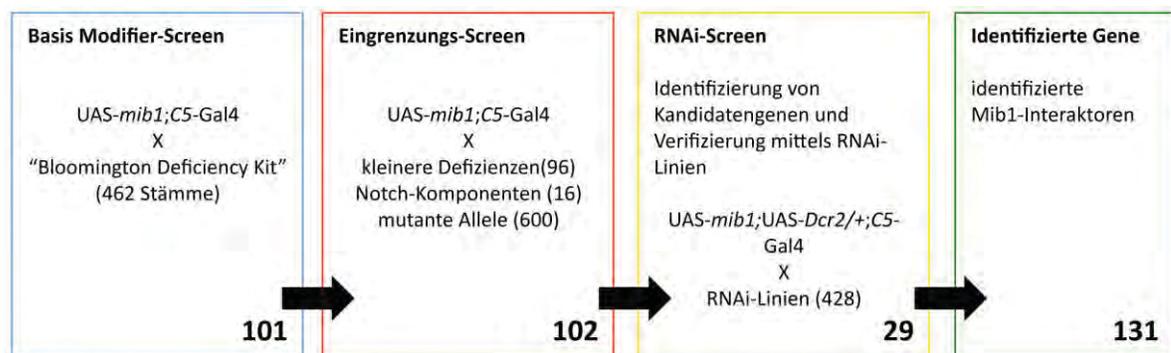


Abb. 3.15: Vorgehen zur Identifizierung von neuen Mib1-Interaktoren. Im Basis-Modifier-Screen wurden die 462 Stämme des *Bloomington Deficiency Kits* gegen den Modifier-Stamm *UAS-mib1*; *C5-Gal4* gekreuzt und analysiert. Es konnten 101 Defizienzen identifiziert werden, die den Phänotyp stark beeinflussen. Im nächsten Schritt wurden kleinere Defizienzen (96) untersucht. Darüber hinaus wurden einzelne Komponenten des Notch-Signalweges (16) und diverse mutante Allele (600) untersucht, die in den verdächtigen Bereichen der Defizienzen lokalisiert waren. Dadurch konnten 102 Kandidatengene identifiziert werden. Um bereits identifizierte Kandidaten zu bestätigen oder Kandidatengene zu testen, von denen es keine Allele gab, wurden zusätzlich RNAi-Linien getestet. Diese wurden ebenfalls gegen den

Modifier-Stamm UAS-*mib1*;UAS-*Dcr2*/+;C5-Gal4 gekreuzt. Dadurch konnten weitere 29 Gene identifiziert werden. Insgesamt konnten so 131 Gene als neue Mib1-Interaktoren identifiziert werden (**Kap. 9, Tab. 9.1-9.4, Abb. 9.1**).

Um möglichst viele potenzielle Kandidatengene zu testen wurde das *Bloomington Deficiency Kit*, bestehend aus 462 Stämmen, verwendet (Bloomington). Dadurch wurde nahezu das komplette Genom von *Drosophila* stückweise deletiert. Weibliche Tiere dieser Defizienzen wurden jeweils gegen Männchen des Modifier-Stamm UAS-*mib1*;C5-Gal4 gekreuzt (**Abb. 3.15**). In diesem sensitiven Hintergrund fehlen jeweils 50 % der Gendosis. Untersucht wurde die Veränderung des Venenmusters in den weiblichen Nachkommen (**Kap. 9.2, Abb. 9.1**). Dies hat den Vorteil, dass alle Defizienzen unabhängig von ihrer Lage auf den Chromosomen gleich behandelt werden können. Darüber hinaus konnten so geschlechtsspezifische Unterschiede ausgeschlossen werden. Anhand ihres Phänotyps wurden die Defizienzen zur weiteren Analyse in Kategorien eingeteilt (**Abb. 3.16**).

Die Kategorie „Reduziert“ beinhaltet diejenigen Defizienzen beziehungsweise Kandidatengene, in denen die Venen weiter reduziert sind. Nur bei dieser Kategorie ist die L2 betroffen. Dies ist auf eine erhöhte Aktivität des Notch-Signalweges zurückzuführen. 6 Defizienzen und schlussendlich 14 Kandidatengene konnten dieser Kategorie zugeordnet werden (**Abb. 3.16B**, rosa).

Die Kategorie „Unverändert“ beinhaltet diejenigen Defizienzen und Kandidatengene, die keine Veränderung gegenüber dem Modifier-Phänotypen zeigten (**Abb. 3.16C**, hellblau).

Die Kategorie „Abschwächungsgrad 1“ beinhaltet den Großteil aller untersuchten Defizienzen und Kandidatengene. Mehr als 50 % der Flügel sind modifiziert und davon sind maximal zwei Venen leicht wiederhergestellt. Die L3 ist am häufigsten betroffen. Dies weist auf eine leichte Abschwächung des Notch-Signalweges hin (**Abb. 3.16D**, blau).

Die Kategorie „Abschwächungsgrad 2“ beinhaltet Defizienzen bei denen mehr als 75 % der Flügel modifiziert sind. Maximal zwei Venen sind deutlich wiederhergestellt. Auch hier ist die L3 am häufigsten betroffen (**Abb. 3.16E**, orange).

Die Kategorie „Abschwächungsgrad 3“ beinhaltet Defizienzen und Kandidatengene bei denen in mindestens 75 % der Flügel alle Venen deutlich wiederhergestellt sind. Der Phänotyp ähnelt dem wildtypischen Flügel. Dementsprechend ist hier eine starke Interaktion mit Mib1 zu erwarten, wodurch der Notch-Signalweg reduziert wird. 87 Defizienzen und 94 Kandidatengene wurden in diese Kategorie eingeordnet (**Abb. 3.16F**, gelb).

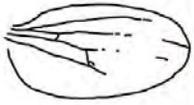
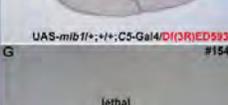
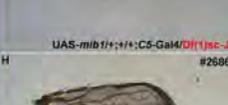
Venen	Kategorie	Beschreibung	Beispiele	
	Reduziert (n=6 Defizienzen) (n=14 Kandidatengene)	• Venen sind reduziert • L2 betroffen	• Df(3R)BSC517 • H, lea, Sytα, Lk6	 UAS-mib1/+;+/-;C5-Gal4 #25021
	Unverändert (n=36 Defizienzen)	• <50% der Flügel sind modifiziert • die meisten Flügel ähneln dem Modifier-Phänotyp	• Df(3R)Ubx109 • CypkC3, Spec2, mod, Ilp1	 UAS-mib1/+;+/-;C5-Gal4/Df(3R)BSC517 #3486
	Abschwächungsgrad 1 (n=243 Defizienzen)	• >50% der Flügel sind modifiziert • max. 2 Venen sind leicht wiederhergestellt • L3 ist am häufigsten betroffen	• Df(3L)BSC20 • pvgα, Rp53, krz, Tm1	 UAS-mib1/+;+/-;C5-Gal4/Df(3R)Ubx109 #6646
	Abschwächungsgrad 2 (n=118 Defizienzen)	• >75% der Flügel sind modifiziert • max. 2 Venen sind deutlich wiederhergestellt • L3 ist am häufigsten betroffen	• Df(3L)ED4606 • Rpt5, Mgat2, faf, Cul-5	 UAS-mib1/+;+/-;C5-Gal4/Df(3L)BSC20 #8076
	Abschwächungsgrad 3 (n=87 Defizienzen) (n=94 Kandidatengene)	• >75% der Flügel sind modifiziert • alle Venen sind deutlich wiederhergestellt • die Flügel ähneln dem Wildtyp	• Df(3R)ED5938 • Dl, Ser, Vps4, Imp	 UAS-mib1/+;+/-;C5-Gal4/Df(3L)ED4606 #24139
	Letal (n=6 Defizienzen) (n=5 Kandidatengene)	• letal	• Df(1)sc-J4	 UAS-mib1/+;+/-;C5-Gal4/Df(1)sc-J4 #1546
	Knautsch (n=2 Defizienzen) (n=15 Kandidatengene)	• > 50% der Flügel sind zerknautscht	• Df • CG12909, mei-41	 UAS-mib1/Df(1)BSC772;+/-;C5-Gal4/+ #26869
	Schmaler (n=0 Defizienzen) (n=3 Kandidatengene)	• > 50% der Flügel sind posterior deutlich schmaler	• nvy, CG4829, CG12909	 UAS-mib1/+;nvY;RNAi/Dcr2;C5-Gal4/+ #27352

Abb. 3.16: Die Kategorien der Defizienzen und Kandidatengene. (A) Der Modifier-Phänotyp UAS-mib1;C5-Gal4. (B) „Reduziert“ zeigt eine Reduktion der L2 (rosa). (C) „Unverändert“ zeigt keinen Unterschied zum Modifier-Phänotyp in A. (D) „Abschwächungsgrad 1“ zeigt eine leichte Wiederherstellung der Venen. (E) „Abschwächungsgrad 2“ zeigt eine moderate Wiederherstellung von Venengewebe. (F) „Abschwächungsgrad 3“ zeigt eine vollständige Wiederherstellung von Venen. (G) „Letal“ zeigt keine Nachkommen mit dem korrekten Genotypen. (H) „Knautsch“ beinhaltet nicht vollständig ausgefaltete Flügel, die wie zerknauscht wirken. (I) „Schmaler“ beinhaltet Flügel mit einer deutlichen Verschmälerung im posterioren Bereich.

Die Kategorie „Letal“ beinhaltet alle Defizienzen und Kandidatengene, die keine Nachkommen mit dem richtigen Genotyp hervorbringen konnten. Dies war bei 6 Defizienzen und 5 Kandidatengenen der Fall (Abb. 3.16G, grün).

Die Kategorie „Knautsch“ beinhaltet Defizienzen und Kandidatengene bei denen die Struktur des Flügels in über 50 % der Fälle gestört ist. Der Flügel ist nicht korrekt

ausgefaltet und wirkt wie zusammengeknautscht. Dies ist in 2 Defizienzen und 15 Kandidatengeneten der Fall (**Abb. 3.16H**, lila).

Die Kategorie „Schmaler“ beinhaltet Kandidatengene die in mehr als 50 % der Fälle im posterioren Bereich eine deutliche Verschmälerung des Flügels zeigten. Dies war bei 3 Kandidatengeneten der Fall (**Abb. 3.16I**, grau).

Die den Kategorien zugeordneten Farben werden auch in allen weiteren Tabellen und Abbildungen beibehalten.

Es konnten insgesamt 101 Defizienzen identifiziert werden, die den Kategorien „Reduziert“, „Abschwächungsgrad 3“, „Letal“, „Knautsch“ und „Schmaler“ zugeordnet werden konnten. All diese Kategorien haben gemeinsam, dass sich bei ihnen auf eine starke genetische Interaktion rückschließen lässt. Ob diese Interaktion direkt oder indirekt ist kann hier nicht gesagt werden. Allerdings ist sicher, dass sich innerhalb dieser Defizienzen ein oder mehrere Gene befinden, die mit Mib1 interagieren.

Diese 101 Defizienzen wurden für weitere Analysen und zur Identifizierung der entsprechenden Mib1-Interaktoren näher untersucht.

3.2.2 Zuordnung bekannter Interaktionspartner von Mind bomb 1 zu auffälligen Defizienzen

Der nächste Schritt war nun die 101 identifizierten Defizienzen nach Kandidatengeneten zu durchforsten. Dazu wurden *in silico* Studien durchgeführt, um mehr Informationen über die in den Defizienzen enthaltenen Gene zu finden. In einigen Defizienzen waren Gene enthalten, bei denen bereits eine direkte oder genetische Interaktion mit Mib1 gezeigt wurde. Da bekannt ist, dass Mib1 eine zentrale Rolle im Notch-Signalweg spielt wurden zunächst die Defizienzen nach Notch-Komponenten durchsucht. Dazu wurden Genlisten der Datenbank *Flybase* benutzt.

Dadurch konnten 10 Defizienzen identifiziert werden in denen bekannte Notch-Komponenten deletiert sind. Um nun zu testen, ob diese Gene wirklich für die phänotypische Veränderung des Modifier-Phänotyps verantwortlich sind wurden mutante Allele dieser Notch-Komponenten analysiert. Dazu wurden diese ebenfalls gegen den Modifier-Stamm gekreuzt und die Nachkommen analysiert.

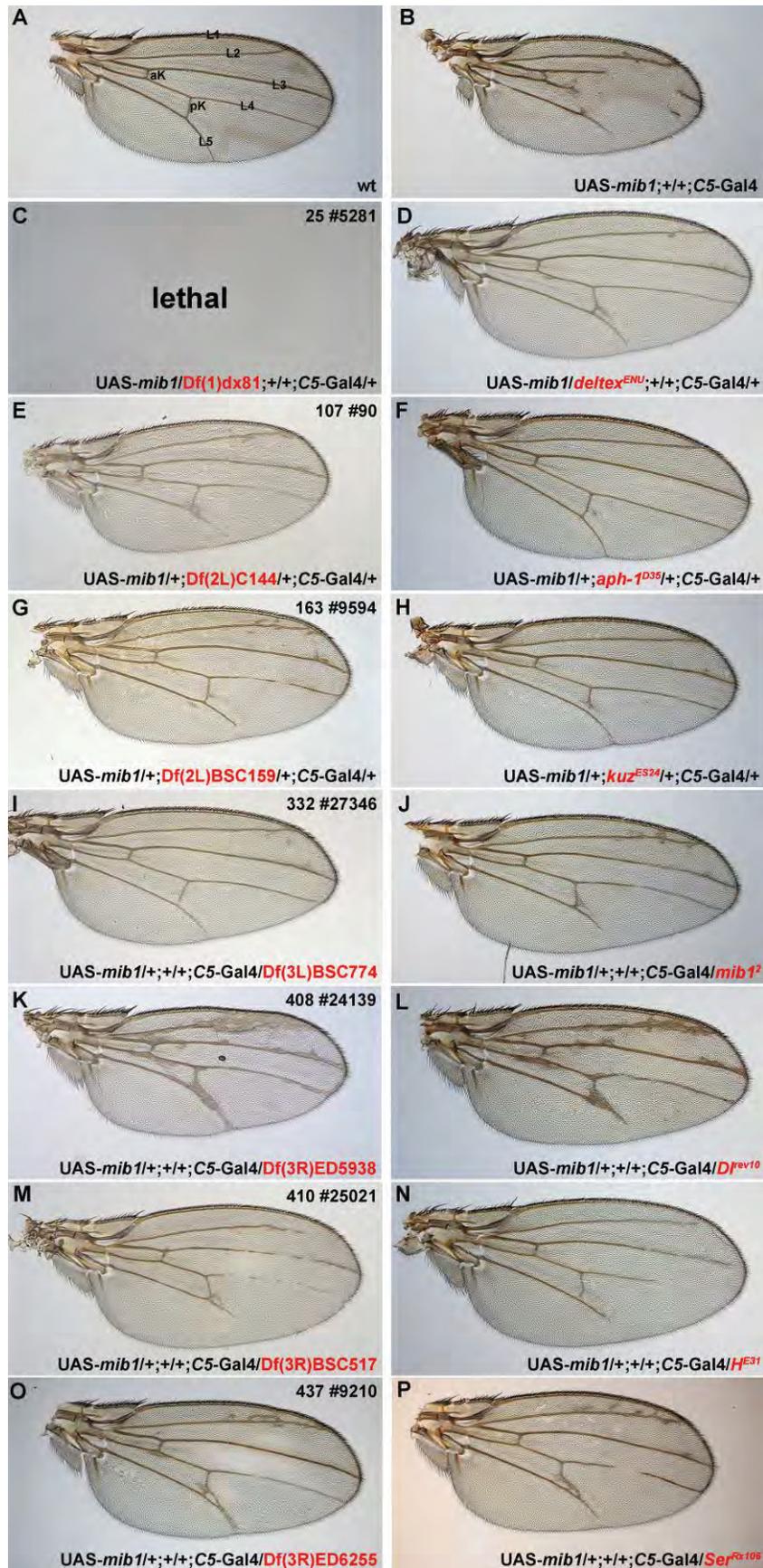


Abb. 3.17: Analyse von Defizienzen und den darin enthaltenen Notch-Komponenten. Alle Aufnahmen wurden in 5-facher Vergrößerung aufgenommen. (A) Ein wildtypischer Flügel von *Drosophila melanogaster* mit seinem stereotypen Muster von fünf Longitudinalvenen (L1-L5) und zwei Kreuzvenen (aK und pK). (B) Der Modifier-Phänotyp UAS-*mib1*;C5-Gal4 zeigt eine deutliche Reduktion der Venen L3-L5. (C) Die Df(1)dx81 führt im Modifier-Hintergrund zur Letalität. (D) Der Verlust der E3-Ubiquitin-Ligase dx^{ENU} führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung von Venengewebe. (E) Die Df(2L)C144 führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung aller Venen. (F) Der Verlust des γ -Secretase-Mitgliedes *aph-1*^{D35} führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung von Venengewebe. (G) Die Df(2L)BSC159 führt im Modifier-Hintergrund zur nahezu vollständigen Wiederherstellung aller Venen. (H) Der Verlust der Adam-Metalloprotease *kuz*^{ES24} führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung des Venenmusters. (I) Die Df(3L)BSC774 führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung aller Venen. (J) Der Verlust von *mib1*² führt im Modifier-Hintergrund zur teilweisen Wiederherstellung von Venengewebe, da die Gendosis nicht ganz ausgeglichen ist. (K) Die Df(3R)ED5938 führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung aller Venen und zur Bildung von zusätzlichem Venengewebe. (L) Der Verlust des N-Liganden *Df*^{rev10} führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung von Venengewebe und ebenfalls zur Bildung von zusätzlichem Venengewebe. (M) Die Df(3R)BSC517 führt im Modifier-Hintergrund zu einer Reduktion der Venen. Sogar die L2 ist betroffen. (N) Der Verlust des negativen Notch-Regulators *H*^{E31} führt im Modifier-Hintergrund zu einer Reduktion von Venengewebe. (O) Die Df(3R)ED6255 führt im Modifier-Hintergrund zur vollständigen Wiederherstellung aller Venen. Es ist nur wenig zusätzliches Venengewebe zu beobachten. (P) Der Verlust des N-Liganden *Ser*^{Rx106} führt im Modifier-Hintergrund zur fast vollständigen Wiederherstellung von Venengewebe.

Die Defizienz Df(1)dx81 ist letal und beinhaltet unter anderem das Gen *deltex*. Dx ist, wie Mib1, eine E3-Ubiquitin-Ligase des RING-Typs und verantwortlich für die Ubiquitinierung des Notch-Rezeptors. Dx scheint in der Signalweiterleitung *downstream* von Notch involviert zu sein (Yamamoto et al. 2001). Der Verlust von dx^{ENU} im Modifier-Hintergrund führt zu einer deutlichen Wiederherstellung der Venen (Abschwächungsgrad 3). Da die Defizienz letal ist kann sie nicht direkt mit *dx* verglichen werden. Neben *dx* wurden noch *CG6048* und *Malignant T cell amplified sequence 1 (MCTS1)* innerhalb dieser Defizienz identifiziert. Während *CG6048* in die Kategorie „Knautsch“ sortiert wurde sorgt *MCTS1* für Letalität. Deshalb liegt es nahe, dass die Letalität der Defizienz Df(1)dx81 auf den Verlust von *MCTS1* zurückzuführen ist und die starke Abschwächung verursacht durch *dx* deshalb nicht beobachtbar ist (**Abb. 3.17C+D, Abb. 3.19**).

Die Defizienz Df(2L)C144 führt im Modifier-Hintergrund zu einer fast vollständigen Wiederherstellung der Venen (AG3). Diese Df beinhaltet unter anderem das Gen *aph-1*. *Aph-1* ist Teil des γ -Secretase-Komplexes, der essentiell den S3-Schnitt vermittelt (Strooper et al. 1999). Der Verlust des amorphen Allels *aph-1*^{D35} führt ebenfalls zu einer vollständigen Wiederherstellung der Venen (AG3). Damit ähneln sich die Phänotypen der

Df und *aph-1* sehr und es kann davon ausgegangen werden, dass *aph-1* auch den Phänotyp innerhalb der Df(2L)C144 auslöst (**Abb. 3.17E+F**).

Die Defizienz Df(2L)BSC159 führt im Modifier-Hintergrund ebenfalls zu einem „Abschwächungsgrad 3“-Phänotyp. Enthalten ist in dieser Df das Gen *kuzbanian*. Kuz vermittelt den S2-Schnitt (Sotillos et al. 1997). Der Verlust von *kuz*^{ES24} führt ebenfalls zu einer vollständigen Wiederherstellung der Venen. Auch hier kann davon ausgegangen werden, dass *kuz* den Phänotyp in Df(2L)BSC159 hervorruft (**Abb. 3.17G+H**).

Die Defizienz Df(3L)BSC774 sorgt ebenfalls für eine Wiederherstellung des wildtypischen Venenmusters. In dieser Df ist die E3-Ubiquitin-Ligase Mib1 enthalten. Überraschenderweise kommt es beim Verlust des Allels *mib1*² zu keiner vollständigen Wiederherstellung aller Venen. Die L5 ist weiterhin verkürzt. Vermutlich kann die Überexpression nicht durch den Verlust einer Kopie von *mib1* auf das wildtypische Niveau ausgeglichen werden oder es sind weitere Gene in der Defizienz betroffen, die den Phänotyp zusätzlich beeinflussen (**Abb. 3.17I+J**).

Die Defizienz Df(3R)ED5938 beinhaltet den Notch-Liganden *Dl*. Sowohl die Df als auch das amorphe Allel *Dl*^{rev10} zeigen ein nahezu wildtypisches Venenmuster im Modifier-Hintergrund. Darüber hinaus ist viel zusätzliches Venengewebe zu beobachten. Die Ähnlichkeit des Phänotyps bei Verlust von *Dl* und Df(3R)ED5938 weist darauf hin, dass *Dl* für die Reduktion der Notch-Aktivität verantwortlich ist (**Abb. 3.17K+L**).

Die Defizienz Df(3R)BSC517 wurde in die Kategorie „Reduziert“ eingeordnet. Die L2 ist neben den anderen Venen ebenfalls reduziert. Diese Df enthält das Gen *H*. *H* ist ein Co-Repressor des Notch-Signalweges (Übersicht in Maier 2006). Bei dem Verlust des amorphen Allels *H*^{E31} im Modifier-Hintergrund sind ebenfalls die Venen L2-L5 reduziert, sodass die Veränderung eindeutig auf dieses Gen zurückzuführen ist (**Abb. 3.17M+N**). Selbiges gilt für die Df(3R)BSC141.

Die Defizienz Df(3R)ED6255 zeigt wiederum eine vollständige Wiederherstellung der Venen. Hier fehlt der zweite Notch-Ligand Serrate. Auch der Verlust des amorphen Allels *Ser*^{RX106} führt zu einem ähnlichen Phänotyp wie die Defizienz im Modifier-Hintergrund. Im Vergleich zu *Dl* kommt es bei *Ser* allerdings nicht zu so viel zusätzlichem Venengewebe (**Abb. 3.17O+P**). *Ser* ist auch Bestandteil der Df(3R)BSC497.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Venenveränderung, die bei den Defizienzen beobachtet werden konnte meistens ein Gen zurückzuführen ist, da sich die

Phänotypen auffallend ähneln. In wenigen Fällen weichen die Phänotypen ab, da es zum Beispiel zu einem additiven Effekt bei Verlust mehrerer Gene innerhalb einer Defizienz kommen kann.

Damit konnte gezeigt werden, dass der Modifier-Phänotyp sowohl abschwächbar als auch verstärkbar ist und das in einer sehr sensitiven Weise. Die Reduktion der Gendosis um 50 % führt zu einer deutlichen Modifikation des Modifier-Phänotyps. Schlussendlich konnte damit bewiesen werden, dass der Aufbau dieses Modifier-Screens geeignet ist um Interaktionspartner von Mib1 zu identifizieren.

3.2.3 Identifizierung von Kandidatengenem mittels kleinerer Defizienzen, Allelen und RNAis

Einigen Defizienzen konnten bereits Notch-Komponenten zugeordnet werden. Um nun auch in den restlichen Defizienzen Kandidatengene zu identifizieren, wurde nach einem bestimmten Schema vorgegangen.

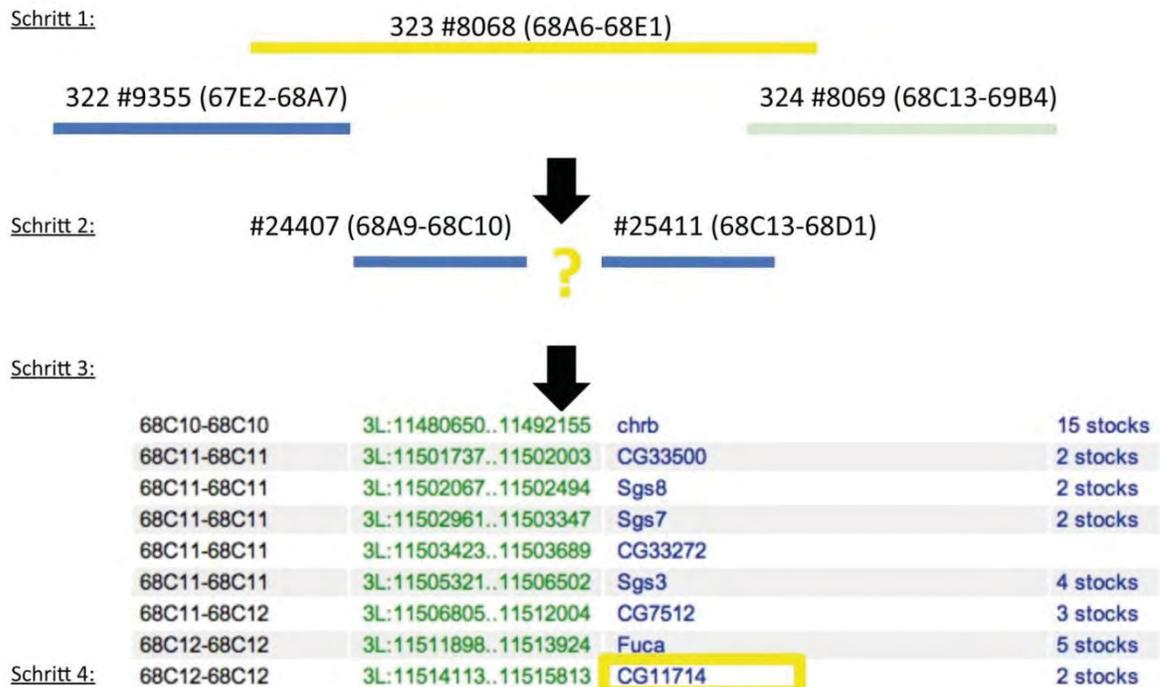


Abb. 3.18: Schematische Vorgehensweise zur Identifizierung von Mib1-Interaktoren am Beispiel von CG11714. Zunächst wurden die auffälligen 101 Defizienzen mit ihren benachbarten Defizienzen verglichen. So konnten die äußeren Bereiche des Stammes 323 #8068 verworfen werden. Die übrigen Bereiche wurden mittels kleinerer Defizienzen bestätigt oder ausgeschlossen. In diesem Fall zeigten die Defizienzen #24407 und #25411 keine große Veränderung, sodass lediglich der Bereich von 68C10-68C13 übrig blieb. Die, in diesen Bereichen lokalisierten Kandidatengene, wurden

mittels mutanten Allelen oder RNAi getestet. So konnten schlussendlich 131 Mib1-Interaktoren identifiziert werden. In diesem Fall war das Gen *CG11714* für die –Modifier-Phänotypveränderung verantwortlich.

In Schritt 1 wurden die auffälligen Defizienzen mit überlappenden Defizienzen verglichen. Zeigten diese keine oder nur geringe Veränderungen so konnten die überlappenden Bereiche ausgeschlossen werden. Dort befand sich mit hoher Wahrscheinlichkeit kein Gen, das mit *mib1* interagiert. Im anderen Fall war es wahrscheinlich, dass bestimmte Bereiche Mib1-Interaktoren enthielten, wenn benachbarte Defizienzen dieselben auffälligen Veränderungen zeigten. Im Falle der Defizienz mit der Nummer 323 #8068 bewirkten die beiden Nachbardefizienzen 322 #9355 und 324 #8069 keine oder nur leichte Veränderungen im Modifier-Hintergrund. Dementsprechend konnten die Bereiche 68A6-68A7 und 68C13-68E1 ausgeschlossen werden (**Abb. 3.18**, Schritt 1).

In Schritt 2 wurden, wenn verfügbar, Defizienzen geordert und analysiert, die kleinere Bereiche innerhalb der auffälligen Bereiche abdeckten. Dadurch konnten entweder weitere Bereiche ausgeschlossen oder wahrscheinlicher werden. Im Fall von 323 #8068 waren zwei weitere Defizienzen im Bereich 68A9-68C10 (#24407) und 68C13-68D1 (#25411) verfügbar. Beide zeigten jedoch lediglich eine Veränderung der Kategorie „Abschwächungsgrad 1“ und konnten so ausgeschlossen werden. Übrig blieben demnach die Bereiche 68A8 und 68C11-68C12 (**Abb. 3.18**, Schritt 2; **Kap. 9.1.2**, **Tab. 9.2**).

In Schritt 3 wurden dann von diesen übrig gebliebenen Bereichen Kandidatengene getestet. Dazu wurden mutante Allele verwendet, die zum Teil durch P-Element-Insertionen entstanden sind (FlyBase, Bloomington). Im Weiteren wurden auch entsprechende RNAi-Linien verwendet (FlyBase, VRDC). Zusätzlich wurde UAS-Dcr2 koexprimiert um die Effizienz der RNAi zu erhöhen (**Abb. 3.18**, Schritt 3; **Abb. 3.15**; Dietzl et al., 2007, **Kap. 9.1.3+9.1.4**, **Abb. 9.3+9.4**).

Dementsprechend konnten im letzten Schritt dann zu fast jeder Defizienz Gene identifiziert werden, die mit Mib1 interagieren. Im Falle von 323 #8068 konnte eindeutig das Gen *CG11714* als neuer Interaktionspartner von Mib1 identifiziert werden (**Abb. 3.18**, Schritt 4; **Tab. 3.1**; **Kapitel 3.2.6**).

3.2.4 Identifizierung von Kandidatengen innerhalb der auffälligen Defizienzen

Aufgrund der oben beschriebenen Vorgehensweise konnten insgesamt 131 Gene als neue Interaktionspartner von Mib1 identifiziert werden (**Abb. 3.15**, **Abb. 3.18**).

Lediglich bei 7 Defizienzen konnte keines der getesteten Kandidatengene den Modifier-Phänotyp ausreichend verändern (**Tab. 3.1**). Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass nicht alle in den entsprechenden Defizienzen liegende Kandidatengene getestet werden konnten, da keine mutanten Allele oder RNAi-Linien verfügbar waren. Andererseits könnte der modifizierende Phänotyp der Defizienz auch durch einen additiven Effekt ausgelöst worden sein, sodass die einzelnen Gene nicht modifizieren, die Kombination aus ihnen aber sehr wohl.

Zunächst wurden in verschiedenen Datenbanken Informationen über die Funktion, Lokalisation und Konservierung der identifizierten Gene gesammelt und tabellarisch ausgewertet (Flybase, BioGRID, DroID, InterlogFinder, SignaLink). Anhand dieser Informationen wurden die identifizierten Gene in eine von acht verschiedenen Gruppen eingeteilt: Signalweg (gelb), Transkriptionsfaktor (blau), Zellmaschinerie (rot), Ubiquitinierung und Transport (grün), Zelladhäsion (pink), Zytoskelett (lila), Metabolismus (hellgrün), Andere (rosa). Diese Gruppen sind durchgehend farblich gekennzeichnet (**Tab. 3.1, Abb. 3.20-3.23**).

Die Gruppe „Signalweg“ (gelb) enthält Gene bei denen bereits gezeigt wurde, dass sie explizit an bestimmten Signalwegen beteiligt sind. So sind Insulin-like peptide 7 (*Ilp7*) und Insulin-like peptide 4 (*Ilp4*) Liganden des Insulin-Rezeptor-Signalweges (Brogiolo et al. 2001). Interessanterweise soll der Insulin-Level einen Einfluss auf die weiblichen Keimbahnstammzellen über die Stammzellnische haben (Hsu et al. 2008). Die Endopeptidase *rhomboid-4* (*rho-4*), die den EGFR-Rezeptor prozessiert, und der Ligand *vein* (*vn*) sind Kernkomponenten des Egr-Signalwegs, der eine wichtige Rolle während der Venenentwicklung spielt (Urban et al. 2002; Schnepf et al. 1996). Wie bereits in **Kapitel 3.2.2** erwähnt konnten auch einige Komponenten des Notch-Signalweges identifiziert werden. Dabei handelt es sich um die Liganden *Ser* und *DI*, sowie den Co-Repressor *H* (Fehon et al. 1990; Nagel et al. 2005; Bailey und Posakony 1995; Glittenberg et al. 2006). Darüber hinaus konnte *strawberry notch* (*sno*) identifiziert werden. Sno ist an der Egr-abhängigen *DI*-Expression beteiligt, indem es antagonistisch auf die Repressorfunktion von Su(H) wirkt (Tsuda et al. 2002). *kuz* vermittelt den S2-Schnitt und *aph-1* den S3-Schnitt, die für die Proteolyse des Notch-Rezeptors essentiell sind (Pan und Rubin 1997; Sotillos et al. 1997; Schneider et al. 2013). *Regulator of G-protein signalling 7* (*RSG7*) und *Zizimin-related* (*Zir*) sind an der Signalweiterleitung im Rho-Signalweg beteiligt (Sampson et al.

2012; Gaudet et al. 2010). Außerdem konnte die Kinase *Lk6* als Mib1-Interaktionspartner nachgewiesen werden. Sie ist sowohl an der negativen Regulation der Ras-Signalweiterleitung, als auch an Mikrotubuli-basierenden Prozessen beteiligt, sodass hier eine Brücke zum Zytoskelett geschlagen werden kann (Kidd und Raff 1997; Huang und Rubin 2000). Der NMDA-Rezeptor *Ionotropic receptor 25a (Ir25a)* hat eine Funktion als liganden-abhängiger Ionen-Kanal (Benton et al. 2009). Interessanterweise konnten einige Kanal- und Transporterproteine in diesem Screen identifiziert werden (siehe Gruppe „Andere“). *Peptidoglycan recognition protein SA (PGRP-SA)* befindet sich in der extrazellulären Matrix und dient als Peptidoglycan-Binder zur Erkennung von Bakterien, indem es den Toll-Signalweg reguliert (Steiner 2004; Gobert et al. 2003).

Die Gruppe „Transkriptionsfaktor“ (blau) beinhaltet alle Gene, die eine Funktion als Transkriptionsfaktor ausüben. Dabei handelt es sich um *Kruppel-like factor 15 (Klf15)*, *Bteb2*, *buttonhead (btd)*, *nejire (nej)*, *CG11695*, *CG4880*, *CG6470*, *enhancer of yellow 3 (e(y)3)*, *CG7099*, *CG12909*, *luna*, *slow border cells (slbo)*, *nervy (nvy)*, *CG8108*, *CG42726*, *Medea (Med)*, *ATP-dependent chromatin assembly factor large subunit (Acf1)* und *pangolin (pan)*. *scute (sc)* und *sisterless A (sisA)* bilden einen Komplex (Wimmer et al. 1993; Shidlovskii et al. 2005; Mourikis et al. 2010; Lee und Frasch 2000; Erickson und Cline 1991; Hoshijima et al. 1995; Brown et al. 2005; Evangelista et al. 2003; Ito et al. 1997; Murphy et al. 1995; Weiss et al. 2010).

Die Gruppe „Zellmaschinierie“ (rot) beinhaltet vor allem Gene, die an der generellen Regulation von Transkription oder Translation beteiligt sind. *Regena (Rga)* ist Teil des CCR4-NOT-Komplexes, der eine der wenigen mRNA Deadenylyasen darstellt. Er ist entscheidend an der generellen Regulation der Transkription, aber auch an der Repression der Translation beteiligt (Frolov et al. 1998; Bawankar et al. 2013; Temme et al. 2010). *Hybrid male rescue (Hmr)* spielt unter anderem bei der Regulation der Transposition und bei der Aufrechterhaltung der Telomere eine Rolle (Thomae et al. 2013; Satyaki et al. 2014). Gene, die im Zuge der Translation eine Funktion haben sind *MCTS1*, *eukaryotic translation Initiation Factor 2 α (eIF-2 α)*, *pacman (pcm)*, *tumorous testis (tut)*, *Stem-loop binding protein (Slbp)* und *Elongation factor 1 α 100E (Efa100E)* (Schleich et al. 2014; Sardiello et al. 2003; Dominski et al. 2002; Lasko 2000). *IGF-II mRNA-binding protein (Imp)* vermittelt das RNA-Splicing via Spliceosom, während *CstF-50* für die mRNA-

Spaltung verantwortlich ist (Lasko 2000; Herold et al. 2009; Mount und Salz 2000). *Cyclin G* (*CycG*) ist am Zellzyklus beteiligt (Faradji et al. 2011).

Mib1 gehört zu den E3-Ubiquitin-Ligasen. Aus diesem Grunde ist es auch nicht verwunderlich, dass diverse andere Gene identifiziert wurden, die am Prozess von „Ubiquitinierung und Transport“ (grün) innerhalb der Zelle beteiligt sind. Die E3-Ub-Ligasen *mib1* und *dx* spielen ebenfalls eine Rolle im Notch-Signalweg (Lai et al. 2005; Le Borgne et al. 2005b; Wang und Struhl 2005; Matsuno et al. 2002; Wilkin et al. 2008). Außerdem konnte die E3-Ub-Ligase *mib2* identifiziert werden, der bislang lediglich eine Rolle in der Muskelhomeostase nachgewiesen werden konnte (Carrasco-Rando und Ruiz-Gómez 2008; Nguyen et al. 2007). *Ubiquitin conjugating enzyme E2H* (*Ubc-E2H*), *lwr*, *CG7220* und *effete* (*eff*) sind E2-Ub-konjugierende Enzyme, die an diversen Prozessen beteiligt sind, wie Zellzyklus, SUMOylierung, Poly- und Monoubiquitinierung (Apionishev et al. 2001; Ryoo et al. 2002). *CG2701* hat ein UBA-ähnliches Motiv und könnte somit ein weiteres E1-Ub-aktivierendes Enzym sein. Das Gen *CG32676* hat eine Ubiquitin-ähnliche Domäne und könnte somit eine Funktion ähnlich dem eigentlichen Ubiquitin haben (Boutros et al. 2004). *SKP1-related A* (*SkpA*) und *modifier of rpr and grim, ubiquitously expressed* (*morgue*) sind Komponenten des SCF-Komplexes, der der Ubiquitinierung und dem Abbau von Proteinen mittels des Proteasoms dient (Ou et al. 2003). *CG11714* besitzt ähnlich wie Teile des SCF-Komplexes auch eine BTB/POZ-Domäne und ist somit potenzielles Mitglied dieses Komplexes. Die Coatomere *Coat Protein* (*coatomer*) γ (γ COP) und *Coat Protein* (*coatomer*) β' (β' COP) umhüllen spezielle Vesikel, die sowohl zwischen Golgi und ER transportiert werden als auch zur Plasmamembran (Stuart et al. 2007). Für die Endozytose an sich ist das Epsin-Homolog *liquid facets* (*lqf*) zuständig, wodurch auch der Notch-Signalweg reguliert wird (Wang und Struhl 2005; Overstreet et al. 2004). *garnet* (*g*) ist Teil des AP-3-Komplexes und ebenfalls am endosomalen Transport, sowie der Prozessierung des Notch-Rezeptors beteiligt (Wilkin et al. 2008; Narayanan und Ramaswami 2001; Ooi et al. 1997). Bei der Bildung der intraluminalen Vesikel und dem korrekten Abbau des Notch-Rezeptors spielen unter anderem die ESCRT-III-Proteine *shrub* und *Vacuolar protein sorting 20* (*Vps20*), sowie die ATPase *Vacuolar protein sorting 20* (*Vps4*) und der Regulator *Igd* eine wichtige Rolle (Jaekel und Klein 2006; Schneider et al. 2013; Childress et al. 2006; Gallagher und Knoblich 2006; Hori et al. 2011; Vaccari et al.

2009; Rodahl et al. 2009). Die Sec61-Translocon-Komplex-Komponente *Sec61 γ subunit* (*Sec61 γ*) ist ein negativer Regulator der Autophagie, im Gegensatz zu dem positiven Regulator *Autophagy-related 14* (*Atg14*) (Arsham und Neufeld 2009; Piracs et al. 2012). Teilweise werden Vesikel auch zur Plasmamembran zurück gebracht. An diesem Recycling-Prozess ist *SET domain binding factor* (*Sbf*) beteiligt. Darüber hinaus hat es eine Funktion als Organisator des Actin-Zytoskeletts (Jean et al. 2012). *Rings lost* (*rngo*) ist als Ubiquitin-bindende Protease am Abbau durch das Proteosom beteiligt (Morawe et al. 2011). Darüber hinaus spielen einige Gene eine Rolle bei der Bildung und Freisetzung synaptischer Vesikel, wie *Frequenin 1* (*Frq1*), *Synaptotagmin α* (*Syt α*), *portabella* (*prt*) (Pongs et al. 1993; Brooks et al. 2011; Lloyd et al. 2000).

Die Gruppe „Zelladhese“ (pink) beinhaltet einige verschiedene Gene, die Zell-Zell-Kontakt vermitteln. *Netrin-A* (*NetA*) und *Netrin-B* (*NetB*) gehören zu der Familie der Netrine. Sie sind Teil der extrazellulären Matrix und vermitteln unter anderem Signale zur Leitung von Axonen während ihres Wachstums (Brankatschk und Dickson 2006). Das Annexin *AnxB11* verbindet das Zytoskelett mit der Membran über Calcium-abhängige Phospholipidbindung (Goldstein und Gunawardena 2000; Fernandez and Reginald 2003). *Integrin alphaPS5 subunit* (*ItgaPS5*) ist ein Integrin, das das Zytoskelett mit der extrazellulären Matrix verbindet (Brown 2000). *sidekick* (*sdk*) und *roundabout 2* (*robo2*, *lea*) sind Immunoglobuline und vermitteln ebenso Zell-Zelladhese wie Axonführung (Santiago-Martínez et al. 2008; Rajagopalan et al. 2000).

Es konnten auch mehrere Gene identifiziert werden, die eine Rolle im „Zytoskelett“ (lila) spielen. Während *Actin 88F* (*Act88F*) direkt zur Familie der Aktine gehört ist *singed* (*sn*) ein Mitglied der Fascin-Familie und steht in direktem Kontakt mit den Actinfilamenten (Goldstein und Gunawardena 2000). *facetto* (*feo*), *no distributive disjunction* (*nod*), *CG1890* und *abnormal wing discs* (*awd*) binden direkt an Mikrotubuli und haben so teilweise eine Funktion bei der Organisation und Stabilisierung des Spindelapparates (Vernì et al. 2004; Biggs et al. 1990; Goshima et al. 2007; Zhang et al. 1990). *meiotic 41* (*mei-41*) hat ebenfalls durch Bindung von Actin eine Rolle im Prozess der Zellteilung (Kiger et al. 2003; Garner et al. 2001). *homer* gehört zur Familie der Pleckstrine, die unterhalb der Plasmamembran lokalisiert sind. Durch Bindung an Phospholipide dienen sie der Stabilisierung und Signalweiterleitung und sind so Teil des Zytoskeletts. Es ist an den

Dendriten lokalisiert (Rolls et al. 2007; Diagana et al. 2002). An der Bildung von Chitin und Kutikula sind *dusky (dy)*, *CG4362*, *Cpr66Ca* und *TweedleZ (TwdlZ)* beteiligt. Die Gene haben keine humanen Homologe und es ist generell wenig über sie bekannt. Allerdings zeigen alle diese Gene einen Flügelphänotyp der Kategorie „Knautsch“ im Modifier-Hintergrund. Dies lässt sich durch die gestörte Kutikulabildung erklären (DiBartolomeis et al. 2002; Karouzou et al. 2007).

Interessanterweise sind auch einige Gene an verschiedenen Punkten im „Metabolismus“ (hellgrün) beteiligt. *CG2540* ist an der Butirosin-Biosynthese beteiligt, während *CG4829* eine Rolle im Glutathion-Metabolismus spielt. *CG2118* hat eine Funktion im Leucin-Metabolismus und der Biotin-Synthese (Sardiello et al. 2003). *farjavit (frj)* gehört zur Familie der Phospholipid-Acyltransferasen und modifiziert Lipide (Steinhauer et al., 2009). Die Phospholipid-Scramblase *scrambl1* sorgt für den spezifischen Austausch von Lipiden zwischen den beiden Lagen einer Lipiddoppelschicht innerhalb der Synapse (Acharya et al. 2006; Sepp et al. 2008). Die Protein-Tyrosin-Phosphatase *string (stg)* ist am Zellzyklus beteiligt (Kiger et al. 2003; Dunphy und Kumagai 1991). *CG15743* hat die Funktion einer Inositol-Monophosphatase und ist damit wichtig für die Phosphatidylinositol-Biosynthese und die Signalweiterleitung (Hill et al. 2001). *SelG* ist ein Selenoprotein, das unter anderem eine wichtige Rolle bei der Redox-Homeostase spielt (Castellano et al. 2001). Weitere Gene, die bei Redox-Prozessen wichtig sind oder eine Rolle zur Regulierung des pH-Wertes spielen sind *CG34345*, *laccase2*, *CG10214*, *CG33474* und *CG6136* (FlyBase Curators 2004). *Succinate dehydrogenase, subunit D (SdhD)* ist eine Komponente von Cytochrome b innerhalb des Mitochondriums (Sardiello et al. 2003). Bei *CG14034* handelt es sich um eine Triacylglycerol-Lipase, die am Phospholipid-Metabolismus beteiligt ist (Mueller et al. 2005).

Einige Gene lassen sich keiner der oben beschriebenen Gruppen zuordnen, sodass sie unter „Andere“ (rosa) zusammengefasst werden. Einige Gene haben Aufgaben als Kanäle und Transporter, wie der Chlorid-Kanal *Chloride intracellular channel (Clic)*, der spannungsabhängige Natrium-Kanal *paralytic (para)*, der organische Anionen-Transporter *Organic anion transporting polypeptide 26F (Oatp26F)*, der Potassium-Kanal *CG42732*, der Calcium-aktivierbare Chlorid-Kanal (Anoctamin) *Abnormal X segregation (Axs)* und der Aminosäuren-Transmembrantransporter *CG1607* (Littler et al. 2008; Derst et al. 2006; Torrie et al. 2004; Romero-Calderón et al. 2007). *CG1909* ist ein Bindeprotein des

Acetylcholin-Rezeptor und an der Signalweiterleitung innerhalb der Synapsen verantwortlich (Curators 2008). *spherioide* und *CG11842* sind als Proteasen beschrieben (Ross et al. 2003). *spherioide* soll im extrazellulären Raum Pilze und Gram-positive Bakterien erkennen und Teil der angeborenen Immunantwort sein (Kambris et al. 2006). Die microRNA *mir-184* scheint eine regulatorische Funktion innerhalb der Synapse auszuüben (Li et al. 2011). Bei *CG5267* handelt es sich um ein Protein mit einer Trypsin-Inhibitor-ähnlichen Domäne, dass eine Funktion im extrazellulären Raum ausüben soll (Findlay et al. 2008). *nyobe* (*nyo*) ist an der apikalen Konstriktion beteiligt. Die molekulare Funktion ist allerdings unbekannt (Fernandes et al. 2010). Darüber hinaus hat neben *SdhD*, *CG10214* und *CG2118* auch das Gen *Tim17b* eine Funktion innerhalb des Mitochondriums (Sardiello et al. 2003; Garabedian et al. 2011). Über die Gene *CG6340*, *CG8949*, *CG4955*, *xmas-1*, *CG42817*, *CG42818*, *CG15145*, *CG13578*, *Osiris 9* (*Osi9*) und *CG7031* ist kaum etwas bekannt (Tab. 3.1; FlyBase; Carreira et al. 2011; Dorer et al. 2003).

Tab. 3.1: Übersicht über die identifizierten Gene mit Zuordnung zu den Defizienzen. Die erste Spalte zeigt die Nummer der Defizienz. Die zweite Spalte zeigt das in der entsprechenden Defizienz identifizierte Gen an. Die Farbe gibt dabei die in **Abb. 3.16** beschriebenen Kategorien an: grün=Letal, Hellgrün=Semiletal, gelb=Abschwächungsgrad 3, lila=Knautsch, rosa=Reduziert, grau=Schmaler. Spalte drei gibt die zytologische Lage an, während Spalte vier die Funktion angibt. Die Lokalisation ist in Spalte fünf beschrieben. Spalte 6 enthält die entsprechenden humanen Homologe der identifizierten Gene. Die letzte Spalte zeigt die Gruppe an, in die die Gene anhand der *in silico* Analysen einsortiert wurden: grün=Ubiquitinierung und Transport, blau=Transkriptionsfaktor; pink=Zelladheseion, gelb=Signalweg, lila=Zytoskelett, rot=Zellmaschinerie, mint=Metabolismus, rosa=Andere.

Stamm + Kategorie	Identifiziert es Gen	Zytologie	Funktion	Lokalisation	Humane Homologe	Gruppe
1546	SkpA	1B14	SCF-Komplex, E3-Ub-Ligase	Zentrosom, Spindel	SKP1	Ubiquitinierung, g. Transport
9053						
1546	sdk	1C2-1C3	Immunoglobulin	Plasmamembran	SDK1, SDK2	Zelladheseion
9053						
901	sc	1A8	bHLH-Protein	Nukleus	ASCL1, ASCL2	Transkriptionsfaktor
8031	???	-	-	-	-	-
9348	???	-	-	-	-	-
8948	CG2701	3B3	UBA-like	Zytoplasma	ASCC2	Ubiquitinierung, g. Transport
9169	llp7	3E2	Insulin-like	extrazellulärer Raum	-	Signalweg

Ergebnisse

8956	Bteb2	4D1	Zink-Finger-Integrase	Nukleus	KLF15	Transkriptionsfaktor
944						
7708	???	-	-	-	-	-
8949	CG6048 (RNAi)	5C10	Endopeptidase	Synapse	PRSS57, ELANE, CTRB1, KLK14, CTRL, CTRB2, PRTN3, CFD, PRSS55	Andere
5281						
8947						
5281	deltex	6B1-6B2	E3-Ub-Ligase	Zytoplasma	DTX1, DTX2, DTX4	Ubiquitinierung, Transport
5281	MCTS1 (RNAi)	5D2	Translation	-	MCTS1	Zellmaschinerie
8947						
3196	CG4617	6F5	-	-	HMGXB4	Andere
8955	???	-	-	-	-	-
6698	Ubc-E2H (RNAi)	7D6	E2-Ub-Konjugase	-	UBE2H	Ubiquitinierung, Transport
6698	sn	7D1-7D2	Actinbindung	Zytoplasma	FSCN1, FSCN2, FSCN3	Zytoskelett
949						
26564	btd	8F10	C2H2-Zinkfinger	Nukleus	SP3, SP5, SP1	Transkriptionsfaktor
26564	nej	8F7-8F9	Acetyltransferase	Nukleus	CREBBP, EP300	Transkriptionsfaktor
9153	CG15296	9D3	-	-	-	Andere
26853						
9153	Hmr	9D3	DNA-Bindung	Polytenchromosom	-	Zellmaschinerie
26853						
26853	CG32676	9E1-9E2	Ub-like	-	MIDN	Ubiquitinierung, Transport
26853	Imp	9F1-9F4	RNA-Splicing	Axon	IGF2BP1, IGF2BP2, IGF2BP3	Zellmaschinerie
25068						
25068	feo	9F5	Mikrotubuli-Bindung	Zytoplasma	PRP1	Zytoskelett
930	sisA (RNAi)	10B2	DNA-Bindung	Nukleus	-	Transkriptionsfaktor
23672						
930	PGRP-SA	10C6	Peptidoglycan-Bindung	extrazellulärer Raum	PGLYRP1, PGLYRP2, PGLYRP3, PGLYRP4	Signalweg
26574						
930	CG11695	10C7	C2H2-Zinkfinger	Nukleus	ZNF852, ZNF30, ZNF630, ZNF585A, ZBTB16, ZFP69B, BCL6, ZNF7, ZNF549, ZFP90, ZNF44, ZKSCAN5, ZNF664	Transkriptionsfaktor
26574						

Ergebnisse

930	nod	10C7-10C8	Kinesin	Kinesin-Komplex	KIF2C, KIF 9, KIF6	Zytoskelett
26574						
930	rho-4	10C10	Peptidase	Plasmamembran	RHBDL2	Signalweg
26574						
930	CG2540	11B5-11B6	Butirosin-Biosynthese	-	CHAC1, CHAC2	Metabolismus
9217						
9171	dy (RNAi)	10E2	Cutikula	Plasmamembran	-	Zytoskelett
9171	SelG (RNAi)	10F4	Selenoprotein	Golgi Apparat	-	Metabolismus
8898	sno	11E3	Hydrolase, Notch-Signalweg	Nukleus	SBNO1, SBNO2	Signalweg
26864	CG15743	11B9	Inositol-Monophosphatase	Zytoplasma	IMPAD1, UBE2W	Metabolismus
8952	garnet	12B4	Coatomer	AP-3-Komplex	AP3D1	Ubiquitinierung, Transport
24146	Clic	12C5-12C6	Clorid-Kanal	-	CLIC1, CLIC2, CLIC3, CLIC4, CLIC5, CLIC6	Andere
9352	NetA	12F1-12F2	Netrin	Extrazelluläre Matrix	LAMA1, LAMC2, NTN3, LAMA2, LAMC3, NTN1, LAMC1	Zelladhesion
9218						
9352	NetB	12F2	Netrin	Extrazelluläre Matrix	LAMA1, LAMC2, NTN3, LAMA2, LAMC3, NTN1, LAMC1	Zelladhesion
9218						
29732	???	-	-	-	-	-
9219	CG6340	13C5	-	-	RSRC2	Andere
26869	mei-41	14C3	Kinase	Nukleus	ATR	Zytoskelett
26869	AnxB11	14C4	Annexin	-	ANXA6, ANXA8L1, ANXA7, ANXA2, ANXA11, ANXA5, ANXA4, ANXA10, ANXA1, ANXA9, ANXA3, ANXA8L1, ANXA13	Zelladhesion
23295						
23295	rngo	14C6	Proteolyse, Ub-like	Proteosom, Zytoplasma, Nukleus	DDI1, DDI2	Ubiquitinierung, Transport
23295	eIF-2□	14C6	Translation	Translation-Initiation-Komplex	EIF2S1	Zellmaschinerie
23295	para	14D1-16A2	Calcium-Kanal	Plasmamembran	SCN1A, SCN2A, SCN7A, SCN4A, SCN11A, SCN10A, SCN3A, SCN9A, SCN5A,	Andere
26858						
1158	spheroide	15A1-15A2	Protease	extrazellulärer Raum	-	Andere
1158	Axs	15A1	Anoctamin; Ca-aktivierbarer Cl-Kanal	Spindel, ER	ANO8, ANO10	Andere
8954						

Ergebnisse

1158	TwdIZ (RNAi)	15A3	Cutikula	Extrazelluläre Matrix	-	Andere
8954						
8954	CG4829	15A10-15A11	Glutathione-Metabolismus	-	GGT5, GGT2, GGTL1, GGT1, GGTL2, GGTL3	Metabolismus
8954	RSG7 (RNAi)	15B1	Rho-Signaltransduktor	Zytoplasma	RGS11, RGS7, RGS9, RGS6	Signalweg
8954	CG4880 (RNAi)	15B4	Hydrolase	-	-	Transkriptionsfaktor
8954	CG8949 (RNAi)	15E1	-	-	WAC	Andere
33829						
8954	CG4955	15E1	-	-	-	Andere
33829						
33829	xmas-1	15E7	-	-	-	Andere
24429	Vps4 (RNAi)	16F1-16F2	ATPase	Endosom	VPS4A, VPS4B	Ubiquitinierung, Transport
29733	Frq1	16F7-17A1	Recoverin	Synapse	NCALD, NCS1, RCVRN, VSNL1, KCNIP4, KCNIP3, KCNIP1, HPCAL4, KCNIP2, HPCA	ubiquitinierung, Transport
24376						
26568	CG6470 (RNAi)	17C1	C2H2-Zinkfinger	-	-	Transkriptionsfaktor
7768	pcm	18C7	Exoribonuklease	Zytoplasma	XRN1, XRN2	Zellmaschinerie
29994	e(y)3	18D8-18D11	FYVE/PHD-Zinkfinger	Nukleus	PHF10	Transkriptionsfaktor
29994	Sec61	18D11-18D12	Protein-Transporter	Sec61 Translocon-Komplex	SEC61G	Ubiquitinierung, Transport
24626	Zir	21B1-21B2	Rho-Signaltransduktor	-	DOCK6, DOCK7, DOCK8	Signalweg
3084	lea (robo2)	22A1	Immunoglobulin	Axon	ROBO1, ROBO2, ROBO3, ROBO4, MYOM1	Zelladhäsion
24118						
3084	lwr (RNAi)	21E2	E2-Ub-Konjugase	Nukleus	UBE2I	Ubiquitinierung, Transport
24118						
90	aph-1	23A5	-Secretase-Komplex	Membran	APH1A, APH1B	Signalweg
23680	morgue	24F2	E2-Ub-Konjugase	SCF-Komplex	PUBC1, UBE2E2, UBE2E3, UBE2D3, UBE2E1, UBE2D1	Ubiquitinierung, Transport
744						
1164	lr25a	25A8	NMDA-Rezeptor	Membran	GRID2	Signalweg
7497	CG14034 (RNAi)	25D1	Lipase	extrazellulärer Raum	PLA1A, LIPH, LIPI	Metabolismus

Ergebnisse

9341	frj	26D5	Acyltransferase	Membran	MBOAT7	Metabolismus
9615	CG34345	26F3	Oxidoreduktase	ER	P4HA3, P4HA1, P4HA2	Metabolismus
9615	homer	27A1	Pleckstrin	Dendrit, ER	HOMER1, HOMER3	Zytoskelett
9615	Oatp6F	26F3	Anionen-Transporter	Membran	SLCO6A1, SLCO5A1, SLCO4A1, SLCO4C1	Andere
1469	lgd	32D3-32D4	endosomaler Transport	Zytoplasma	CC2D1A, CC2D1B	Ubiquitinierung, Transport
32256	□COP (RNAi)	34B9	Coatomer	Vesikel	COPB2	Ubiquitinierung, Transport
32256	CG7099	34B9-34B10	Transkription	TFIIIC-Komplex	CTF3C1	Transkriptionsfaktor
32256	CG31730	34B3	Acetyltransferase	-	NAA20, NAA11	Metabolismus
9594	kuz	34C4-34C6	Metalloprotease	Membran	ADAM10	Signalweg
27353	CG42817	35F1	-	-	CACNA2D4, CACNA2D3	Andere
27353	CG42818	35F1	-	-	-	Andere
3180	Syt□	36D	Vesikeltransport	Plasmamembran	SYT17, SYT6, SYT10, SYT9, SYT3	Ubiquitinierung, Transport
3180	CG15145 (RNAi)	36C11	-	-	MAATS1	Andere
8935	mib2	37B10-37B11	E3-Ub-Ligase	Zytoplasma	MIB1, MIB2	Ubiquitinierung, Transport
25705	laccase2	41F1	Mehrfach-Kupfer-Oxidase	-	CP, HEPHL1, HEPH	Metabolismus
23665	shrub	45A12-45E	ESCRT-III	MVB	CHMP4A, CHMP4B, CHMP4C	Ubiquitinierung, Transport
23666	CG12909	47A1	C2H2-Zinkfinger	Nukleolus	LYAR	Transkriptionsfaktor
23666	CG33474 (RNAi)	47A7	Peroxisom-Fission	Peroxisommembran	PEX11G	Metabolismus
23666	CG42732	47A1-47A7	Potassium-Kanal	Membran	KCNT2, KCNT1	Andere
25428	luna	47D1-47D4	C2H2-Zinkfinger	Nukleus	KLF6, KLF1, KLF7, KLF5, KLF12, KLF3	Transkriptionsfaktor
25428	CG7220 (RNAi)	47B7-47B9	E2-Ub-Konjugase	-	IMPAD1, UBE2W	Ubiquitinierung, Transport
442	mir-184	50A1	microRNA	-	-	Andere
7546	CG5267 (RNAi)	53D6	Trypsin-Inhibitor-like	extrazellulärer Raum	OTOG, VWF, MUC5AC, MUC6, MUC2, OTOGL, MUC5B, MUC19	Andere
8918	???	-	-	-	-	-
25430	Vps20	58F1-58F2	ESCRT-III	MVB	CHMP6	Ubiquitinierung, Transport
282						

Ergebnisse

26513	ltg \square PS5	59E4	Integrin	Integrin-Komplex	ITGA9, ITGA4, ITGA1, ITGA2, ITGA3, ITGA6, ITGA7	Zelladhersion
27352	slbo	60C6	Leucin-Zipper	Nukleus	CEBPE, CEBPG, CEBPB, CEBPD, CEBPA	Transkriptionsfaktor
27352	nyy (RNAi)	60C5-60C6	MYND-Zinkfinger	Nukleus	RUNX1T1, CBFA2T25, CBFA2T37	Transkriptionsfaktor
27352	CG13578	60C7	-	-	-	Andere
9701	vein	64E12-64F2	Egfr-Ligand	extrazellulärer Raum	MYOT, NRG2, FLT1	Signalweg
24399	lqf	66A4-66A5	Epsin	Plasmamembran	EPN3, ENTHD1, ENSG, EPN2	Ubiquitinierung, Transport
7591	tut (RNAi)	66B13-66C1	RNA-Bindung	Zytoplasma	RBM46	Zellmaschinerie
7591	Cpr66Ca (RNAi)	66C7	Cutikula	Extrazelluläre Matrix	-	Andere
997	scramb1	67D11	Scramblase	-	PLSCR1, PLSCR4, PLSCR3, PLSCR5	Metabolismus
997	llp4	67C8	Insulin-like	extrazellulärer Raum	-	Signalweg
24416						
997	CG8108	67C11-67D1	C2H2-Zinkfinger	-	Ci21	Transkriptionsfaktor
24416						
8068	CG11714	68C12	BTB/POZ	-	-	Ubiquitinierung, Transport
27346	mib1	72C2	E3-Ub-Ligase	Zytoplasma	MIB1, MIB2	Ubiquitinierung, Transport
2597	Tim17b	-	Translocase	Mitochondrium	TIMM17B, TIMM17A	Andere
25077	Rga	83B5-83B6	Protein-Bindung	CCR4-NOT	CNOT2	Zellmaschinerie
26533	Osi9	83E2	-	Plasmamembran	-	Andere
24973	Lk6	86E18	Kinase	Zytoplasma	MKNK2, MKNK1	Signalweg
24973	Sbf	86F8	Pleckstrin	Recycling-Endosom	SBF1, SBF2	Ubiquitinierung, Transport
23714	eff	88D2	E2-Ub-Konjugase	Mikrotubuli	PUBC1, UBE2E2, UBE2E3, UBE2D3, UBE2E1, UBE2D1	Ubiquitinierung, Transport
9152	CG42726	88F1	C2H2-Zinkfinger	-	ZNF44, ZNF710, ZNF366, ZNF384	Transkriptionsfaktor
9152	CG6136 (RNAi)	88F2	Kupfer-Homeostase	-	CUTC	Metabolismus
9152	Act88F (RNAi)	88F5	Actin	Actinfilament	ACTA1, PS1TP5BP1, ACTC1, ACTBL2, ACTA2	Zytoskelett
24139	Delta	92A1-92A2	Notch-Ligand	Plasmamembran	DLL1, DLL4	Signalweg

Ergebnisse

8964	CG4362 (RNAi)	92E2	Chitin	Viruscapsid	-	Andere
25021	Hairless	92F3	Notch-Co-Repressor	Nukleus	-	Signalweg
9501						
8684	CG7031 (RNAi)	94C8	-	-	-	Andere
6367	prt	95A7-95A8	Hydrogen-Aminosäuren-Antiporter	Membran, synaptische Vesikel	SLC18A2, SLC18A1	Ubiquitinierung, Transport
24993						
24993	SdhD	95B1	Dehydrogenase	innere Mitochondrienmembran	SDHD	Metabolismus
24993	CG10214	95B1	Exoribonuklease	Mitochondrium, Nukleus	REXO2	Zellmaschinerie
9210	Ser	97E6-97E8	Notch-Ligand	Plasmamembran	JAG2, JAG1	Signalweg
25001						
29997	CG11842	98F6	Endopeptidase	-	-	Andere
29997	Atg14	98F10	Autophagie	-	ATG14	Ubiquitinierung, Transport
25005						
29997	Slbp	98F13	mRNA-Bindung	Zytoplasma	SLBP	Zellmaschinerie
25005						
25005	stg	99A5	Phosphatase	Nukleus	CDC25A, CDC25B, CDC25C	Metabolismus
2352	???	-	-	-	-	-
2234	CG1607	100C2-100C3	Aminosäuren/Polyamin-Transporter	Membran	SLC7A7, SLC7A5, SLC7A11, SLC7A9, SLC7A10, SLC7A6	Andere
2234	□COP	100C6	Coatomer	Vesikel	COPG2, COPG	Ubiquitinierung, Transport
2234	CG1890	100D2	Tubulin-Bindung	Mikrotubuli	TBCA	Zytoskelett
2234	CG2118	100D2	Leucin-Metabolismus	mitochondriale Matrix	PCCA, MCCC1	Metabolismus
2234	Ef□100E	100D2	Translation	Zytoplasma	EEL1A2, EEF1A1	Zellmaschinerie
2234	nyo	100C4-100C6	apicale Konstriktion	Membran	CUTL-28, CUTL-17, NOAH-1, CUTL-18, C3OH6.5	Andere
2234	CycG	100C7	Cyclin	Polytenchromosom	CCNG1, CCNG2, CCNI, CCNI2	Zellmaschinerie
2234	Med	100C7-100D1	DNA-Bindung, DPP-Signalweg	Nukleus, Zytoplasma	SMAD4	Transkriptionsfaktor
2234	CstF-50	100D1	mRNA-Schnitt	mRNA	ENS6	Zellmaschinerie
2234	awd	100D2	Mikrotubuli-Bindung	Mikrotubuli	NME4, NME1-NME2, NME3,	Zytoskelett

					NME2, NME1	
2234	Acf1	100D2	PHD-Zinkfinger	ACF-Komplex, Nukleus	BA21A	Transkriptionsfaktor
4055	pan	102A3-102A4	DNA-Bindung	Nukleus, Mikrotubuli	TCF7L2, LEF1, TCF7L1, TCF7	Transkriptionsfaktor
9433						
4055	CG1909	102C6	Acetylcholin-Rezeptorbindung	postsynaptische Membran	RAPSN	Andere

Über 80 % der identifizierten Gene haben humane Homologe. Dies deutet auf eine hohe Konservierung dieser Gene hin. Dementsprechend könnten auch die Prozesse an denen diese Gene beteiligt sind hochkonserviert sein. Da auch die bekannten Funktionen von Mib1 ebenfalls hochkonserviert sind lässt sich möglicherweise ein neuer hochkonservierter Prozess identifizieren, an dem Mib1 beteiligt ist.

Anhand der Anzahl und Vielfalt der identifizierten Kandidaten kann man den Schluss ziehen, dass der Modifier-Screen sehr sensitiv war. Die identifizierten Gene sind an sehr vielen verschiedenen Prozessen beteiligt. Nichtsdestotrotz kann man eine Häufung in bestimmten Prozessen erkennen. Allerdings ist noch unklar, wie diese Gene untereinander und mit Mib1 interagieren.

3.2.5 *In silico* Analyse der Interaktion und Funktion von neuen Mind Bomb 1 Interaktionspartnern

Um nun die große Menge an neuen Interaktoren in funktionelle Verbindung mit Mib1 zu bringen wurde eine *in silico* Interaktionsanalyse von allen identifizierten Genen durchgeführt. Dadurch sollte herausgefunden werden, wie die identifizierten Gene miteinander interagieren. Es wurden Informationen aus den verschiedenen Datenbanken *FlyBase*, *DroID*, *BioGRID*, *DPiM*, *Signalink*, *Esemble* und *Interlogfinder* analysiert und mit Hilfe des Programms *Cytoscape* ein Interaktionsmodell erzeugt.

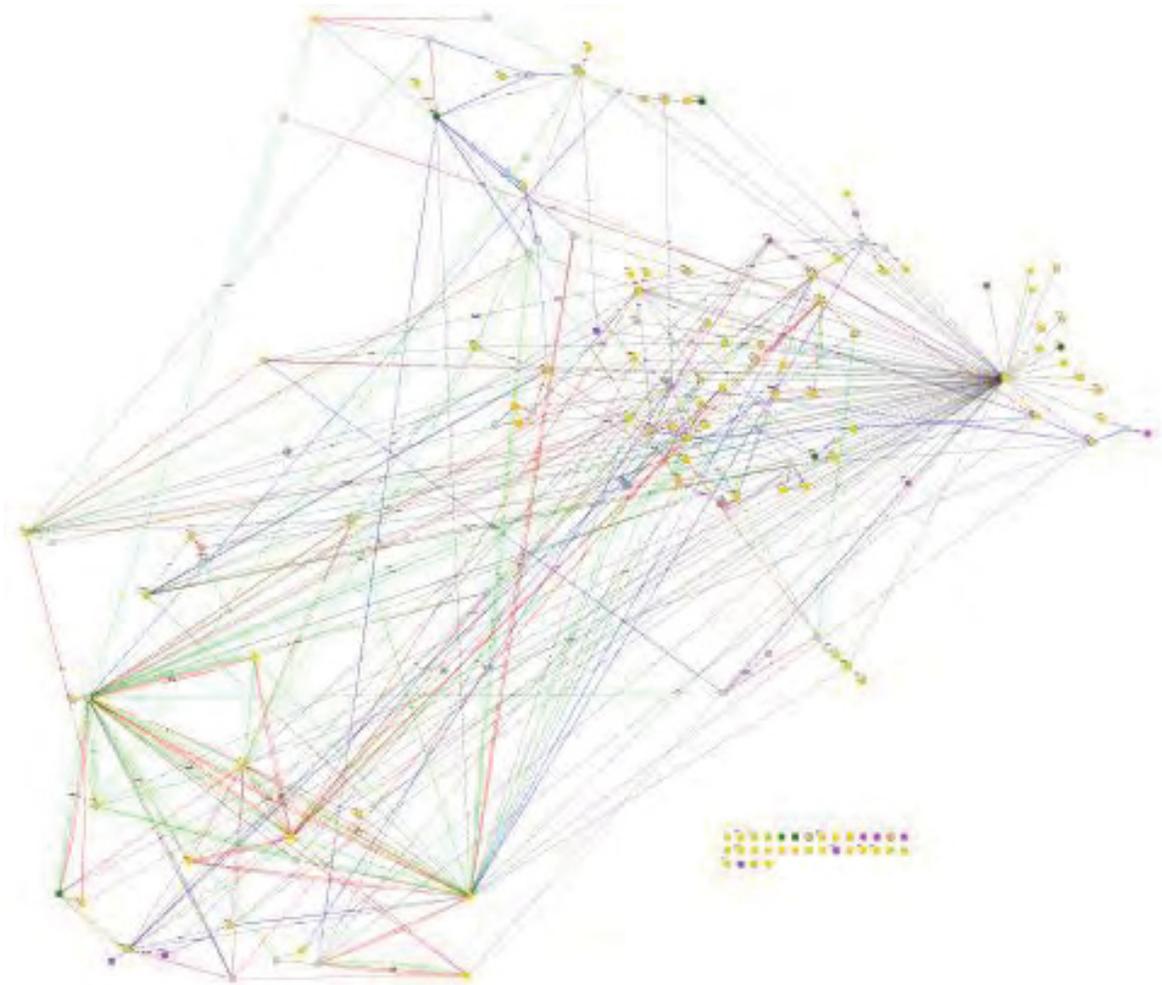


Abb. 3.19: Interaktionsmodell aller 131 im Modifier-Screen identifizierten Gene. Die Kreise zeigen die einzelnen Gene an. Die Farbe innerhalb des Kreises zeigt die Kategorie an in die das jeweilige Gen einsortiert wurde (**Kap. 3.2.1**). Die Farbe des äußeren Randes zeigt die Farbe der Gruppe an, der das Gen anhand seiner Funktion zugeordnet wurde (**Kap. 3.2.4**). Graue Kreise zeigen Gene an, die selbst nicht im Screen aufgetaucht sind, aber mehrere im Screen aufgetauchte Gene miteinander verbinden. Die Verbindungen zwischen den einzelnen Kreisen zeigen die Interaktion zwischen beiden Genen. Pfeile zeigen die Richtung der Interaktion an. Grüne Pfeile zeigen Aktivierung und rote Pfeile Inhibierung an. Blaue durchgezogene Linien zeigen bekannte Interaktionen an, während gestrichelte Linien für vorhergesagte Interaktionen stehen. Unten rechts befinden sich die Gene, bei denen bislang keine Interaktionen mit anderen Genen im Modifier-Screen gezeigt oder vorhergesagt wurde.

Interessanterweise interagieren sehr viele der im Screen identifizierten Gene miteinander. Teilweise konnte die direkte oder genetische Interaktion (farbige Verbindungen) bereits gezeigt werden. In vielen Fällen sind die Interaktionen allerdings nur vorhergesagt (graue Verbindungen). Diese Annahmen basieren in der Regel auf Ergebnissen aus anderen Organismen. Während einzelne Gene Interaktionen mit vielen anderen Genen zeigen, zeigen einige Gene auch keine Interaktion mit Anderen (**Abb. 3.19**, unten rechts). Über

diese Gene ist meistens nicht viel bekannt und sie fallen häufig in die Gruppe „Andere“. Da das Interaktionsmodell insgesamt sehr unübersichtlich ist, sollen einige kleinere Subkluster näher analysiert werden (Kap. 9.4, Tab. 9.6; Datei des Interaktionsmodells auf beiliegendem Datenträger). Dazu wurden einzelne Gene und alle seine Verbindungen zu benachbarten Genen in ein neues Interaktionskluster übertragen.

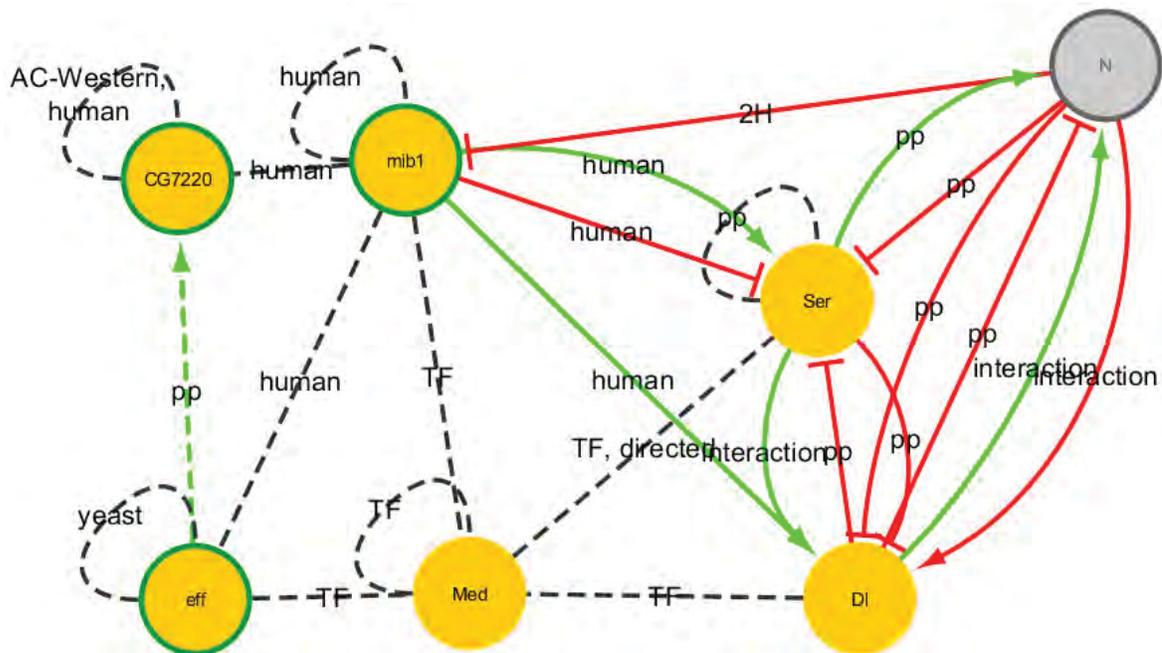
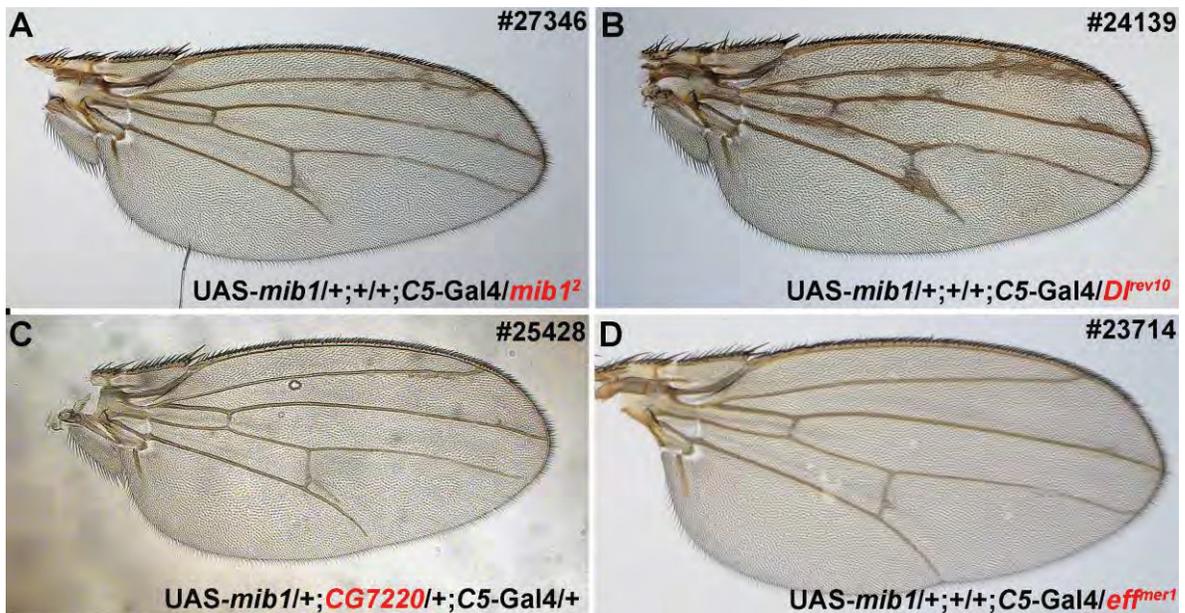


Abb. 3.20: Das Interaktions-Subkluster von Mib1. (A) Der Verlust einer Kopie von *mib1*² im Modifier-Hintergrund UAS-*mib1*;C5-Gal4. (B) Der Verlust einer Kopie von *DI*^{rev10} im Modifier-Hintergrund. (C) Der Verlust einer Kopie von *CG7220*-RNAi im Modifier-Hintergrund. (D) Der Verlust einer Kopie von *eff*^{mer1} im Modifier-Hintergrund. (Modell)

Mib1 interagiert direkt mit Dl, Ser und N. Dl und Ser werden von Mib1 aktiviert und Ser außerdem noch inhibiert. Dl und Ser aktivieren und inhibieren sich ebenfalls gegenseitig. Darüber hinaus kommt es auch zu einer gegenseitigen Aktivierung und Inhibierung der Liganden in Bezug auf den Notch-Rezeptor. Auf Grundlage eines Yeast-2-Hybrid-Screens konnte gezeigt werden, dass Notch Mib1 inhibiert. Med hat vermutlich einen regulatorischen Einfluss als Transkriptionsfaktor auf die Expression von *Dl*, *Ser*, *mib1* und *eff*. Außerdem ist eine Interaktion zwischen Mib1 und den beiden E2-Ub-Konjugasen Eff und CG7220 aufgrund von humanen Daten vorhergesagt. In der Masterarbeit von Björn Schnute konnte bereits eine starke genetische Interaktion von Mib1 und Eff nachgewiesen werden. innerer Kreis = Farbe der Kategorie; äußerer Kreis = Farbe der Gruppe; grüner Pfeil = Aktivierung; roter Pfeil = Inhibierung; durchgezogenen Linie = bekannte Interaktion; gestrichelte Linie = vorhergesagte Interaktion.

Zunächst wurde das Subcluster von Mib1 analysiert, da schließlich mittels des Modifier-Screens neue Interaktionspartner von Mib1 gefunden werden sollten. Wie bereits bekannt ergab die Interaktionsanalyse, dass Mib1 eine Interaktion mit Dl und Ser eingeht. Es konnte bereits gezeigt werden, dass Mib1 direkt an die Liganden bindet und diese ubiquitiniert. Mib1 sorgt dabei für die Aktivierung der Liganden, indem sie endozytiert werden (Seugnet et al. 1997). Darüber hinaus soll Mib1 auch einen inhibierenden Einfluss auf Ser haben. Dies konnte bereits in humanen Experimenten gezeigt werden (Lai et al. 2005). Wie zu erwarten führt sowohl der Verlust von *mib1* als auch der von *Dl* zu einer Reduktion der Notch-Aktivität und damit zur Wiederherstellung von Venengewebe (**Abb. 3.20A+B**).

Zweifelsfrei hat Mib1 einen Einfluss auf die Aktivität des Notch-Rezeptors. N wurde selbst im Screen nicht identifiziert, da N in keiner Defizienz des *Bloomington Deficiency Kits* deletiert ist. Nichtsdestotrotz hat der Verlust einer Kopie des Allels N^{55e11} eine deutlich Abschwächung des Modifier-Phänotyps zur Folge (**Abb. 3.14C**). Die Interaktion verläuft vornehmlich indirekt über die Liganden (Le Borgne et al. 2005a). Allerdings konnte in eine inhibierende Wirkung von Notch auf Mib1 vorhergesagt werden (Formstecher et al. 2005). Mittels anti-Tag Co-Immunoprecipitation wird eine Interaktion von Mib1 mit der E2-Ub-Konjugase Effete vorhergesagt (InterlogFinder). Eine genetische Interaktion konnte bereits in der Masterarbeit von Björn Schnute 2013 bestätigt werden (Masterarbeit Schnute 2013).

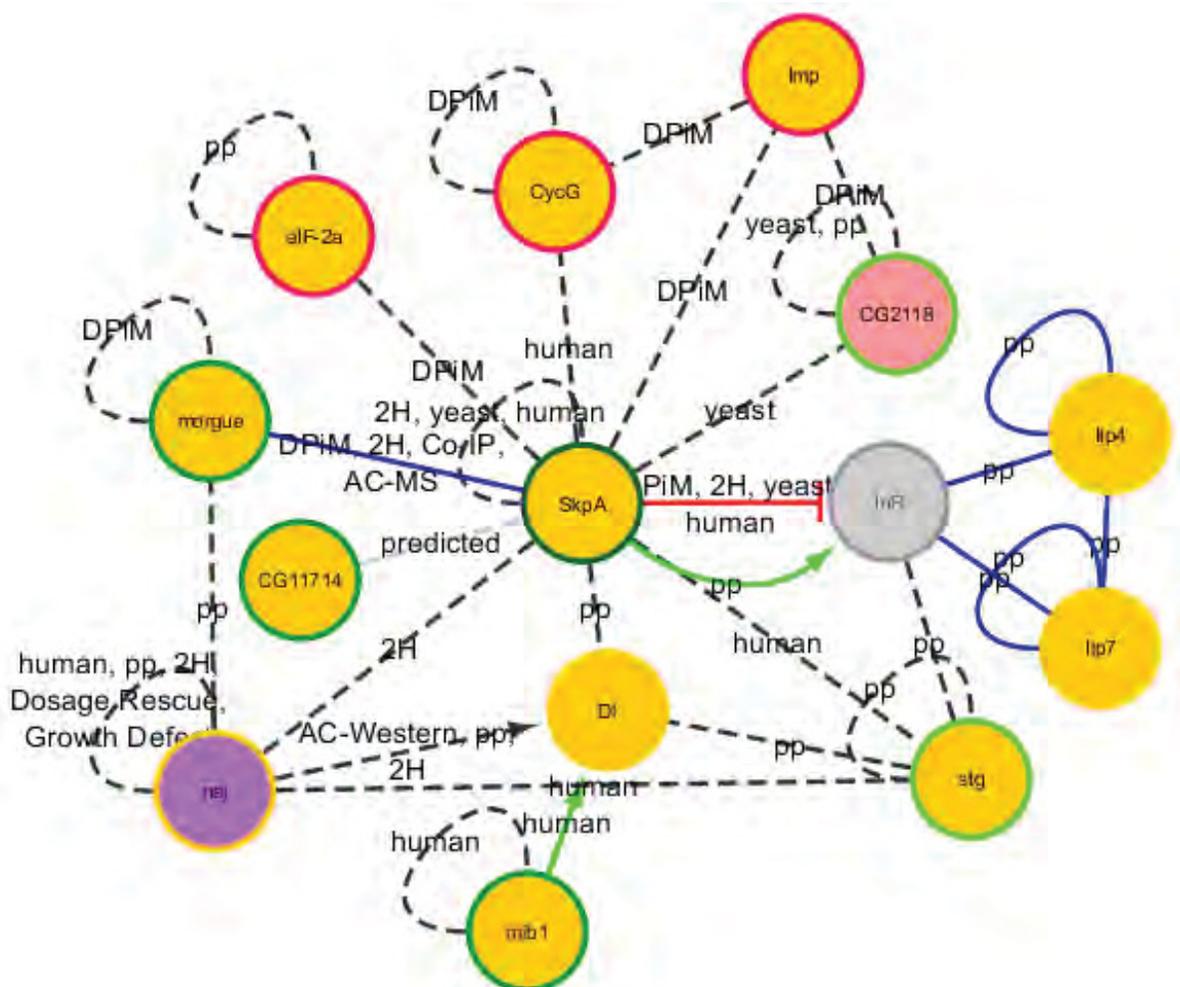
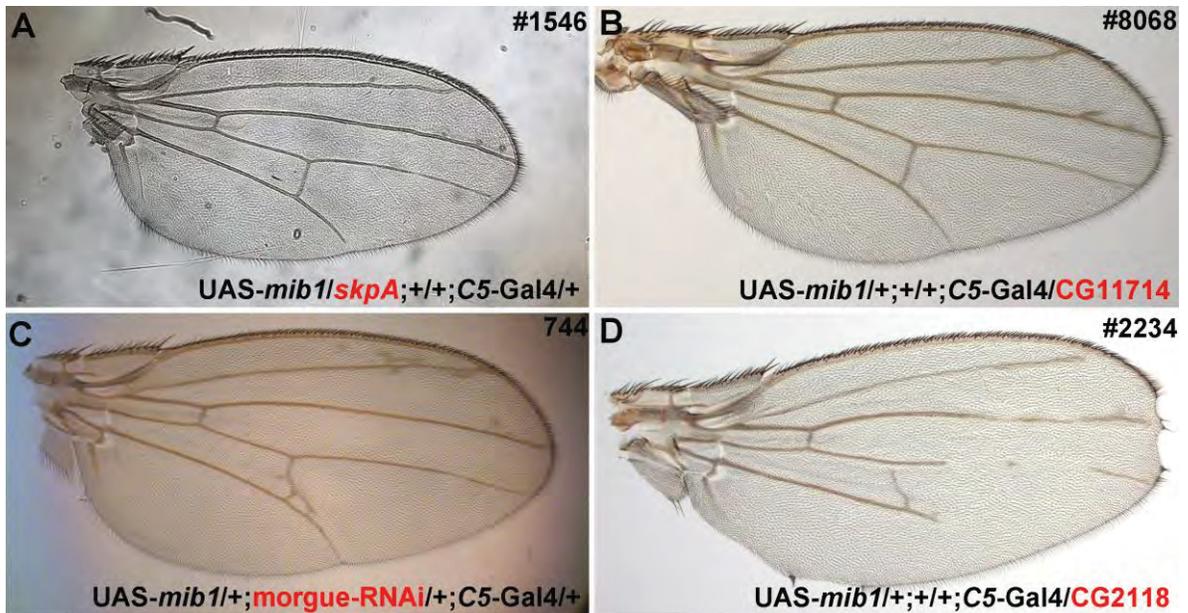


Abb. 3.21: Das Interaktions-Subkluster der SCF-Komplex-Komponente SkpA. (A) Der Verlust einer Kopie von *SkpA*¹ im Modifier-Hintergrund. (B) Der Verlust einer Kopie von *CG11714*^{d02798} im Modifier-Hintergrund. (C) Die Expression von *morgue*-RNAi im Modifier-Hintergrund. (D) Der Verlust einer Kopie von *CG2118*^{PL00054} im Modifier-

Hintergrund. (**Modell**) SkpA und die E2-Ub-Konjugase Morgue sind als Komponenten des SCF-Komplexes beschrieben. CG11714 ist aufgrund seiner BTB/POZ-Domäne möglicherweise ebenfalls eine Komponente des SCF-Komplexes. SkpA soll über Dl auch mit Mib1 interagieren. Darüber hinaus inhibiert und aktiviert SkpA direkt den Insulin-Rezeptor InR, dessen Liganden Ilp4 und Ilp7 ebenfalls im Screen aufgetaucht sind. CycG und Stg spielen während der Zellteilung eine Rolle auf die der SCF-Komplex anscheinend auch einen Einfluss hat. Nej, EIF-2a und Imp sind an generellen Prozessen, wie Translation und Transkription beteiligt. CG2118 spielt eine Rolle bei der Biotinylierung, welches ebenfalls eine Markierung für Proteinstabilität darstellt. innerer Kreis = Farbe der Kategorie; äußerer Kreis = Farbe der Gruppe; grüner Pfeil = Aktivierung; roter Pfeil = Inhibierung; durchgezogene Linie = bekannte Interaktion; gestrichelte Linie = vorhergesagte Interaktion.

Darüber hinaus wurde außerdem gezeigt, dass Effete und Mib1 voraussichtlich mit CG7220, einer weiteren E2-Ub-Konjugase interagieren. CG7220 wurde bereits in einem E2-Ub-Konjugasen-Screen näher analysiert. Die posteriore Expression im Flügel führte zu Kerben im Flügelrand (Bachelorarbeit Alpert 2012). Dies deutet auf einen Verlust der Notch-Aktivität hin, da der Verlust von Notch ebenfalls zu Kerben im Flügelrand führt (Morgan and Bridges, 1916). Bei Verlust einer Kopie der beiden E2-Ubiquitin-Konjugasen, CG7220 oder *eff*, im Modifier-Screen konnte ebenfalls eine Reduktion der Notch-Aktivität beobachtet werden. Die Venen sind in beiden Fällen auf ein nahezu wildtypisches Niveau wiederhergestellt (**Abb. 3.20C+D**).

Als Transkriptionsfaktor soll Med einen Einfluss auf die Expression von *eff*, *mib1*, *Ser* und *Dl* haben. Normalerweise spielt Med eine wichtige Rolle bei der Signalweiterleitung des Dpp-Signalweges. Da der Dpp-Signalweg essentiell bei der Musterbildung im Flügel ist könnte der Verlust dieser wichtigen Komponente die Phänotypveränderung im Modifier-Hintergrund verursachen. Allerdings zeigt die Interaktionsstudie, dass Med auf 59 (45 %) der im Screen identifizierten Gene als Transkriptionsfaktor wirkt. Dies legt die Vermutung nahe, dass Med im Flügel eine weitreichende regulatorische Funktion übernimmt (**Abb. 3.20**).

Ein weiteres interessantes Subkluster dreht sich um SkpA, eine Kernkomponente des SCF-Komplexes. Der SCF-Komplex ist ein multi-Protein E3-Ub-Ligasen-Komplex und hat die Aufgabe Proteine zu ubiquitinieren und damit zum Abbau im Proteasom zu markieren. Eine besondere Rolle spielt er bei der Regulierung von Proteinen des Zellzyklus. SkpA interagiert direkt mit der E2-Ub-Konjugase Morgue, die ebenfalls als Komponente des SCF-Komplexes beschrieben wurde. Darüber hinaus konnte CG11714 identifiziert werden. CG11714 besitzt eine BTB/POZ-Domäne, welche ebenfalls in einigen Komponenten des

SCF-Komplexes vorkommt. Dies legt die Vermutung nahe, dass es sich bei *CG11714* ebenfalls um eine Komponente des SCF-Komplexes handeln könnte (Krek 2003). Sowohl *SkpA* als auch *CG11714* zeigen in Heterozygose im Modifier-Hintergrund eine deutliche Abschwächung des Phänotyps. Die Venen sind nahezu wildtypisch wieder hergestellt, da die Notch-Aktivität reduziert ist (**Abb. 3.21A+B**). Möglicherweise werden die Komponenten des Notch-Signalweges nicht nur über den endosomalen Transportweg abgebaut, sondern gegebenenfalls auch über den SCF-Komplex.

Morgue ist eine E2-Ubiquitin-Konjugase und soll ebenfalls eine Komponente des SCF-Komplexes darstellen (Wing et al. 2002; Zhou et al. 2013). Die Expression der *morgue*-RNAi im Modifier-Hintergrund sorgt ebenfalls für eine Reduktion der Notch-Aktivität und dementsprechend für eine Wiederherstellung der Venen (**Abb. 3.21C**).

Mit verschiedenen Methoden konnte gezeigt werden, dass *SkpA* einen direkten Einfluss auf den Insulinrezeptor *InR* hat (Wong et al. 2013). Interessanterweise konnten die beiden Liganden *Ilp4* und *Ilp7* im Screen identifiziert werden, die ebenfalls direkt mit *InR* interagieren (Brogiolo et al. 2001). *InR* wurde selbst nicht im Modifier-Screen identifiziert. Wie bereits erwähnt, spielt der SCF-Komplex eine besondere Rolle bei der Degradation von Zellzyklusproteinen. Dementsprechend wurde auch eine Verbindung zwischen *SkpA* und *CycA* vorhergesagt. Dasselbe gilt für *Stg*. Diese Protein-Tyrosin-Phosphatase spielt ebenfalls bei der Zellteilung eine Rolle. *Stg* soll auch mit *InR*, *DI* und *Nej* interagieren.

Nej hingegen hat als Histon-Acetyltransferase eine Funktion als Transkriptions-Co-Aktivatoren. Es hat neben *DI*, *SkpA* und *stg* auch einen Einfluss auf *luna*, *slbo*, *eff*, *sc*, *CG7099*, *H*, *N*, *Med*, *Sbf*, *lwr*, *scrambl*, *pan*, *Lk6* und *mei-41* (**Abb. 3.19**).

eIF-2a und *Imp* spielen eine Rolle während der Translation. Allerdings ist unklar wie genau der Einfluss auf *SkpA* ausgeübt wird. Möglicherweise ist die *SkpA* Translation gestört oder *SkpA* ist am Abbau dieser Proteine beteiligt.

Basierend auf Experimenten in der Hefe wird eine Interaktion zwischen *SkpA* und *CG2118* vorhergesagt. *CG2118* ist am Leucin-Metabolismus beteiligt und zeigt eine Biotin-Carboxylase-Aktivität. Biotin dient ebenfalls als stabilisierende Markierung innerhalb der Zelle, somit wird der Abbau von biotinylierten Proteinen verhindert (Garabedian, et al., 2011; Sardiello et al., 2003). Möglicherweise interagieren oder antagonisieren *SkpA* und *CG2118* auf dieser Ebene miteinander (**Abb. 3.21**). Allerdings führt der Verlust von einer Kopie *CG2118* im Modifier-Hintergrund sowohl zu einer Reduktion der Venen als auch zu

Einkerbungen im Flügelrand. Damit hat der Verlust dieses Gens eine reduzierende Wirkung auf den Flügelrand und einen verstärkenden Einfluss auf die Venenbildung (Abb. 3.21D).

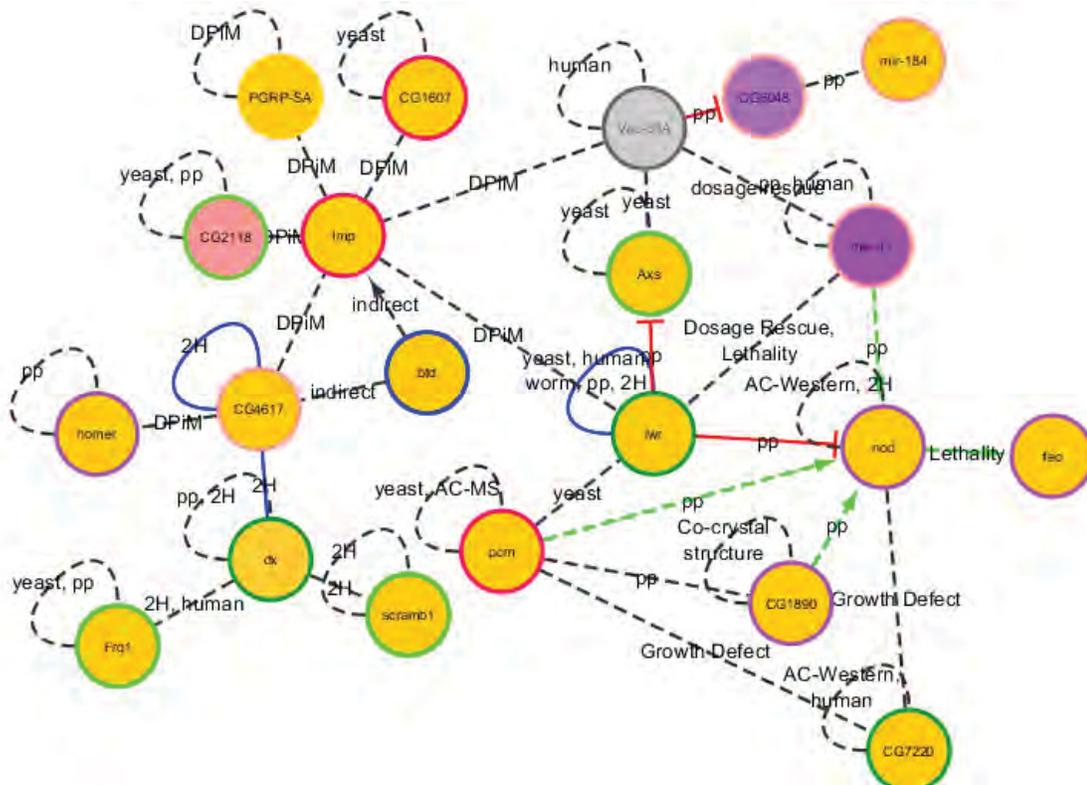
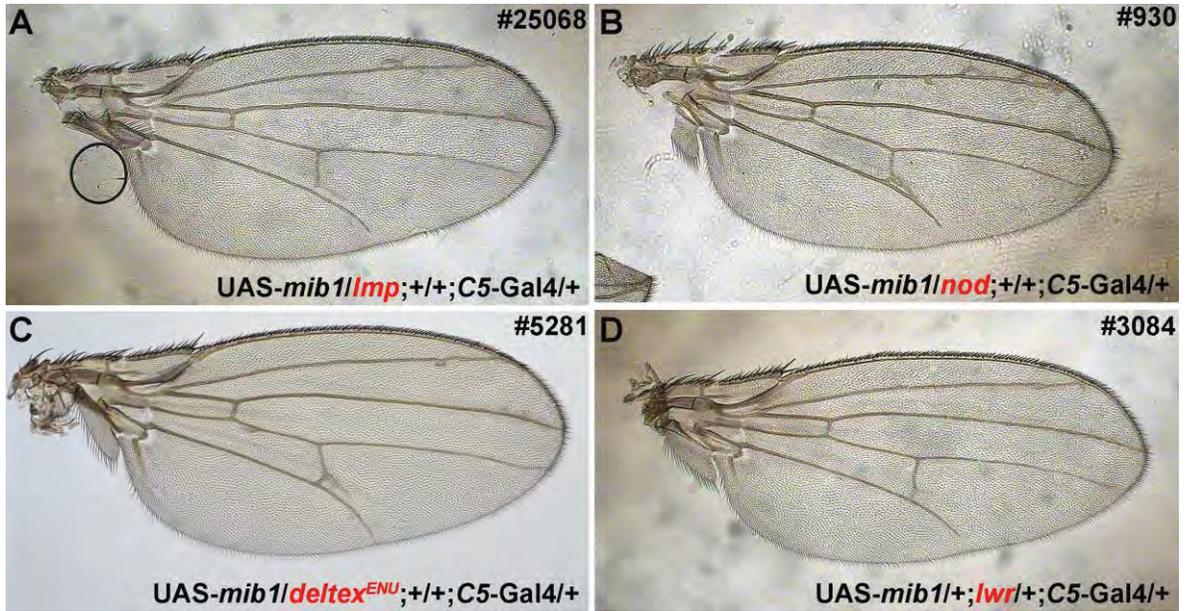


Abb. 3.22: Interaktions-Subkluster der Gene, die am Zytoskelett und synaptischen Vesikelbildung beteiligt sind. (A) Der Verlust einer Kopie von *Imp*^{HC133} im Modifier-Hintergrund. (B) Der Verlust einer Kopie von *nod*^l im Modifier-Hintergrund. (C) Die Expression von *dx*^{ENU} im Modifier-Hintergrund. (D) Die Expression von *lwr*-RNAi im Modifier-

Hintergrund. (**Modell**) Die Gene *nod*, *CG1890* und *feo* sind direkte Funktionen am Zytoskelett. Während *Nod*, *Axs* und *Mei-41* auf Ebene des Zytoskeletts an der Bildung des Spindelapparates beteiligt sind übt die E2-Ub-Konjugase *Lwr* eine regulatorische Funktion in diesem Prozess aus. Die E2-Ub-Konjugase *CG7220* affektiert ebenfalls *Nod*. Darüber hinaus wird eine Interaktion mit *Pcm* vorhergesagt. *Pcm* soll einen gerichteten Einfluss auf *Nod* haben. *CG6048*, *Mei-41*, *Axs* und *Imp* werden durch *Vap-33A* verbunden. *Vap-33A* ist ein Adaptor des synaptischen Zytoskeletts und entscheidend an der Freisetzung synaptischer Vesikel beteiligt. *Imp* spielt eine Rolle beim Splicing von RNA innerhalb des Axons. Laut DPiM interagiert es möglicherweise mit *Lwr*, *CG1607*, *PGRP-SA*, *CG2118*, *Btd* und *CG4617*. *CG4617* interagiert vermutlich ebenfalls mit einem Zytoskelett-Proteine, *homer*. Darüber hinaus konnte in einem Y2H-Screen gezeigt werden, dass *CG4617* mit *dx* interagiert. Da *dx* eine Rolle im Notch-Signalweg spielt ist dies auch für andere Gene in diesem Subkluster denkbar. *dx* soll darüber hinaus mit *Frq1* und *scrambl* interagieren. Diese beiden Gene haben ebenfalls eine Funktion innerhalb der Synapse. innerer Kreis = Farbe der Kategorie; äußerer Kreis = Farbe der Gruppe; grüner Pfeil = Aktivierung; roter Pfeil = Inhibierung; durchgezogenen Linie = bekannte Interaktion; gestrichelte Linie = vorhergesagte Interaktion.

Ein weiteres interessantes Sub-Kluster beinhaltet Gene, die sowohl am Zytoskelett als auch an der Freisetzung synaptischer Vesikel beteiligt sind. Einige dieser Zytoskelett-Proteine haben eine zusätzliche Funktion bei der Bildung des Spindelapparates.

Die Gene *CG1890*, *nod* und *feo* stehen in Verbindung mit Mikrotubuli. Sie sollen miteinander interagieren. Darüber hinaus übt *nod* zusammen mit *mei-41* und *Axs* eine Funktion am Spindelapparat aus (Kramer und Hawley 2003). Zusätzlich werden sie dort von der E2-Ub-Konjugase *lwr* reguliert (Apionishev et al. 2001). Sowohl *nod* als auch *lwr* zeigen ein Heterozygose im Modifier-Hintergrund eine Reduktion der Notch-Aktivität, wodurch Venengewebe wieder hergestellt wird (**Abb. 3.22B+D**).

Axs und *mei-41* sollen mit *Vap-33A* in Kontakt stehen (InterlogFinder). *Vap-33A* vermittelt den Kontakt zwischen Mikrotubuli und der präsynaptischen Membran (Lloyd et al. 2000; Pennetta et al. 2002). *Vap-33A* kam selbst im Screen nicht vor, hat aber eine inhibierende Wirkung auf die Endopeptidase *CG6048*, die wiederum von der microRNA *Mir-184* reguliert werden soll. *Vap-33A* interagiert vermutlich auch mit *Imp* (DroID).

Imp zeigt in Heterozygose im Modifier-Hintergrund eine deutliche Wiederherstellung der Venen. Die Notch-Aktivität ist reduziert (**Abb. 3.22.A**). *Imp* ist am RNA-Splicing innerhalb des Axons beteiligt. Über *CG4617* steht *Imp* in Verbindung mit *Homer*. *Homer* steht in Kontakt mit dem Zytoskelettprotein *Actin*, ebenso wie *Act88F* und *Sn* (Babu et al. 2004). *Homer* ist darüber hinaus auch an der Regulation von Glutamat-Rezeptoren beteiligt (Xiao et al. 1998). Diese Funktion konnte kürzlich auch *Mib1* zugesprochen werden (Sturgeon et al. 2016). Reguliert wird *CG4617* durch den Transkriptionsfaktor *Btd*.

CG4617 interagiert direkt mit Dx. Dies konnte mittels eines Yeast-2-Hybrid-Screens gezeigt werden (Giot et al. 2003). Dx ist die E3-Ub-Ligase, die auch mit Notch direkt interagiert (Matsuno et al. 1995; Diederich et al. 1994). Auch das Recoverin Frq1, das an der Synapse lokalisiert ist und die Scramblase, Scrambl1 interagieren voraussichtlich mit Dx (InterlogFinder).

Es ergibt sich, dass die Proteine des Zytoskeletts wichtige Rollen im Bereich der Vesikelbildung und der Vesikelfreisetzung innehaben und darüber hinaus auch bei der Bildung der Spindel im Rahmen der Zellteilung. Da neben dx auch einige E2-Ub-Konjugasen eine Rolle dabei spielen kann man sich gut vorstellen, dass auch Mib1 an diesen Prozessen beteiligt ist. Wie *mib1/+* sorgt auch *dx/+* für eine Reduktion der Notch-Aktivität (**Abb. 3.20A+3.22C**).

Alles in allem kann gesagt werden, dass alle beschriebenen Subkluster in Einbezug ihrer bekannten Funktionen an einem Prozess beteiligt sind an dem potentiell auch Mib1 eine Rolle spielt. Allerdings müssen weitere Analysen die Art der Interaktion spezifizieren und ihre Funktion aufdecken.

3.2.6 Herstellung und Analyse einer Mutante des Gens *CG11714*

Nachdem die 131 identifizierten Gene nach Funktion und Interaktion untersucht und funktionellen Gruppen zugeordnet werden konnten sollten einige Kandidaten näher untersucht werden. Es sollte die genaue Funktion und die Art der Interaktion mit Mib1 festgestellt werden.

Das Gen *CG11714* wurde für weitere Analysen ausgewählt, da der Verlust dieses Gens in Heterozygose im Modifier Hintergrund zu einer deutlichen Abschwächung des Phänotyps führt. Die Venen sind im wildtypischen Maße wiederhergestellt und es kommt nur zu einer geringen Bildung von zusätzlichem Venengewebe (**Abb. 3.23C**).

Die *in silico* Analysen dieses Gens erbrachten nur wenige Informationen. Es ist bekannt, dass dieses Protein N-terminal eine *Broad-Complex*, *Tramtrack* and *Bric a brac/ POxvirus* and *Zinc finger* (BTB/POZ)-Domäne besitzt (**Abb. 3.24**). Diese Domäne vermittelt Homodimerisierung. Viele Proteine, die diese Domäne besitzen sind transkriptionelle Regulatoren oder an der Chromatinremodellierung beteiligt und spielen eine Rolle bei der Apoptose und der Genexpression (DroID; Zollman et al. 1994; Bardwell und Treisman 1994; Ahmad et al. 1998).

Bislang konnten auch lediglich in *Daphnia pulex* Homologe nachgewiesen werden (FlyBase). Allerdings erbrachten Sequenzvergleiche (BLAST) hohe Übereinstimmungen, sodass auch von Homologen in Maus und dem Menschen ausgegangen werden kann (Esemble). Die Sequenzen sind zu circa 30 % identisch und zeigen einen sehr geringen E-Wert, sodass eine zufällige Sequenzähnlichkeit sehr unwahrscheinlich ist (**Tab 3.2**; Altschul et al. 1997). Zwei Gene stehen als mögliche Homologe zur Verfügung. Dabei handelt es sich in Maus um Btbd6 und Btbd3 und im Menschen um BTBD6 und BTBD3. Diese Homologe besitzen ebenfalls eine BTB-Domäne. Für BTBD3 konnte eine Rolle bei der Dendritenorientierung im Neocortex von Säugern nachgewiesen werden (Matsui et al. 2013). Ein Homolog von BTBD6 namens *lute* soll in *Drosophila* existieren und ebenfalls für die neurale Entwicklung zuständig sein. Bei *lute* handelt es sich allerdings nicht um CG11714 (Bury et al. 2008). Möglicherweise sind *CG11714* und *lute* ebenfalls homolog.

Tab. 3.2: Homologieanalyse von CG11714 aus *Drosophila* mit murinen und humanen Proteinsequenzen. Die erste Spalte gibt die gefundenen Homologe an. Sowohl in Maus als auch im Menschen wurden die gleichen Proteine identifiziert. Der Score gibt die Qualität der Homologie an anhand von spezifischen Parametern des Blastprogramms *Esemble* an. Der E-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, ob die Sequenzhomologien zufällig gefunden wurden. Die %ID gibt die identischen Aminosäuren innerhalb des homologen Bereichs an (Esemble).

Name	Spezies	Score	E-Wert	%ID
Btbd6	Maus	51,5	4e-8	27,84
Btbd3	Maus	47,4	1e-6	30,58
BTBD6	Mensch	52,1	2e-8	23,82
BTBD3	Mensch	49,1	4e-7	31,40

Um CG11714 näher zu untersuchen sollte ein mutantes Allel mittels P-Element Mobilisation hergestellt werden. Dazu wurde der Stamm *CG11714^{d02798}* verwendet. Er enthält eine P{XP} P-Element-Insertion 279 bp vom C-Terminus entfernt innerhalb der Gensequenz von *CG11714* und wurde mit einem $\Delta 2/3$ Stamm verkreuzt. Dieser exprimiert die Transposase, die die flankierenden *inverted-repeats* erkennt und das P-Element mobilisieren kann. Dabei kommt es in der Regel zu einer präzisen Entfernung. Allerdings kann auch umliegende DNA mit herausgerissen werden, sodass Deletionen entstehen können (**Abb. 3.24**).

Mittels Sequenzierungen konnte das Allel *CG11714^{l5}* identifiziert werden. Dabei wurden circa die letzten 500 bp im C-terminalen Bereich deletiert. Allerdings wurde auch ein Teil

des Nachbargens *Fuca* entfernt. Dieses Gen wurde auch im Screen getestet, zeigte aber lediglich eine Veränderung des Abschwächungsgrades 1. Dementsprechend kann ein Einfluss dieses Gens unter Vorbehalt vernachlässigt werden. Außerdem ist die einzig bekannte Domäne, BTB/POZ, nicht von der Deletion betroffen. Das Allel sollte nun auf Funktionalität getestet werden (**Abb. 3.24**).

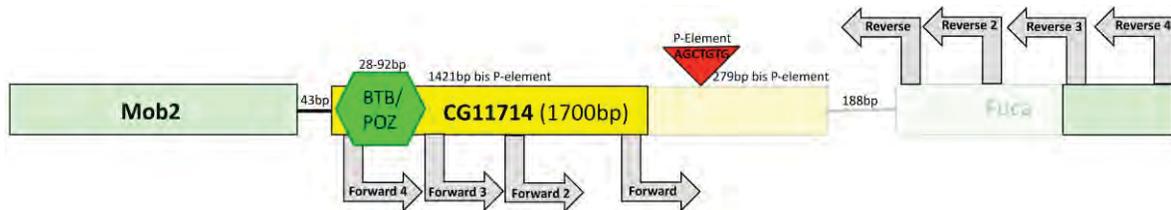


Abb. 3.23: Modell von *CG11714*¹⁵. Das Gen *11714* befindet sich auf dem III. Chromosom in der zytologischen Region 68C12. Es wird von zwei weiteren Genen, *Mob2* und *Fuca*, flankiert. N-terminal besitzt *CG11714* eine BTB/POZ-Domäne, die für die Dimerisierung von Proteinen verantwortlich ist. Sie ist Bestandteil vieler Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren und soll der Interaktion mit Komponenten des Histone-Deacetylase Co-Repressor-Komplexes dienen. Darüber hinaus besitzen einige SCF-Komplex-Komponenten ebenfalls eine BTB/POZ-Domäne. Durch die P-Element-Mobilisation konnte eine Mutante erzeugt werden. Das P-Element war 279 bp vom C-Terminus inseriert und hat bei seiner Deletion circa die letzten 500 bp von *CG11714* entfernt, sowie Teile des Nachbargens *Fuca*. *Fuca* zeigte im Screen keine Modifikation.

*CG11714*¹⁵ zeigt im Modifier-Hintergrund eine starke Abschwächung des Phänotyps. Die Venen sind in nahezu wildtypischem Maße wiederhergestellt und es kommt nur zu sehr wenig zusätzlichem Venengewebe. Die L5 ist nicht immer in Kontakt mit dem Flügelrand. Dieser Phänotyp gleich sehr stark dem der P-Element-Insertion (**Abb. 3.23D**).

Aus diesem Grunde kann davon ausgegangen werden, dass dieses Allel wirklich zu einem Verlust der Genfunktion führt. Ob es sich dabei allerdings um ein amorphes oder hypomorphes Allel handelt konnte nicht festgestellt werden. Die adulten Fliegen sind homozygot lebensfähig und zeigen keine morphologischen Defekte im wildtypischen Hintergrund. Dies ist ebenfalls der Fall bei der P-Element-Insertion.

Bei weiteren Untersuchungen konnte im *Irregular facets* mutanten Hintergrund eine signifikante Verkleinerung der Augen beobachtet werden, *If* wird als dominante Markermutation benutzt. Da in *CG11714*-mutantem Hintergrund lediglich ein morphologischer Phänotyp bei gleichzeitigem Verlust von *If* beobachtet werden kann handelt es sich um einen sehr schwachen Phänotyp. Dieser kann möglicherweise durch den genetischen Hintergrund verursacht werden. Allerdings wurde bereits gezeigt, dass der

Verlust von *mib1* zu einer sehr deutlichen Verkleinerung des Kopfes, inklusive Augen, führt (Lai et al. 2005). Dies könnte auf eine Funktion im selben Prozess hindeuten.

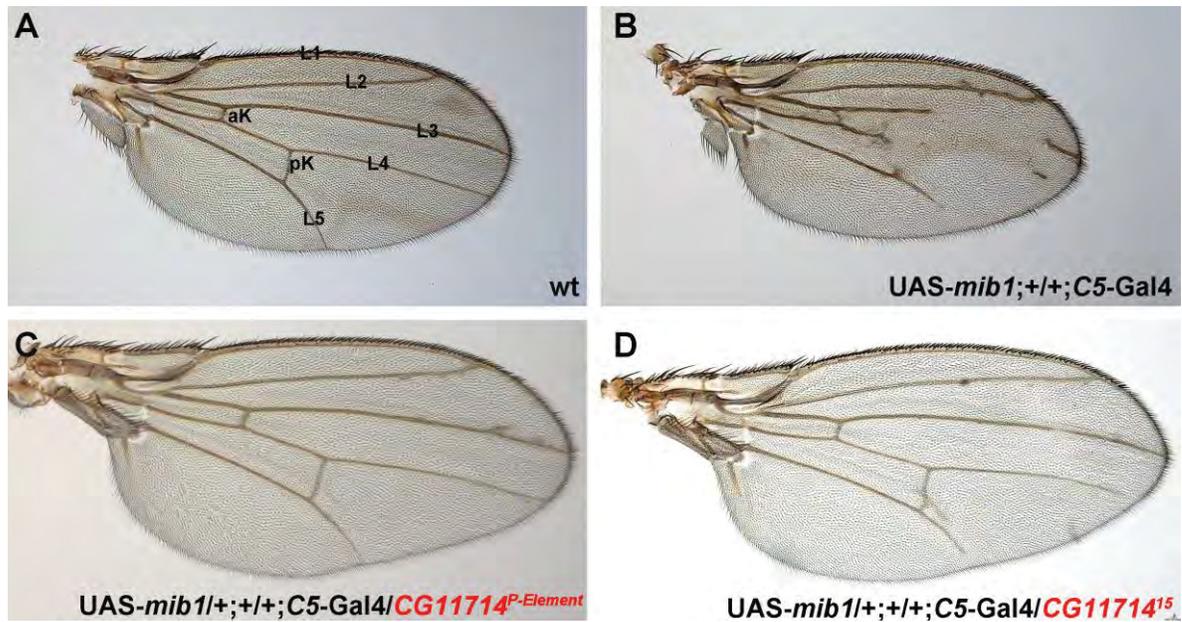


Abb. 3.24: Flügelanalyse im Rahmen des Modifier-Screens von CG11714. (A) wildtypischer Flügel von *Drosophila melanogaster*. (B) Der Modifier-Phänotyp *UAS-mib1*; *C5-Gal4*. (C) Der Verlust der im Screen verwendeten P-Element-Insertion in der genomischen Region von CG11714 sorgt im Modifier-Hintergrund für die vollständige Wiederherstellung der Venen. Darüber hinaus ist wenig zusätzliches Venengewebe zu beobachten. Der *mib1*-Überexpressionsphänotyp wird deutlich abgeschwächt. Es handelt sich um eine starke Interaktion. (D) Der Verlust der mittels P-Element-Mobilisation hergestellten Mutante *CG11714¹⁵* sorgt im Modifier-Hintergrund ebenfalls für eine deutliche Abschwächung. Die Venen sind nahezu wildtypisch wieder hergestellt und es kommt zu kaum einer Bildung von zusätzlichem Venengewebe. Lediglich die L5 ist nicht mehr in Kontakt mit dem Flügelrand.

Aufgrund der BTB/POZ-Domäne kam die Vermutung auf, dass CG11714 eine Komponente des SCF-Komplexes sein könnte. Es ist bekannt, dass gewisse Formen dieses Komplexes Komponenten beinhalten, die ebenfalls eine BTB/POZ-Domäne tragen (Krek, 2003). Im Modifier-Screen wurde die Kernkomponente des SCF-Komplexes *SkpA* identifiziert. Der Verlust von *CG11714* oder *SkpA* in Heterozygose führt zu keinerlei morphologischen Veränderungen im Flügel (Abb. 3.25B+C). Ebenso kommt es in der doppelmutanten Situation von *SkpA* und *CG11714* zu keiner phänotypischen Veränderung (Abb. 3.25A).

Um nun genetische Interaktionen mit einzelnen Notch-Komponenten zu überprüfen, wurden sowohl *SkpA* als auch *CG11715* mutante Allele gegen die folgenden Komponenten

des Notch-Signalweges gekreuzt: Ser, Dl, H, mib1 und N. Alle Allel-Kombinationen wurden in Heterozygose analysiert (Abb. 3.25).

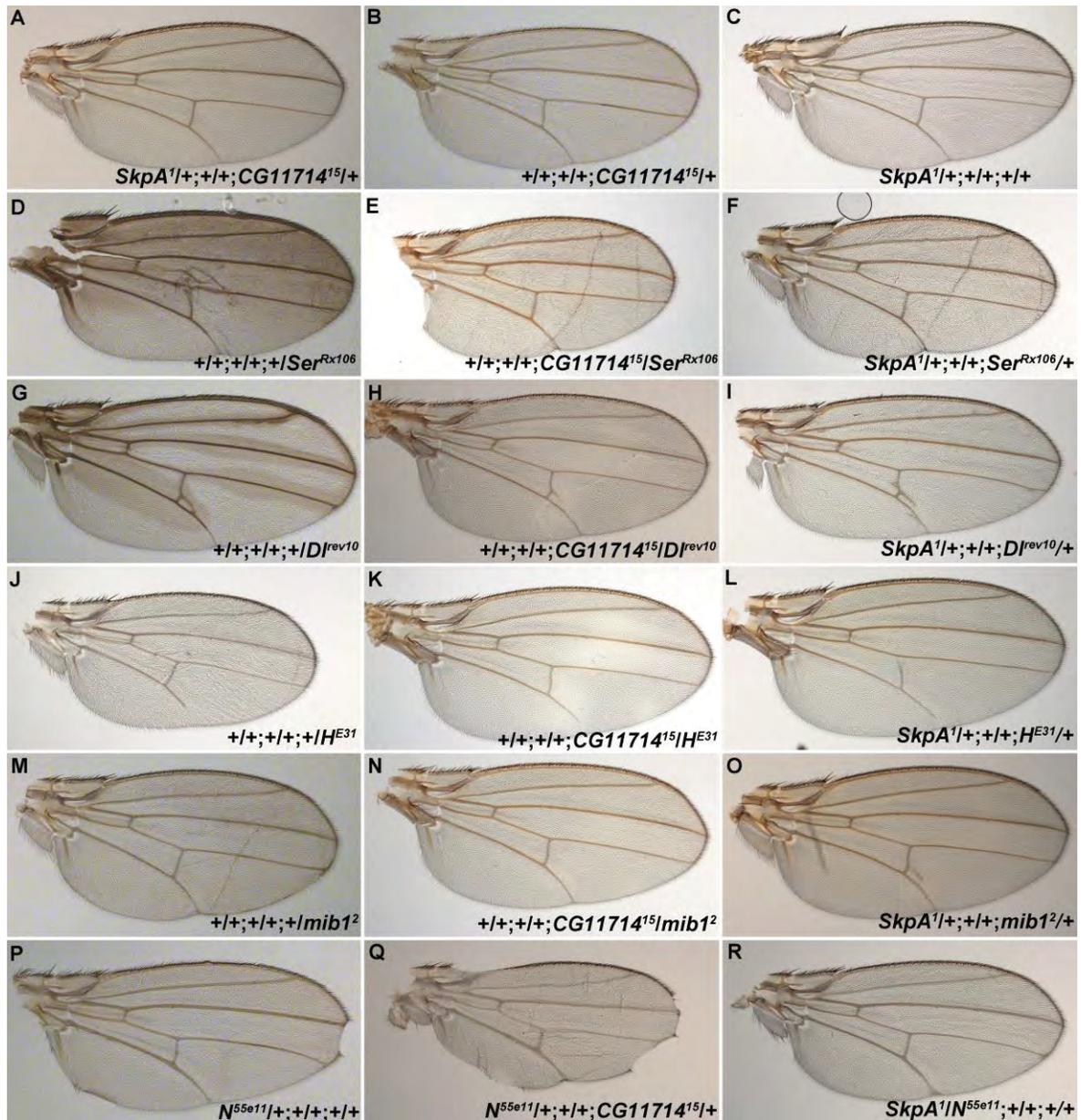


Abb. 3.25: genetische Interaktionsanalyse von *CG11714* und *SkpA* mit verschiedenen Notch-Komponenten in Heterozygose. (A) Heterozygose von *CG11714*¹⁵ und *SkpA*¹ zeigt das wildtypische Venenmuster. (B) *CG11714*¹⁵-heterozygot-mutanter Flügel zeigt ein wildtypisches Venenmuster (C) Der Verlust von einer Kopie *SkpA*¹ führt zu einem wildtypischen Flügelphänotyp. (D) Das Venenmuster eines *Ser*^{Rx106}/+ Flügels gleicht dem Wildtyp. Einige Flügel wirken kleiner beziehungsweise gestaucht. (E) Der Verlust einer Kopie von *CG11714*¹⁵ im *Ser*^{Rx106}/+ mutanten Hintergrund kommt es zu keiner Veränderung des Venenmusters. Einige Flügel wirken kleiner beziehungsweise gestaucht. (F) *SkpA*¹ und *Ser*^{Rx106} heterozygote Flügel gleichen dem Wildtyp. (G) Der Verlust einer Kopie von *Dl*^{rev10} führt zur Verbreiterung der Venen im distalen Bereich. Darüber hinaus ist zusätzliches Venengewebe an der posterioren Kreuzvene und gehäuft an L2 und L4 zu beobachten. Die dunklere Farbe des Flügels wird durch den zusätzlichen Verlust von *ebony* verursacht,

dass eine Rolle bei der Pigmenteinlagerung spielt. **(H)** Der zusätzliche Verlust einer Kopie von *CG11714¹⁵* im *Dl^{rev10}* heterozygot-mutanten Hintergrund führt ebenfalls zur Bildung von zusätzlichem Venengewebe. Allerdings ist keine Verbreiterung im distalen Venenbereich zu beobachten. **(I)** Der zusätzliche Verlust einer Kopie von *SkpA¹* im *Dl^{rev10}* heterozygot-mutanten Hintergrund führt ebenfalls zur Bildung von zusätzlichem Venengewebe an der posterioren Kreuzvene, sowie an L2, L4 und L5. Hier sind ebenfalls keine Deltas zu beobachten. **(J)** Der Verlust einer Kopie von *H^{E31}* führt zu einer Verkürzung der L5. **(K)** Der zusätzliche Verlust von *CG11714^{15/+}* führt zu keiner Veränderung des *H^{E31}*-heterozygot-mutanten Phänotyps. **(L)** *SkpA^{1/+}* führt neben dem *H^{E31}*-heterozygoten-Phänotypen zu einer leichten Reduktion der posterioren Kreuzvene. **(M)** Der Verlust einer Kopie von *mib1²* führt zu keiner phänotypischen Veränderung im Flügel. **(N)** *CG11714¹⁵*, *mib1²*-doppelheterozygote Flügel erscheinen wildtypisch. **(O)** Der Verlust von *SkpA^{1/+}* im *mib1²*-heterozygot-mutanten Hintergrund führt zu etwas zusätzlichem Venengewebe an der posterioren Kreuzvene. **(P)** Der Verlust von einer Kopie *N^{55el1}* führt zu Deltas im distalen Venenbereich. Bevorzugt an der L4 und L5. Darüber hinaus kommt es auch gelegentlich zu kleineren Einkerbungen im Flügelrand. **(Q)** Der zusätzliche Verlust von einer Kopie *CG11714¹⁵* im *N^{11e55}*-heterozygot-mutantem Hintergrund führt zu einer deutlichen Veränderung des Phänotyps. Es kommt zu sehr großen Einkerbungen im Flügelrand und darüber hinaus zu Verlust von Flügelgewebe im proximalen Bereich. **(R)** Im *SkpA^{1/N^{11e55}}*-mutantem Hintergrund kommt es zur Bildung von Deltas, aber nicht zu Einkerbungen im Flügelrand.

Der Verlust von einer Kopie von *Ser* zeigt einen wildtypischen Flügelphänotypen. Die dunklere Flügelfarbe entsteht durch die homozygote Situation von *ebony* auf dem Balancer Tm6b und dem Chromosom mit der mutanten Kopie von *Ser* (**Abb. 3.25D**). In der *CG11714*, *Ser*-heterozygot-doppelmutanten Situation kommt es zu keinerlei Veränderung des Venenmusters. Allerdings scheint der Flügel insgesamt etwas kleiner beziehungsweise gestaucht zu sein (**Abb. 3.25E**). Bei Verlust von *SkpA* und *Ser* in Heterozygose entspricht der Flügelphänotyp dem Wildtyp (**Abb. 3.25F**).

Bei gleichzeitigem Verlust von je einer Kopie *CG11714* und *Dl* kommt es zu einer geringen Menge an zusätzlichem Venengewebe entlang der posterioren Kreuzvene (**Abb. 3.25H**). Dies entspricht in Teilen dem *Dl*-heterozygot-mutantem Phänotypen. Der Verlust von *Dl/+* alleine zeigt allerdings zusätzlich eine Verbreiterung der Venen im distalen Bereich, sogenannten Deltas. Auch hier wird die dunklere Flügelfarbe durch die Homozygose von *ebony* ausgelöst (**Abb. 3.25G**). Die Menge an zusätzlichem Venengewebe ist bei zusätzlichem Verlust von *CG11714/+* minimal reduziert. Es kommt weiterhin zu zusätzlichem Venengewebe an der posterioren Kreuzvene. Der *Dl*-mutante Phänotyp ist nicht durch *CG11714*-Heterozygose beeinflusst (**Abb. 3.25H**). Der zusätzliche Verlust von einer Kopie *SkpA* im *Dl*-heterozygot-mutanten Hintergrund führt ebenfalls zu zusätzlichem Venengewebe entlang der posterioren Kreuzvene und darüber hinaus zu Unregelmäßigkeiten an der L2, L4 und L5 in der Nähe des Flügelrandes. Dies entspricht

dem *Dl*-heterozygoten Phänotyp. Dies deutet ebenfalls auf keine Abschwächung des *Dl*-Phänotyps hin (**Abb. 3.25I**). Zusammengefasst gibt es keine Hinweise auf eine genetische Interaktion zwischen *CG11714* oder *SkpA* und *Dl*.

H alleine sorgt bereits für eine Verkürzung der L5, sodass diese nicht mehr in Kontakt mit dem Flügelrand steht (**Abb. 3.25J**). Der zusätzliche Verlust von *CG11714* hat keinen Einfluss auf den *H*-mutanten Phänotyp (**Abb. 3.25K**). Beim Verlust von *SkpA* und *H* scheint darüber hinaus eine leichte Reduktion der posterioren Kreuzvene vorhanden zu sein (**Abb. 3.25L**). Auch dieser Phänotyp unterliegt einer leichten Varianz und kommt in 25 % der Fälle vor (**Abb. 3.25L**; **Abb. 3.26F+I+L**). Hier kommt es möglicherweise zu einer genetischen Interaktion von *SkpA* und *H*.

Der Verlust von je einer Kopie *mib1* und *CG11714* zeigt ebenfalls keine Veränderung gegenüber *mib1*-heterozygot-mutanten Flügeln oder wildtypischen Flügeln (**Abb. 3.25M+N**). Allerdings führt der zusätzliche heterozygote Verlust von *SkpA* im *mib1*-heterozygot-mutantem Hintergrund zu etwas zusätzlichem Venengewebe entlang der posterioren Kreuzvene. Dies kann einer geringen Varianz zugesprochen werden (**Abb. 3.25O**). Es findet keine genetische Interaktion zwischen *mib1* und *SkpA* statt.

Überraschenderweise zeigt ein Verlust von *CG11714* und *N* eine deutliche Phänotypveränderung. Bei *Notch* alleine kommt es in circa 50 % der Flügel zu kleineren Einkerbungen im Flügelrand und zur Verbreiterung der Venen im distalen Bereich (**Abb. 3.25P**, **Abb. 3.26A**). Dahingegen kommt es bei zusätzlichem Verlust von *CG11714* in einigen Fällen zu sehr großen Einkerbungen im Flügelrand (46,6 %). Dieser Phänotyp unterliegt einer leichten Varianz (**Abb. 3.25Q**, **Abb. 3.26D+G+J**). Die Einkerbungen befinden sich distal entlang der ehemaligen dorso-ventralen Grenze der Flügelimaginalscheibe. Darüber hinaus gibt es auch Verlust von Flügelgewebe im proximalen Randbereich, was auch in abgeschwächter Form in *N*-Heterozygose beobachtet werden kann (**Abb. 3.25P**, **Abb. 3.26A**). Diese starke Ausprägung der Phänotypveränderung ist nicht penetrant (**Abb. 3.25Q**, **Abb. 3.26D+G+J**). Dies deutet auf eine genetische Interaktion von *Notch* und *CG11714* hin. Im Gegensatz dazu führt der Verlust von *SkpA* im *N*-heterozygot-mutanten Hintergrund zu Verbreiterungen der Venen, sogenannten Deltas, im Bereich des Flügelrandes an L4 und L5. Diese sind aber auch in *N*-Heterozygose zu beobachten. Einkerbungen im Flügelrand konnten im Gegensatz zu *N/+* alleine in keinem Fall beobachtet werden (**Abb. 3.25R**; **Abb. 3.26E+H+K**). Dies deutet

ebenfalls auf eine genetische Interaktion hin. Während der Verlust von *CG11714* eher zu einer Reduktion des Notch-Signalweges zu führen scheint kommt es bei Verlust von *SkpA* zu einer Verstärkung der N-Aktivität. Dies deutet auf eine gegensätzliche Rolle von *CG11714* und *SkpA* im Notch-Signalweg hin. Möglicherweise haben *SkpA* und *CG11714* doch keine gemeinsame Funktion im SCF-Komplex.

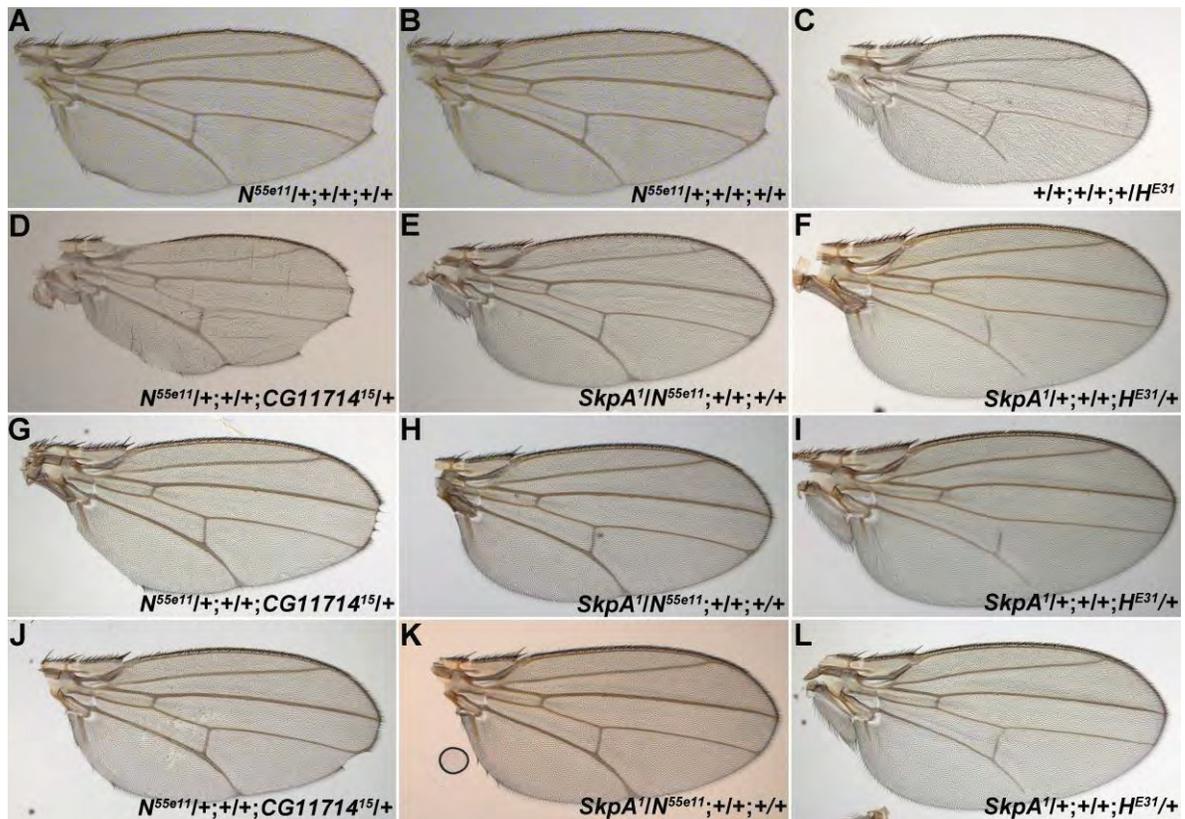


Abb. 3.26: Analyse des variable Phänotyps der *CG11714* und *N*-Heterozygose; sowie der *SkpA/N*- und *SkpA/H*-Heterozygose. (A) Heterozygose von *N^{55e11}*. (B) Heterozygose von *N^{55e11}*. (C) Heterozygose von *H^{E31}*. (D, G, J) Heterozygose von *N^{55e11}* und *CG11714¹⁵*. (E, H, K) Heterozygose von *N^{55e11}* und *SkpA¹*. (F, I, L) Heterozygose von *H^{E31}* und *SkpA¹*.

Die Analyse ergab eine mögliche genetische Interaktion von *SkpA* in Bezug auf *H*. Darüber hinaus konnte eine genetische Interaktion von sowohl *SkpA* als auch *CG11714* in Bezug auf *N* beobachtet werden. Während es in Bezug auf *SkpA/+* zu einer Verstärkung der Notch-Aktivität kommt deutet der zusätzlichem Verlust von *CG11714/+* auf eine Reduktion der N-Aktivität hin. Dementsprechend scheinen sowohl *CG11714* und *SkpA* einen Einfluss auf den Notch-Signalweg zu haben. Diese scheinen allerdings antagonistisch zu sein.

4 Diskussion

4.1 Analyse des Tumorsuppressorgens *lethal (2) giant discs* während der Oogenese von *Drosophila melanogaster*

In dieser Arbeit sollte eine weiterführende Analyse von *lgd* während der Oogenese durchgeführt werden. Zunächst sollte festgestellt werden, wie der Notch-Rezeptor in die Keimbahn gelangt. Darüber hinaus sollte aufgeklärt werden, wie es zur ektopischen Aktivierung des Dpp-Signalweges kommt und wie der Verlust von *lgd* eine zusätzliche Mitose auslösen kann. Hier werden die Ergebnisse zunächst betreffend den Notch-Signalweg und anschließend in Bezug auf den Dpp-Signalweg diskutiert.

4.1.1 Analyse der Transendozytose des Notch-Rezeptors durch seinen Liganden Delta in der Keimbahn

Der Verlust von *lgd* führt in der Flügelimaginalscheibe und im Follikelepithel zu einer ektopischen Aktivierung des Notch-Signalweges (Jaekel und Klein 2006; Morawa et al. 2015; Schneider und Markus Hubertus 2012). Dafür ist die fehlerhafte Degradation des N-Rezeptors über den endosomalen Transportweg verantwortlich (Schneider et al. 2013; Troost et al. 2012).

Innerhalb der Keimbahn konnte ebenfalls ein Degradationsdefekt des Protein-Traps N-YFP, sowie NECD in *lgd*-mutanten Zellen beobachtet werden (Schneider und Markus Hubertus 2012). Vorherige Experimente zeigten, dass der Notch-Signalweg keine Funktion in der Keimbahn ausübt. Allerdings signalisiert der Ligand Dl aus der Keimbahn in das Follikelepithel (López-Schier und St Johnston 2001).

In dieser Arbeit sollte aufgeklärt werden wie der Notch-Rezeptor in die Keimbahn gelangt. Eine Möglichkeit wäre, dass der N-Rezeptor in der Keimbahn synthetisiert wird. Eine andere Vermutung war, dass die extrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors durch Transendozytose mittels Dl in die Keimbahn gelangt.

Die klonale Analyse von *lgd*, *Dl*-doppelmutanten Keimbahnzellen zeigte keinerlei NECD-Akkumulation. Die Ergebnisse bestätigen somit die Vermutung, dass NECD lediglich durch Transendozytose in die Keimbahn gelangt. Darüber hinaus kommt es in Bezug auf den Notch-Signalweg neben der Akkumulation von NECD zu keinen Defekten innerhalb der Keimbahn. Diese Beobachtung gibt weitere Hinweise darauf, dass Notch keine Funktion innerhalb der Keimbahn ausübt.

4.1.2 Analyse des Reporterkonstrukts Tkv-YFP in wildtypischen und *lgd*-mutanten Follikel- und Keimbahnzellen

Es konnte bereits gezeigt werden, dass es bei Verlust von *lgd* zu einem Degradationsdefekt von diversen Transmembranproteinen sowohl im Follikelepithel als auch in der Keimbahn kommt (Jaekel und Klein 2006; Schneider und Markus Hubertus 2012). Von diesem Abbaufekt ist auch der Tkv-Rezeptor betroffen, wodurch es zu einer ektopischen Expression des Dpp-Zielgens *dad* kommt (Morawa et al. 2015; Masterarbeit Morawa 2012).

Für eine weiterführende Analyse wurde nun das Protein-Trap Tkv-YFP verwendet. Bei der klonalen Analyse liegt Tkv-YFP in Homozygose in den *lgd*-mutanten Zellen vor. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden als Kontrollen ausschließlich Tkv-YFP-homozygote Gewebe untersucht. Allerdings muss dieser Fakt bei der Bewertung des klonalen Nachbargewebes bedacht werden. Um dies zu umgehen könnte man Tkv-YFP mit His-RFP rekombinieren, sodass nach der Erzeugung von klonalem Gewebe in allen Zellen eine Kopie Tkv-YFP vorhanden ist.

In wildtypischen Follikelzellen zeigt Tkv-YFP eine gleichmäßige Verteilung an der Membran. Innerhalb der Keimbahn ist Tkv-YFP ebenfalls an der Membran lokalisiert. Darüber hinaus kommt es zu einer Akkumulation in der Oozyte ab Stadium 6.

In *lgd*-mutanten Follikel- und Keimbahnzellen konnte eine Akkumulation von Tkv-YFP-positiven Vesikeln bereits ab frühen Stadien beobachtet werden. In der Keimbahn nimmt der Akkumulationsdefekt mit zunehmendem Alter der Eikammern deutlich zu. Die Kolo-kalisation mit NECD und Rab7 bestätigt, dass die Akkumulation in späten Endosomen stattfindet. Dies entspricht dem Model, welches für *lgd* in Bezug auf Notch formuliert wurde (Schneider et al. 2013). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass bereits im Germarium ein Abbaufekt von Tkv in *lgd*-mutanten Zellen vorliegen könnte.

Interessanterweise ist die *dad*-Expression in den Keimbahnstammzellen am höchsten. In frühen Eikammern kommt es ebenfalls zu einer erneuten Hochregulation von *dad*, die allerdings maximal bis Stadium 4 aufrechterhalten wird. Der Akkumulationsdefekt in der Keimbahn wird währenddessen immer gravierender (Morawa 2012; Schneider und Markus Hubertus 2012). Es konnte gezeigt werden, dass der Ligand Dpp in den ISCs entlang des Germariums exprimiert ist und in späten Zysten (Xie und Spradling 2000; Wang et al. 2008). Kürzlich wurde ein Antikörper für Dpp generiert, der in der Flügelimaginalscheibe sehr spezifische Ergebnisse lieferte (Akiyama und Gibson 2015). Dieser sollte in Zukunft auch in der Keimbahn und dem Follikelepithel getestet werden,

um die Lokalisation von Dpp zu analysieren. Vermutlich ist die Reichweite des Dpp-Signalweges aufgrund der nicht abgebauten Tkv-Rezeptoren erhöht und ebbt aufgrund des fehlenden Liganden in den Eikammern nach Stadium 4 ab (Masterarbeit Morawa 2012; Dissertation Schneider 2012). Dies wäre ein Indiz für eine Liganden-Abhängigkeit.

4.1.3 Die Analyse des Verlustes von *lgd* und *shrub* in der Keimbahn

Die weiterführende Analyse von *lgd* in der Keimbahn sollte aufdecken wie es zur ektopischen Aktivierung des Dpp-Signalweges und zu einer zusätzlichen Mitose kommt.

In vorherigen Studien wurde bereits beobachtet, dass es in circa 15 % der *lgd*-mutanten Eikammern zu einer Verdopplung der Keimzellanzahl von 16 auf 32 kommt (Matias et al. 2015; Dissertation Schneider 2012). Zuvor konnte ausgeschlossen werden, dass es sich um einen Verpackungsdefekt handelt, da lediglich eine Oozyte in solch einer Eikammer beobachtet werden konnte (Morawa et al. 2015; Dissertation Schneider 2012). Die Beobachtung von fünf Ringkanäle an der Oozyte bestätigte, dass es sich um eine einzelne Zyste handelt (Matias et al. 2015). Somit lag die Vermutung nahe, dass der Verlust von *lgd* eine zusätzliche Mitose auslöst. Der Einfluss auf den Zellzyklus wurde mittels CycA analysiert.

Der Verlust von *lgd* führt in 14,3 % der Fälle zu einer ektopischen Expression von *cycA* in späten Zysten. Dieser Prozentsatz entspricht ziemlich genau der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen (14,7 %), die bei Verlust von *lgd* beobachtet wurden. Es konnte bereits gezeigt werden, dass hohe Konzentrationen von CycA eine zusätzliche Mitose auslösen und es zu Eikammern mit 32 Zellen kommt (Jagut et al. 2013; Chen et al. 2009). Dementsprechend kommt es durch die ektopische *cycA*-Expression in späten *lgd*-mutanten Zysten zu einer zusätzlichen Mitose. Es konnte bestätigt werden, dass der 32-Zell-Phänotyp in *lgd*-mutanten Eikammern definitiv Tkv-abhängig ist (Masterarbeit Morawa 2012). So scheint *lgd* über den Dpp-Signalweg einen Einfluss auf die *cycA*-Expression auszuüben und somit auf den Zellzyklus.

Um den Einfluss von *lgd* auf den Dpp-Signalweg zu untersuchen wurde das Reporter-Konstrukt *dad-lacZ* verwendet. Im Wildtyp wird *dad* lediglich in den Keimbahnstammzellen und teilweise in den frühen Zystoblasten angeschaltet, da die Reichweite des Dpp-Signalweges durch den Fu/Smurf-Komplex-vermittelten Abbau aktivierter Tkv-Rezeptoren begrenzt ist (Xia et al. 2010; Narbonne-Reveau et al. 2006). Damit beschränkt sich die Expression auf 2-3 Zellen im anterioren Bereich des

Germarium. Im Anschluss wird das Gen *bag of marbels (bam)* angeschaltet. Bam ist entscheidend an der Differenzierung der Keimbahnstammzellen zu Zystoblasten beteiligt. *dad* und *bam* werden im Germarium komplementär exprimiert. Die Expression von *bam* wird verhindert, indem die Transkriptionsfaktoren Mad/Medea an das *Silencer*-Element von *bam* binden. Mad und Medea sind Bestandteil der Smad-Kaskade, die vom Dpp-Signalweg angeschaltet wird. Durch den oben beschriebenen Mechanismus kann das Stammzellschicksal aufrechterhalten werden (Chen und McKearin 2003; Jiang et al. 2008; Song et al. 2004).

In früheren Experimenten konnte bereits gezeigt werden, dass *dad-lacZ* bei Verlust von *lgd* in frühen Eikammern ektopisch exprimiert ist (Masterabreit Morawa 2012; Dissertation Schneider 2012). Die näheren Analysen dieser Arbeit zeigten, dass es bereits zu zusätzlichen *dad*-positiven Zellen im Germarium kommt. Komplementär dazu ist die Expression von *Bam*-GFP im Germarium unterdrückt. Die Beobachtungen legen nahe, dass die Reichweite des Dpp-Signalweges erweitert ist und so das Stammzellschicksal in weiter entfernten Zellen erhalten bleibt. Um diese Annahme zu bestätigen wurde die Lokalisation von Spectrin untersucht.

Spectrin markiert das Spektrosom, welches spezifisch für Keimbahnstammzellen ist. Während der unvollständigen Teilung zur Zyste wird auch das Spektrosom unvollständig geteilt und bildet das sogenannte Fusom. Spektrosom und Fusom lassen sich morphologisch eindeutig unterscheiden.

Die Untersuchungen ergaben, dass sich in den *dad*-exprimierenden Zellen in der Regel Spektrosome nachweisen ließen und in den *Bam*-GFP exprimierenden Zysten Fusome. Dies trifft auch auf die ektopischen *dad*-positive Zellen bei Ausfall von *lgd* zu. Damit lässt sich zweifelsfrei bestätigen, dass es sich bei den *dad*-positiven Zellen um Stammzellen beziehungsweise Zellen mit Stammzellcharakter handelt.

Als nächstes sollte untersucht werden, wie es zu einer erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen in *lgd*-mutanten Germarien kommt. Die Degradation des aktivierten Tkv-Rezeptors durch den endosomalen Transportweg wird von einem Komplex vermittelt, der aus der E3-Ub-Ligase Smurf und der Phosphatase Fu besteht. Dadurch wird die Aktivität des Tkv-Rezeptors auf die Keimbahnstammzellnische beschränkt (Xia et al. 2010). Der Verlust von *fu* verhindert die Degradation von aktivierten Tkv-Molekülen in den Vorläufern der Keimbahnstammzellen. Dadurch wird die Reichweite des Dpp-Signalweges in den Keimbahnstammzellen zellautonom und Ligandenabhängig erhöht. Der Verlust der *fu*-Funktion verursacht ein breites Spektrum an

Phänotypen. Unter anderem kommt es zur Bildung von Eikammern mit 32 Zellen, wie bei *lgd* (Narbonne-Reveau et al. 2006).

In dieser Arbeit konnte bereits gezeigt werden, dass der Verlust der *lgd*-Funktion für die Erhöhung der Reichweite des Dpp-Signalweges im Germarium verantwortlich ist. Darüber hinaus konnte bereits ein Degradationsdefekt von Tkv in der Keimbahn nachgewiesen werden (Morawa et al. 2015; Masterarbeit Morawa 2012). Dieser Abbaudefekt schließt auch die aktivierte Form des Tkv-Rezeptors ein. Experimente mit dem *protein trap* Tkv-YFP ließen vermuten, dass mehr Tkv-YFP in *fu*⁺ Zellen akkumuliert. Für definitive Aussagen müsste allerdings die Fluoreszenzstärke quantifiziert werden.

Da *fu* spezifisch für die Markierung des aktivierten Tkv für den Abbau im endosomalen Transportweg verantwortlich ist, sollte ein zusätzlicher Ausfall von *fu* in *lgd*-mutanten Germarien den Defekt verstärken (Narbonne-Reveau et al. 2006; Xia et al. 2010). Deshalb wurde die genetische Interaktion zwischen *fu* und *lgd* analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass der Verlust von *fu*⁺ in *lgd*-mutanten Germarien zu einer erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen führt und es zu einer leichten Reduktion der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen kommt.

Da es sich bei ESCRT-III-Komponente Shrub um einen direkten Interaktionspartner von Lgd handelt sollte der Verlust von *shrub* ebenfalls in der Keimbahn untersucht werden (Troost et al. 2012). Allerdings konnten keine *shrub*-mutanten Keimbahnklone erzeugt werden, da dies zur Letalität der Klone führte (Dissertation Schneider 2012). Deshalb wurde *shrub* in Heterozygose analysiert.

In vorherigen Studien wurde bereits beobachtet, dass es in circa 30 % der *shrub* heterozygot-mutanten Eikammern zu einer Verdopplung der Keimzellanzahl von 16 auf 32 kommt (Matias et al. 2015; Eikenes et al. 2015; Schneider und Markus Hubertus 2012). Auch hier wurde bestätigt, dass es sich nicht um einen Verpackungsdefekt handelt (Matias et al. 2015). Die Entstehung von Eikammern mit 32 Zellen wurde durch eine unvollständige Cytokinese erklärt, die zu Zystoblasten mit zwei Zellen führt. Sobald diese die vier Mitosen durchlaufen entstehen 32 Zellen. Allerdings basieren die Vermutungen auf Kollokalisationsstudien mit Shrub-GFP (Matias et al. 2015; Eikenes et al. 2015). Es konnte bereits gezeigt werden, dass Shrub-GFP als dominant-negative Form agiert (Sweeney et al. 2006). In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass es in 41,6 % der Germarien zu einer ektopischen *cycA*-Expression in späten Zysten kommt. Da bereits gezeigt werden konnte, dass hohe Konzentrationen von CycA eine

zusätzliche Mitose auslösen und es zu Eikammern mit 32 Zellen kommt (Jagut et al. 2013; Chen et al. 2009) liegt die Vermutung nahe, dass der Grund für 32-Zellen in *shrub/+*-mutanten Eikammern eine zusätzlichen Mitose ausgelöst durch die ektopische *cycA*-Expression ist.

In *shrub/+*-mutanten Germarien konnten fast doppelt so *dad*-positive Zellen beobachtet werden wie im Wildtyp. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der zusätzliche Verlust von einer Kopie *tkv* den *shrub/+*-mutanten Phänotyp abschwächt. Damit wurde gezeigt, dass die zusätzlichen Keimbahnstammzellen im *shrub/+* Germarien durch den Dpp-Signalweg ausgelöst wurden. Darüber hinaus ergaben die Untersuchungen, dass sich in den *dad*-exprimierenden Zellen in der Regel Spektrosome nachweisen ließen und in den *Bam*-GFP exprimierenden Zysten Fusome. Dies trifft auch auf die ektopischen *dad*-positive Zellen bei Ausfall von *shrub/+* zu.

Es sollte ebenfalls die genetische Interaktion zwischen *fu* und *shrub* analysiert werden. Es kommt zu einer erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen und die Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen im *fu/+; shrub/+* Hintergrund ist ebenfalls deutlich erhöht. Dies deutet eine funktionelle Verbindung beider Gene an.

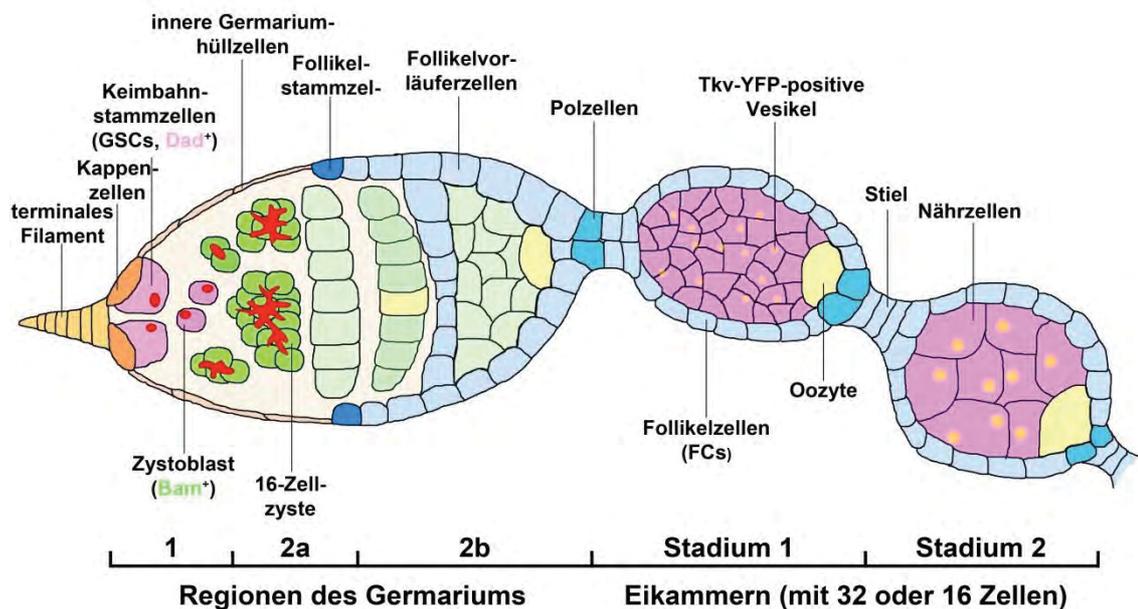


Abb. 4.1: Die *lgd*-mutante Keimbahn von *Drosophila melanogaster*. In *lgd*-mutanten Germarien kommt es zu zusätzlichen *dad*-exprimierenden Zellen. Diese Zellen sind mit Spektrosomen assoziiert und somit Keimbahnstammzellen oder Keimbahnstammzell-ähnliche Zellen. Die Expression von *bam* ist komplementär zur *dad*-Expression verzögert. Fusome sind dementsprechend erst im Bereich 2a in den sich teilenden Zysten zu beobachten. Zusätzlich kommt es in einem Teil der Germarien zu einer ektopischen Expression von *CycA* in späten Zysten. Darüber hinaus kommt es zu einer ektopischen Expression von *dad* in den frühen Eikammern bis Stadium 4 und zu Eikammern mit 32 Zellen. Eine Akkumulation des Rezeptors *Tkv* in reifenden Endosomen ist bereits in frühen Eikammern zu beobachten und wird mit zunehmendem Alter der Eikammern immer gravierender.

Sowohl durch den Verlust von *lgd* als auch *shrub* kommt es zu einer fehlerhaften Bildung von intraluminalen Vesikeln. Vermutlich bleibt eine Fraktion von aktivierten Tkv-Rezeptoren an der limitierenden Membran von reifenden Endosomen zurück. Darüber hinaus ist auch der Transport innerhalb der Zelle verzögert. Die intrazellulären Domänen der Tkv-Rezeptoren sind dadurch weiterhin in Kontakt mit dem Zytosol. In Konsequenz signalisieren aktivierte Tkv-Rezeptoren solange wie das Endosom existiert. Dadurch wird die Hypothese aufgestellt, dass es das aktivierte Tkv ist, das die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges auslöst. Diese Vermutung wird durch die Überexpression einer konstitutiv-aktiven Form von Tkv im Germarium bestätigt, da es dort ebenfalls zu ektopischen *dad*-positiven Zellen kommt, die mit Spektrosomen assoziiert sind, einer Unterdrückung von *bam* und Eikammern mit zusätzlichen Zellen (Casanueva und Ferguson 2004; Nellen et al. 1996; Neul und Ferguson 1998).

Bislang konnte zwischen *lgd* und *shrub* eine antagonistische Verbindung in Bezug auf die Anzahl der Eikammern mit 32 Zellen beobachtet werden (Morawa et al. 2015; Matias et al. 2015; Dissertation Schneider 2012). In Bezug auf die zusätzlichen *dad*-positiven Zellen war dies allerdings nicht der Fall. Allerdings wurden der Verlust von *lgd* in Homozygose und der Verlust von *shrub* in Heterozygose untersucht. Außerdem verstärkte der Verlust von *fu* die Anzahl von *dad*-positiven Zellen sowohl im *lgd* als auch im *shrub/+*-mutanten Hintergrund. Im Gegensatz dazu kam es in *fu/+;lgd*-mutanten Germarien zu einer leichten Reduktion und bei *fu/+;shrub/+*-mutanten Eikammern zu einer deutlichen Erhöhung der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen. Diese Ergebnisse deuten eine komplexere genetische Verbindung von *fu*, *shrub* und *lgd* an.

Ähnliches konnte in der Flügelimaginalscheibe beobachtet werden. Dort unterdrückt der zusätzliche Verlust vom *shrub* die ektopische Aktivierung des Notch-Signalweges ausgelöst durch den Verlust von *lgd*, verstärkt aber trotzdem den Vesikelphänotyp (Troost et al. 2012). Eine Möglichkeit ist, dass die Funktion des Endosoms ernsthafter gestört ist in der doppelmutanten Situation, als in den jeweiligen Einzelmutanten. So konnte zum Beispiel in Imaginalscheiben beobachtet werden, dass es im *shrub*, *lgd/lgd*-Hintergrund zu keinerlei Assoziation von Rab7 an späten Endosomen kommt. Dementsprechend werden die Endosomen nicht in der Lage sein mit dem Lysosom zu fusionieren. Da aber die Fusion mit dem Lysosom benötigt wird kommt es zu keiner ektopischen Notch-Aktivität, allerdings aber zu größeren Endosomen (Schneider et al.

2013). Im Gegensatz dazu ist die Fusion mit dem Lysosom zur Aktivierung des Dpp-Signalweges nicht notwendig.

4.1.4 Die Analyse des Verlust von *Dmon1* in *lgd*-mutanten Keimbahn- und Follikelzellen

Dmon1 ist eine Komponente des *ccz1/mon1*-Komplexes und vermittelt die Konversion von Rab5 zu Rab7 und lässt so das Endosom reifen (Yousefian et al. 2013). Bei Verlust der *Dmon1*-Funktion kommt es zu keiner Fusion mit dem Lysosom und es entstehen sehr große MVBs. Die Morphologie der MVBs ist dabei nicht beeinträchtigt (Yousefian et al. 2013).

Wie bereits zuvor diskutiert ist vermutlich das Zurückbleiben der aktivierten Form des Tkv-Rezeptors an der limitierenden Membran reifender Endosomen in *lgd*-mutanten Zellen verantwortlich für die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges. Dementsprechend sollte jede Verlängerung der Existenz des reifenden Endosoms zu einer Verstärkung der ektopischen Dpp-Aktivität führen. Dies ist genau das, was bei Ausfall von *Dmon1* im *lgd*-mutanten Hintergrund beobachtet wurde.

Bei Verlust von *Dmon1* kommt es zu einer erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen, die mit Spektrosomen markiert sind. Daraus lässt sich schließen, dass eine Fusion mit dem Lysosom nicht notwendig ist für die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges. Lediglich das Zurückbleiben der aktivierten Form des Tkv-Rezeptors an der limitierenden Membran von Endosomen reicht aus um eine erhöhte Reichweite des Dpp-Signalweges zuzulassen. Dies gibt den Hinweis, dass es sich hier um einen sehr sensitiven Prozess handelt und jegliche Abweichung vom Normalzustand bereits eine Erweiterung der Dpp-Reichweite bedingt.

Die Analyse von *lgd*, *Dmon1*-doppelmutanten Zellen zeigte eine teilweise Verstärkung des *lgd*-mutanten Phänotyps. In der Stammzellnische kommt es zu einer deutlich erhöhten Anzahl von *dad*-positiven Zellen. Die Bildung von Eikammern mit 32 Zellen ist nicht erhöht. Möglicherweise sorgt die längere Lebensdauer des MVB zwar für eine kurzzeitige Erhöhung der Anzahl von aktivierten Tkv-Rezeptoren, diese werden aber weiterhin durch den Fu/Smurf-Komplex und Shrub verpackt. Dadurch reicht die Verzögerung anscheinend aus um *dad* ektopisch anzuschalten. Zusätzliche Mitosen werden dadurch allerdings nicht vermehrt ausgelöst. Zumindest nicht in einem höheren Maße als es bei Verlust von *lgd* der Fall ist.

Interessanterweise konnte sowohl im Fall von *Dmon1* als auch von *Dmon1*, *lgd* im umliegenden heterozygoten Follikelepithel eine ektopische *dad*-Expression beobachtet

werden. Dies ist allerdings nur zu beobachten, wenn die jeweiligen Fliegen zuvor einem Hitzeschock bei 37 °C unterzogen wurden. Dies könnte auf eine Temperatursensitivität von Dmon1 hinweisen.

4.1.5 Die Reduktion des Liganden *Dpp* hat einen Einfluss auf den *shrub*-mutanten Phänotyp in der Keimbahn

Bislang konnten einige Hinweise auf eine Liganden-abhängige Aktivierung des Dpp-Signalweges in *shrub*/+-mutanten Germarien beobachtet werden. Es konnte bereits gezeigt werden, dass der verlängerte Kontakt von aktivierten Tkv-Rezeptoren mit dem Zytoplasma zu einer ektopischen *dad*-Expression und damit zu zusätzlichen Keimbahnstammzellen führt. Darüber hinaus kommt es zu einer zusätzlichen Mitose und Eikammern mit 32 Zellen in einer zell-autonomen Weise.

Um zu testen, ob dieser Phänotyp Liganden-abhängig ist wurden verschiedene *dpp*-Allele untersucht. Dabei zeigte sich, dass der Verlust einer Kopie von *dpp*^{d10} den *shrub*/+-Phänotyp in Bezug auf die Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen deutlich abschwächt, während der Verlust von *dpp*^{d12} für eine deutliche Verstärkung des Phänotyps sorgt. Obwohl beide Allele als Hypomorphe beschrieben sind zeigen sich gegensätzliche Phänotypveränderungen in Bezug auf *shrub*/+ (Spencer et al. 1982). Da beide Allele durch Phänotypen in der Flügelimaginalscheibe identifiziert wurden wäre es denkbar, dass eines dieser Allele keine Auswirkung in der Keimbahn hat. Außerdem könnte im Hintergrund eines dieser beiden Allele eine zusätzliche Mutation vorhanden sein, die den Phänotyp zusätzlich beeinflusst.

Nichtsdestotrotz wird der Phänotyp von *shrub*/+ deutlich durch den Verlust von *dpp* beeinflusst wird. Möglicherweise handelt es sich um eine Liganden-Abhängigkeit. Da vermutet wird, dass alle Defekte auf einen fehlerhaften Abbau von aktivierten Tkv-Rezeptoren zurückzuführen sind ist es denkbar, dass die Tkv-Rezeptoren zuvor aktiviert werden müssen. Das Fehlen des Liganden beziehungsweise das Vorhandensein eines überaktiven Liganden beeinflusst demnach die Anzahl der aktivierten Tkv-Rezeptoren und damit auch die Aktivität des Dpp-Signalweges und folglich die Ausprägung des Phänotyps.

Um den Einfluss von *dpp* aufzuklären sollten die genetischen Interaktionsexperimente im *shrub*-Hintergrund mit dem kürzlich beschriebenen konditionalen Nullallel *dpp*^{FO} wiederholt werden (Akiyama und Gibson 2015).

4.2 Ein Modifier-Screen um neue Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase Mind bomb 1 von *Drosophila* zu finden

Die Endozytose der Liganden D1 und Ser ist zwingend notwendig für die Aktivierung des Notch-Signalweges (Seugnet et al. 1997). Es konnte gezeigt werden, dass die E3-Ubiquitin-Ligase Mib1 dabei die Ubiquitinierung vermittelt, die als Signal für die Lqf-abhängige Endozytose dient. Die Ubiquitinierung findet an den intrazellulären Lysinresten der Liganden statt (Übersicht in Le Borgne et al. 2005a; Le Borgne 2006).

Der Ausgangspunkt dieser Arbeit war die Beobachtung, dass ein D1-Konstrukt, dem alle intrazellulären Lysine fehlen (D1_{K2R}), weiterhin in der Lage ist den Notch-Signalweg in einer Mib1-abhängigen Weise zu aktivieren (persönliche Kommunikation Kim, AG Klein). Allerdings konnte in späteren Experimenten mittels des sensitiven Reporterkonstrukts Gbe+Su(H)-lacZ gezeigt werden, dass es sich bei der vermeintlich Mib1-abhängigen Aktivierung um eine leichte Mib1-unabhängige Restaktivität von D1 handelt (Furriols und Bray 2001; persönliche Kommunikation Kim, AG Klein). Diese ist unabhängig von Ubiquitinierung (persönliche Kommunikation Kim, AG Klein). Nichtsdestotrotz sollte auf dieser Grundlage ein Modifier-Screen durchgeführt werden, um neue Interaktionspartner von Mib1 zu identifizieren.

4.2.1 Der Modifier-Screen

Der Flügel wurde als Testgewebe ausgewählt, da für das stereotype Venenmuster sehr viele verschiedene Signalwege und Prozesse eine Rolle spielen (Bier 2000; Garcia-Bellido und Celis 1992). Es ist zu beachten, dass mit der Venenentwicklung ein Notch-abhängiger Prozess betrachtet wird (Blair 2007). Dadurch werden vermutlich hauptsächlich Interaktionspartner von Mib1 aufgedeckt, die ebenfalls eine Notch-abhängige Funktion ausüben. Nichtsdestotrotz ist so die Chance erhöht möglichst viele neue Interaktionspartner von Mib1 zu finden.

Für die Durchführung des Modifier-Screens wurde ein Modifier-Stamm hergestellt, der *mib1* im Flügelfeld via *C5*-Gal überexprimiert. Im Modifier-Stamm kommt es zu einer Reduktion von Venengewebe der L3-L5 (**Abb. 3.14B**; Diplomarbeit Boxhammer 2012). Der sensitive Venenmusterphänotyp war geeignet für einen Modifier-Screen, da er eine hohe Penetranz bei gleichzeitig geringer Varianz zeigte (Diplomarbeit Boxhammer 2012).

Der Phänotyp ist sowohl abschwächbar als auch verstärkbar. Somit erfüllt der Versuchsaufbau alle erforderlichen Voraussetzungen für einen Modifier-Screen (St Johnston 2002). Die Kreuzung von bekannten Notch-Komponenten gegen den Modifier-Stamm konnte die genetische Interaktion zwischen diesen und die Funktionalität des Versuchsaufbaus bestätigen.

Um neue Interaktionspartner von Mib1 zu finden wurde der Modifier-Stamm gegen die 462 Stämme des *Bloomington Deficiency Kits* gekreuzt (Stand 25. Februar 2011). Diese Kollektion deckt nahezu das gesamte Genom von *Drosophila* ab. Alle Gene, die im zentralen Heterochromatin des 1., 2. und 3. Chromosoms liegen sind wahrscheinlich deletiert (Cook et al. 2012; Roote und Russell 2012; Bloomington). Lediglich 247 euchromatische Gene sind nicht deletiert (Roote und Russell 2012; Cook et al. 2012; Bloomington). Haploinsuffiziente sowie haplosterile Loci sind so nah wie möglich von Defizienzen flankiert oder, wenn möglich, von Deletionen eingeschlossen (Bloomington). In einigen Stämmen wurden Gene inseriert, ohne die die Defizienz nicht lebensfähig wäre. Aus diesem Grunde konnte zum Beispiel das Gen *N*, ein starker genetischer Interaktionspartner von Mib1, nicht durch den Modifier-Screen identifiziert werden (Koo et al. 2005; Le Borgne 2006). Daraus kann allerdings geschlossen werden, dass einige mögliche Interaktionspartner durch die Verwendung des *Bloomington Deficiency Kits* nicht identifiziert werden konnten (Cook et al. 2012; Roote und Russell 2012; Bloomington).

Ein weiterer Grund warum möglicherweise Gene im Screen nicht als Interaktionspartner von Mib1 identifiziert wurden ist, dass jeweils nur eine Kopie der Gene deletiert wurde. Dadurch wird die Gendosis zwar um 50 % gesenkt, aber möglicherweise reichen die übrigen 50 % aus um die Funktion in ausreichender Weise zu erfüllen und keine Veränderung des Modifier-Phänotyps auszulösen. Einige bekannte Komponenten des Notch-Signalweges wurden nicht identifiziert (**vgl. Tab. 3.1**).

Weiterhin könnte auch ein additiver Effekt zu falsch negativen Ergebnissen führen. Da in einer Defizienz mehrere Gene deletiert sind wäre es denkbar, dass sowohl positive als auch negative Regulatoren von Mib1 fehlen. Dadurch könnte sich die phänotypische Veränderung beider Gene ausgleichen beziehungsweise nur zu einer geringen Veränderung führen und somit im Screen ausscheiden. Anders herum betrachtet könnte aber auch der Verlust mehrerer Gene zu einem additiven Effekt führen und so erst eine Phänotypveränderung auslösen. Dort befänden sich keine Mib1-Interaktoren. Damit ließe

sich auch erklären, warum in einigen Defizienzen keine Gene als Mib1-Interaktoren identifiziert werden konnten (**Kap. 9.2, Abb. 9.1**).

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Möglichkeiten eines falsch-negativen Ergebnisses wäre auch eine falsch-positive Identifizierung denkbar. Allerdings konnte bereits mit den Tests der einzelnen, bereits bekannten Notch-Komponenten bestätigt werden, dass der Screen sehr sensitiv und spezifisch ist.

Während der Analyse der einzelnen Defizienzen und Kandidaten wurde deutlich, dass sehr viele Gene den Phänotyp mehr oder weniger stark verändern. Aus diesem Grund wurden strenge Kriterien entwickelt, um schlussendlich nur die Defizienzen und Kandidaten weiter zu untersuchen, die eine starke Interaktion versprechen. Die grundlegenden Kategorien wurden bereits von Frank Boxhammer in seiner Diplomarbeit festgelegt. Da er von den insgesamt 462 Stämmen des *Bloomington Deficiency Kit* lediglich 105 analysierte mussten die Parameter im Verlauf angepasst werden. So wurden neben den ursprünglichen Kategorien „Abschwächungsgrad 1“, „Abschwächungsgrad 2“ und „Abschwächungsgrad 3“ weitere Kategorie aufgenommen und definiert, wie „Reduziert“, „Unverändert“, „Letal“, „Knautsch“ und „Schmaler“.

Im weiteren Verlauf wurden dann die Defizienzen und Gene der Kategorien „Abschwächungsgrad 3“ und „Reduziert“ untersucht, da sie eindeutig den Phänotyp stark abschwächen oder verstärken und somit potenziell um starke Interaktoren handelt. Außerdem wurden Gene und Defizienzen der Kategorie „Letal“ weiter untersucht, weil Letalität auf eine starke genetische Interaktion hindeuten kann. Darüber hinaus wurden auch die Gene und Defizienzen der Kategorien „Knautsch“ und „Schmaler“ untersucht, da sie besondere Veränderungen des Phänotyps verursachten und somit potenziell interessante Interaktionspartner von Mib1 darstellen könnten. Interessanterweise führt eine Überexpression von N-LV mittels C5-Gal4 ebenfalls zu stark zerknautschten Flügeln (Saj et al. 2010; Masterarbeit Langenbach 2015). Somit könnte dieser Phänotyp auf eine verstärkte Notch-Aktivität hinweisen. Defizienzen, die den Modifier-Phänotyp gar nicht oder nur schwach beeinflussen wurden nicht weiter verfolgt, da die Kandidatengene der anderen Kategorien vielversprechender waren, obwohl sich auch hier mögliche Interaktionspartner versprechen. Das gleiche gilt für Kandidatengene, die sich dadurch als Interaktionspartner von Mib1 disqualifizierten. Dadurch konnten schlussendlich 131 Gene

als Kandidaten für neue Interaktionspartner von Mib1 identifiziert werden (**Tab. 3.1, Kap. 9.2, Abb. 9.1**).

Tab. 4.1: Vergleich der Kandidaten dieses Modifier-Screens mit den Kandidaten anderer Screens in Bezug auf den Notch-Signalweg oder die Venenbildung in *Drosophila*. Der Vergleich zeigt, dass die Screens selten die gleichen Kandidaten aufdeckten. Bei den gemeinsamen Kandidaten handelt es sich häufig um Kernkomponenten des Notch-Signalweges (**Kap. 9.3, Tab. 9.5**).

	Molnar et al. (2006)	Terriente-Félix et al. (2010)	Krupp et al. (2005)	Kwon et al. (2013)	Ibrahim et al. (2013)	Krejčí et al. (2009)	Cruz et al. (2009)	Tseng et al. (2014)	Sturgeon et al. (2015)
dieser Screen	10	1	1	3	2	3	5	6	4

Darüber hinaus wurden andere Screens, die in Bezug auf den Notch-Signalweg oder die Venenbildung im Flügel von *Drosophila* durchgeführt wurden, verglichen. Die Anzahl der identifizierten Kandidatengene variierte von unter 50 bis über 350, sodass die hier gefundene Anzahl von 131 durchaus realistisch erscheint (Krupp et al. 2005; Molnar et al. 2006; Ibrahim et al. 2013). Überraschenderweise zeigten die Screens im Vergleich zu diesem Screen nur wenig Überlappung der identifizierten Kandidaten (**Tab. 4.1**). Allerdings zeigten diese Screens auch untereinander wenig Überlappung. Dies ist vermutlich auf die unterschiedlichen Fragestellungen und Durchführungen zurückzuführen (Molnar et al. 2006; Terriente-Félix et al. 2010; Krupp et al. 2005; Kwon et al. 2013; Ibrahim et al. 2013; Krejčí et al. 2009; Cruz et al. 2009; Tseng et al. 2014; Sturgeon et al. 2016). Bei den überlappenden Kandidaten handelt es sich häufig um die Kernkomponenten des Notch-Signalweges (Molnar et al. 2006; Kwon et al. 2013; Krejčí et al. 2009; Cruz et al. 2009; Sturgeon et al. 2016; Tseng et al. 2014).

Durch *in silico* Analysen der auffälligen Defizienzen konnten bereits sehr zügig bekannte Komponenten des Notch-Signalweges Defizienzen zugeordnet werden. Die Kreuzung mutanter Allele der einzelnen Komponenten bestätigte den Verdacht. Die Phänotypveränderung des Modifier-Stamms verursacht durch die Defizienz entspricht in der Regel der des mutanten Allels, sodass eine eindeutige Zuordnung stattfinden konnte. Dies ist eine weitere Bestätigung, dass der Modifier-Screen sowohl auf Ebene der Defizienzen als auch auf Genebene sensitiv genug ist, um eindeutig potenzielle Interaktionspartner zu identifizieren.

Die Kandidatengene wurden schließlich mittels Allelen oder RNAi getestet. Für diesen Test ist der vollständige Verlust der Genfunktion natürlich am sinnvollsten. Allerdings ist sehr oft nicht bekannt, welche Qualität die verwendeten Stämme besitzen. Im Falle der RNAis wurden bevorzugt KK-Linien verwendet (VDRC). Es scheint nicht jede RNAi-Linie funktional zu sein, da nur ein gewisser Teil der mit Allelen identifizierten Gene mittels RNAi bestätigt werden konnten. Sofern eine Funktionalität der RNAi vorliegt ist der Funktionsverlust des entsprechenden Gens deutlich höher als bei Verlust einer Kopie dieses Gens. Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass einige RNAis auch ohne Überexpression von *mib1* eine Veränderung im Flügel zeigten. Insgesamt betrachtet führten mehr RNAi-Linien zu einer Knautschung der Flügel und zu Letalität als der heterozygote Verlust von Genen (**Tab. 3.1, Kap. 9.1.4, Tab 9.4**).

Für einige Kandidatengene waren weder Allele noch RNAis verfügbar. Dementsprechend konnten einige wenige Kandidaten nicht getestet werden. Dies könnte sich gegebenenfalls in Zukunft ändern, falls neue Stämme verfügbar werden. Darüber hinaus ist es denkbar, dass gewissen Sequenzbereichen bislang kein Gen zugeordnet werden konnte. Möglicherweise kommt es noch dazu, indem neue Proteindomänen identifiziert werden. Somit könnten den übrigen Defizienzen Gene zugeordnet werden, in denen bislang keine Gene identifiziert werden konnten.

Schluss endlich kann gesagt werden, dass der Modifer-Screen sehr sensitiv ist und so potenzielle Interaktionspartner von Mib1 im Notch-abhängigen Prozess der Venenbildung identifiziert werden konnten.

4.2.2 *in silico* Analyse der Interaktion und Funktion von potenziellen neuen Mind Bomb 1 Interaktionspartnern

Die insgesamt 131 neuen Interaktionspartner von Mib1 wurden anhand von Informationen aus Datenbank in Bezug auf ihre Funktion und Interaktion analysiert. Darüber hinaus konnten die Gene in funktionelle Gruppen eingeteilt werden: Signalweg (gelb), Transkriptionsfaktor (blau), Zellmaschinerie (rot), Ubiquitinierung und Transport (grün), Zelladhäsion (pink), Zytoskelett (lila), Metabolismus (hellgrün), Andere (rosa).

Die Kandidatengene, die in die Gruppe „Transkriptionsfaktor“, „Zellmaschinerie“ und „Zellmetabolismus“ fallen haben vermutlich einen indirekten Einfluss auf den Notch-

Signalweg. Möglicherweise ist durch den Ausfall dieser Gene die Funktion des Gal4/UAS-Systems gestört. Dadurch könnte der Modifier-Phänotyp unabhängig von *mib1* beeinflusst sein und so eine Veränderung des Phänotyps hervorrufen.

Allerdings konnte für einige der identifizierten Transkriptionsfaktoren bereits eine Verbindung zum Notch-Signalweg nachgewiesen werden. So soll Pan die Expression der Notch-Liganden verstärken (Lee und Frasch 2000). Slbo ist ebenfalls an der Regulation von Dl beteiligt und während der apikalen Konstriktion interagiert es gegenläufig mit Cut, einem Zielgen des Notch-Signalweges (Murphy et al. 1995; Levine et al. 2010). Die Histon-Acetyltransferase Nej hat eine Ko-Aktivatorfunktion in Bezug auf die Transkription. Es gibt eine direkte Verbindung zu H, aber auch weitere Notch-Komponenten wie Dl, dx und N werden reguliert. Btd hat ebenfalls einen indirekten Einfluss auf N und H (Yin et al. 1997). Für das Homolog des proto-Onkogen ETO Nvy ist ein verstärkender Einfluss von N und Dl durch genetische Interaktionen während der SOP-Determination gezeigt worden (Wildonger und Mann 2005). Da Nvy zusätzlich eine Rolle bei der Wegweisung von Axonen spielt wäre es möglich, dass der Notch-Signalweg ebenfalls in diesem Prozess involviert ist (Terman und Kolodkin 2004; FlyBase 1992). Eine inhibierende Wirkung soll Nvy dahingegen auf Sc haben (Wildonger und Mann 2005). Sc spielt eine Rolle bei der Notch-vermittelten lateralen Inhibition und der Determinierung der SOPs (sensory organ precursor cells). Es bildet einen Transkriptionsfaktorkomplex mit SisA und übt eine unterdrückenden Wirkung auf H aus (Schütt und Nöthiger 2000; Gladstein et al. 2010; Liu und Belote 1995; Cabrera et al. 1994; van Doren et al. 1991; Cabrera und Alonso 1991). Med hat einen regulatorischen Einfluss auf 45 % der im Screen identifizierten Gene. Dies beinhaltet neben allen Notch-Komponenten auch diverse Gene des Zytoskeletts und des endosomalen Transportweges (Weiss et al. 2010). Darüber hinaus haben Acf1 und CG8108 eine direkte inhibierende Wirkung auf die E2-Ub-Konjugasen Morgue, Eff und CG7220 (Ito et al. 1997; Ito et al. 1999). Diversen Proteinen mit transkriptioneller Aktivität, wie CG42726, Bteb2, CG11695, CG4880 und CG6470, konnten bislang keine Zielgene zugeordnet werden.

Einige der identifizieren Kandidatengene spielen eine Rolle bei der Translation („Zellmaschinerie“). Auch hier könnte die Bildung des Gal4 Proteins, das als Transkriptionsfaktor für UAS-*mib1* dient, gestört sein oder aber die Bildung des zusätzlichen Mib1-Proteins. Nichtsdestotrotz sind einige dieser Gene bereits in Kontakt mit

dem Notch-Signalweg gebracht worden. Rga, eine Komponente des CCR4-NOT-Komplexes hat eine übergeordnete regulatorische Funktion und soll die Expression von H, Morgue und Eff erhöhen (Temme et al. 2010). Das mRNA-Bindeprotein Imp inhibiert im Gegensatz dazu H und interagiert mit der SCF-Komponente SkpA (Herold et al. 2009; Nielsen et al. 2000).

Darüber hinaus konnten einige Kandidaten identifiziert werden, die an der Redox-Homeostase oder an der Regulierung des pH-Wertes beteiligt sind. Eines davon ist das Selenoprotein *SelG* (Castellano et al. 2001). Weitere Gene sind *CG34345*, *laccase2*, *CG33474* und *CG6136* (FlyBase Curators 2004). Es konnte gezeigt werden, dass *Curly*, ein Gen, das bereits seit Jahren als Flügelmarker genutzt wird, eine Funktion als Oxidase besitzt (Ward 1923; Hurd et al. 2015). Cy interagiert mit der Peroxidase Curly Su. Der Ausfall dieses Gens führt zu fehlerhafter Ausfaltung des Flügels, sodass dieser gelockt wirkt (Hurd et al. 2015). Möglicherweise spielen auch die hier entdeckten Gene eine Rolle bei diesem Prozess. Dadurch ließe sich möglicherweise die bei *SelG*, *CG6136* und *CG33474* ebenfalls beobachtete Knautschung der Flügel erklären.

Interessanterweise konnten auch vier Gene identifiziert werden, die an der Bildung der Kutikula beteiligt sind. Dabei handelt es sich um *CG4362*, *Cpr66a*, *TwilZ* und *dy*. Diese sind einige der wenigen Gene, die keine humanen Homologe besitzen (**Tab. 3.1**). Die Venen werden aus Zellen gebildet, die vermehrt die Kutikula absondern. Somit ist es nicht überraschend auch solche Gene in diesem Modifier-Screen zu finden.

Die Gene *Tim17b*, *SdhD*, *CG2118* und *CG10214* sind an der Energiegewinnung im Mitochondrium beteiligt (Garabedian et al. 2011; Chartier et al. 2015). *CG2118* soll darüber hinaus eine Biotin-Carboxylase-Aktivität besitzen (Garabedian et al. 2011; Sardiello et al. 2003). Biotin dient als Markierung zur Stabilisierung von Proteinen und wird auch in der molekularen Genetik benutzt, um Proteine für *in vitro* und *in vivo* Assays zu stabilisieren (Sardiello et al. 2003; Garabedian et al. 2011).

Außerdem konnten diverse Kanäle und Transmembrantransporter identifiziert werden. Dazu zählen der Chlorid-Kanal *Clic*, der spannungsabhängige Natrium-Kanal *para*, der organische Anionen-Transporter *Oatp26F*, der Potassium-Kanal *CG42732*, der Calcium-aktivierbare Chlorid-Kanal (Anoctamin) *Axs* und der Aminosäuren-Transmembrantransporter *CG1607* (Littler et al. 2008; Derst et al. 2006; Torrie et al. 2004;

Romero-Calderón et al. 2007). Da alle diese Proteine unterschiedliche Stoffe transportieren scheint es sich um die Regulation genereller homöostatischer Prozesse zu handeln.

All diese Kandidaten haben gemeinsam, dass sie vermutlich einen indirekten Einfluss auf die Regulation des Notch-Signalweges oder den Venenphänotyp des Modifier-Stamms ausüben. Obwohl einige Transkriptionsfaktoren bereit mit dem Notch-Signalweg in Kontakt gebracht wurden ist eine direkte Interaktion mit Mib1 eher unwahrscheinlich. Aus diesem Grund sind die oben erwähnten Kandidaten für weitere Analysen zweitrangig zu bewerten.

Mit Hilfe dieses Modifier-Screens konnten einige Kernkomponenten und bekannte Regulatoren des Notch-Signalweges identifiziert werden. Diese wurden hauptsächlich in die Gruppe „Signalweg“ einsortiert.

Es ist bekannt, dass Mib1 ein direkter Interaktionspartner der Notch-Liganden D1 und Ser ist (Itoh et al. 2003; Koo et al. 2005; Lai et al. 2005; Le Borgne et al. 2005b; Wang und Struhl 2005; Pitsouli und Delidakis 2005). Notch selbst wurde nicht im Screen identifiziert, da Notch in keiner der getesteten Defizienzen deletiert ist. Eine Kreuzung des Modifier-Stammes mit einem amorphen *Notch*-Allel konnte eine genetische Interaktion bestätigen (**Abb. 3.14C**, Diplomarbeit Boxhammer 2012). Es ist bekannt das Notch über die Liganden mit Mib1 in Kontakt steht (Seugnet et al. 1997). Darüber hinaus konnten auch weitere Kernkomponenten des Notch-Signalweges wie *kuz*, *aph-1*, *H* und die E3-Ub-Ligase *dx* identifiziert werden. Die zuletzt erwähnten Kandidaten spielen eine Rolle in der signalempfangenden Zelle, wodurch sie indirekt über Notch beziehungsweise die Notch-Liganden mit Mib1 interagieren (Pan und Rubin 1997; Matsuno et al. 1995; Bang und Posakony 1992).

Im Rahmen einer Masterarbeit unter meiner Betreuung wurde ein weiterer Modifier-Screen durchgeführt bei dem der Notch-Rezeptor mittels *C5-Gal4* überexprimiert wurde (Masterarbeit Langenbach 2015). Dazu wurde N-LV, ein Teil eines Reportersystems, verwendet (Saj et al. 2010). Dort wurde ebenfalls die Notch-abhängige Flügelvenenentwicklung von *Drosophila* betrachtet. Es wurden ausschließlich die 101 Defizienzen verwendet, die bereits in diesem Screen auffällig waren (Kategorien: Abschwächungsgrad 3, Reduziert, Letal, Knautsch, Schmalter). Damit sollten Interaktionspartner des Notch-Signalweges in der Signal-empfangenden Zelle identifiziert

werden. Überraschenderweise lösten nur 12 dieser Defizienzen eine starke Modifikation aus. Kernkomponenten des Notch-Signalweges aus der Signal-sendenden Zelle, wie *Dl* oder *mib1*, beeinflussten den Phänotypen nicht. Allerdings führte die Defizienz, die *dx* enthält ebenfalls zur Letalität. Darüber hinaus wurden die Defizienzen identifiziert, die die Transkriptionsfaktoren *pan*, *CG8108*, *sc* und die Mikro-RNA *mir-184* beinhalten (Masterarbeit Langenbach 2015). Möglicherweise sind diese an der Regulation des Notch-Rezeptors beteiligt. Zusätzlich wurde sowohl die Defizienz, die CG15296 beinhaltet, über die kaum etwas bekannt ist, als auch eine Defizienz, der noch kein Gen zugeordnet wurde, identifiziert (Masterarbeit Langenbach 2015). Dies bestätigt, dass diese Defizienzen mögliche Interaktionspartner des Notch-Signalweges beinhalten. Darüber hinaus zeigt sich dadurch, dass mit dem in dieser Arbeit durchgeführten Screen nicht nur neue Interaktionspartner von Mib1 finden lassen, sondern auch indirekte Regulatoren des Notch-Signalweges. Allerdings ist auch nicht mit Sicherheit zu sagen, ob die in diesem Screen identifizierten Kandidaten auch im Notch-Screen die Phänotypveränderung auslösen. Möglicherweise liegen innerhalb der Defizienzen Gene die potenziell mit Notch, aber nicht mit Mib1 interagieren. Interessanter sind für diese Arbeit allerdings die Gene beziehungsweise Prozesse, die in der signalsendenden Zelle mit dem Notch-Signalweg in Kontakt stehen.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Nukleosid-Diphosphat-Kinase *awd* direkt mit Mikrotubuli interagiert und eine Rolle bei der Regulierung von Notch über den endosomalen Transportweg spielt (Biggs et al. 1990; Lascu et al. 1992; Ignesti et al. 2014). Ein Verlust von *awd* führt zu vergrößerten Notch-positiven Vesikeln (Ignesti et al. 2014). CG12909, ein Interaktionspartner von Awd, wurde in einem *gain-of-function* Screen identifiziert, bei dem es um die Venenbildung ging (Molnar et al. 2006). Möglicherweise spielen CG12909 und Awd eine Rolle bei der Notch-abhängigen Venenbildung im Flügel von *Drosophila*.

Außerdem wurde in diesem Modifier-Screen *sno* identifiziert. Dabei handelt es sich um eine konserviertes nukleäres Protein, das genetisch mit Notch interagiert. Es wirkt in der Kaskade unterhalb von Notch und reguliert die Genexpression entlang des sich entwickelnden Flügelrandes (Majumdar et al. 1997; Coyle-Thompson und Banerjee 1993). Im Modifier-Hintergrund führt der Verlust von *sno* zu einer Reduktion der Notch-Aktivität. Ein Defekt entlang des Flügelrandes wurde nicht beobachtet (**Kap. 9.2; Abb. 9.1**).

Darüber hinaus ist bekannt, dass der Notch-Signalweg eine Rolle bei der angeborenen Immunantwort spielt (zusammengefasst in (Übersicht in Radtke et al. 2013; Übersicht in Williams 2007). So ist es nicht verwunderlich, dass auch die Sdk und Lea (Robo2), sowie der Peptidoglykan-Rezeptor PGRP-SA aus der Gruppe der Immunoglobuline im Screen aufgetaucht sind (Gobert et al. 2003). Bei Experimenten in Hühner konnte bereits ein Zusammenhang zwischen Lea und der Immunantwort hergestellt werden (Wang et al. 2014). Darüber hinaus ist PGRP-SA an der Aktivierung des Toll-Signalweges in *Drosophila* beteiligt, der der Abwehr von pathogenen dient (Michel et al. 2001; Werner et al. 2000; Gottar et al. 2002).

Außerdem konnte bereits eine Verbindung zwischen dem Notch-Signalweg und dem Insulin-Signalweg über Fringe in der Keimbahnstammzellnische von *Drosophila* hergestellt werden (Yang et al. 2013). Interessanterweise konnten die beiden Liganden Ilp4 und Ilp7 im Screen identifiziert werden, die ebenfalls direkt mit InR interagieren (Brogiolo et al. 2001). InR wurde selbst nicht im Modifier-Screen identifiziert. Da Fringe ebenfalls im Flügel eine Rolle spielt kommt es möglicherweise auch dort zu einer Interaktion beider Signalwege (Troost et al. 2012; Klein und Arias 1998; Fleming et al. 1997)

Die hier untersuchte Venenbildung basiert auf einer *Egfr*-abhängigen Expression von *Dl*, wodurch mittels lateraler Inhibition zwischen Venen- und Zwischenvenengewebe unterschieden wird (**Kap. 1.3**; Sturtevant et al. 1993; Urban et al. 2002; Blair 2007; Bier 2000). Dementsprechend ist es nicht verwunderlich, dass die Komponenten des EGFR-Signalweges *rho-4* und *vn* identifiziert wurden (Urban et al. 2002; Baker und Urban 2015; Schnepf et al. 1996; FlyBase).

Teilweise konnten bereits Kandidaten der Gruppe „Ubiquitinierung und Transport“ mit dem Notch-Signalweg in Verbindung gebracht werden. Es ist bekannt, dass die Endozytose der Liganden zwingend notwendig für die Aktivierung des Notch-Signalweges ist (Seugnet et al. 1997). Mib1 ist mittels Ubiquitinierung essentiell daran beteiligt (Daskalaki et al. 2011). Ein Gen, das im Screen identifiziert wurde und an der Endozytose beteiligt ist ist das Epsin-Homolog *lqf*. Für die Aktivierung des Notch-Signalweges ist die *lqf*-abhängige Endozytose der ubiquitinierten Notch-Liganden notwendig (Wang und Struhl 2004; Overstreet et al. 2004; Masterarbeit Langenbach 2015; persönliche Kommunikation Kim, AG Klein).

Ein wichtiger Prozess bei der Regulation des Notch-Signalweges ist der Abbau über den endosomalen Transportweg (Jaekel und Klein 2006; Troost et al. 2012). Dabei spielt besonders die korrekte Bildung von intraluminalen Vesikeln eine Rolle. Die ESCRT-Komponenten Shrub, Vps20 und Vps4 sind an diesem Prozess maßgeblich beteiligt. Lgd, ein direkter Interaktionspartner von Shrub, wurde ebenfalls in diesem Screen identifiziert. Es konnte bereits gezeigt werden, dass der Verlust von *shrub* und *lgd* zu einer ektoptischen Aktivierung des Notch-Signalweges im Flügel führt (Troost et al. 2012; Jaekel und Klein 2006). Dementsprechend wäre eine Verstärkung des Modifier-Phänotyps zu erwarten. Überraschender Weise zeigen sowohl *shrub*, *vps20* als auch *lgd* eine Abschwächung des Modifier-Phänotyps. Lediglich die Expression von Vps4-RNAi führt zu einer Knautschung des Flügels und damit möglicherweise zu einer erhöhten Aktivität von Notch.

All diese Kandidaten konnten bereits eindeutig mit dem Notch-Signalweg in Kontakt gebracht werden. Dadurch lässt sich die Effektivität des Versuchsaufbaus erneut bestätigen. Aufgrund der bereits bekannten Datenlage wären weitere Versuche mit diese Kandidaten eher zweitrangig anzusehen.

Obwohl bereits Kandidaten der Gruppe „Ubiquitinierung und Transport“ mit dem Notch-Signalweg in Verbindung gebracht wurden, konnten noch weitere Kandidaten identifiziert werden, die bei diesen Prozessen eine Rolle spielen und noch nicht in Kontakt mit Mib1 oder dem Notch-Signalweg stehen. So konnten einige Gene identifiziert werden, die an der Ubiquitinierungskaskade beteiligt sind.

Das Gen *CG2701* besitzt ein UBA-ähnliches Motiv. Es wird seit langem spekuliert, dass es neben Uba1 noch ein weiteres E1-Ub-aktivierendes Enzym geben soll (Übersicht in Schulman und Harper 2009). Möglicherweise wäre *CG2701* solch ein Kandidat.

In diesem Modifier-Screen wurden einige E2-Ub-Konjugasen identifiziert. Ein RNAi-Screen konnte für einige von ihnen bereits Hinweise auf eine genetische Interaktion mit dem Notch-Signalweg liefern (Bachelorarbeit Alpert 2012). Ubc-E2H sorgt für die Polyubiquitinierung von Proteinen. Humane Experimente legen eine Interaktion mit Neur nahe. Neur spielt ebenfalls im Notch-Signalweg in den SOPs eine Rolle und kann die Funktion von Mib1 in Bezug auf die Aktivierung des Notch-Signalweges innerhalb der Flügelimaginalscheibe übernehmen (Le Borgne et al. 2005b; Curators 2008). *CG7220* vermittelt im Gegensatz dazu Monoubiquitinierung. Ein RNAi-Screen zeigte, dass die

posteriore Expression im Flügel zu Kerben im Flügelrand führte (Bachelorarbeit Alpert 2012). Dies deutet auf einen Verlust der Notch-Aktivität hin, da der Verlust von Notch ebenfalls zu Kerben im Flügelrand führt (Lindsley und Zimm 1990; Celis und García-Bellido 1994; Morgan and Bridges, 1916). Für Eff wurde eine genetische Interaktion mit Mib1 und Neur nachgewiesen (Lai et al. 2001; Masterarbeit Schnute 2013). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Eff an diversen Prozessen wie Mitose und Neurogenese beteiligt ist (Lai et al. 2001; Cadavid et al. 2000; Cenci et al. 1997; Neumüller et al. 2011). Darüber hinaus legen humane Daten eine Interaktion mit Mib1 nahe (DroID). Durch diesen Modifier-Screen konnte bereits gezeigt werden, dass Mib1 und Eff genetisch interagieren (Diplomarbeit Boxhammer 2012). Darüber hinaus konnte mittels eines sensitiven Notch-Reporters ein Einfluss auf den Notch-Signalweg im Notum von *Drosophila* nachgewiesen werden (Masterarbeit Schnute 2013). Ein Einfluss auf den Notch-Signalweg konnte ebenfalls mittels eines RNAi-Screens nachgewiesen werden (Bachelorarbeit Alpert 2012). Die E2-Ub-Ligase Morgue ist eine Komponente des SCF-Komplexes und spielt zusammen mit der Kernkomponente dieses Komplexes, SkpA, eine entscheidende Rolle beim Abbau von Proteinen über das Proteosom (Wing et al. 2002; Zhou et al. 2013). CG11714 könnte anhand seiner BTB/POZ-Domäne ebenfalls an diesem Komplex beteiligt sein (FlyBase). Zwischen Rngo und Morgue besteht eine direkte Verbindung zum Proteosom (Morawe et al. 2011; Ou et al. 2003). Der Abbau von aktiven Rezeptoren ist sehr wichtig für die Regulation von Signalwegen. Dementsprechend wäre es denkbar, dass die intrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors mittels des SCF-Komplexes über das Proteosom abgebaut wird. Denkbar ist auch, dass Mib1 selbst am SCF-Komplex beteiligt ist. Allerdings ist bei Verlust von *mib1*, *SkpA* und *CG11714* jeweils eine Abschwächung des Phänotyps (AG3) im Modifier-Hintergrund zu beobachten. Dementsprechend ist es wahrscheinlicher, dass negative Regulatoren des Notch-Signalweges, wie *H*, über den SCF-Komplex abgebaut werden.

Zusätzlich konnten humane Daten bereits zeigen, dass die Histon-Acetyltransferase Nej in Verbindung mit diversen E2-Ligasen, wie Lwr, Eff, Morgue und Dx steht (DroID, InterlogFinder; **Kap. 3.2.5; Kap. 9.4**). Darüber hinaus konnte in *Drosophila* eine Rolle bei der Freisetzung von Neurotransmittern festgestellt werden (Marek et al. 2000). Kürzlich konnte auch eine Verbindung der alpha1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase-1 (alpha4GT1) zur Aktivität der Notch-Liganden über die Mib1-Aktivität hergestellt werden

(Hamel et al. 2010). Möglicherweise könnte Nej als epigenetischer Faktor der Regulation des Notch-Signalweges und verwandter Prozesse dienen. Zusätzlich konnte bereits ein regulatorischer Einfluss auf den N-, Egfr- und Dpp-Signalweg beobachtet werden, die ebenfalls maßgeblich an der Bildung des Flügels beteiligt ist (Mueller et al. 2005; Ludlam et al. 2002; Hung et al. 2007; Anderson et al. 2005; Waltzer und Bienz 1998; Chen et al. 2000).

Neben Mib1 und Dx, die definitiv eine Rolle im Notch-Signalweg spielen, konnte lediglich Mib2 als weitere E3-Ub-Ligase identifiziert werden (Koo et al. 2005; Curators 2008). Bisher ist bekannt, dass Mib2 eine Rolle in der frühen Muskelentwicklung im Embryo spielt (Nguyen et al. 2007; Carrasco-Rando und Ruiz-Gómez 2008). In Zebrafisch konnte gezeigt werden, dass Mib2 ebenfalls an der Ubiquitinierung und Endozytose von D1 beteiligt ist und so den Notch-Signalweg reguliert (Koo et al. 2005). Allerdings erbrachten Untersuchungen in der Flügelimaginalscheibe keine Hinweise auf eine dortige Funktion (Bachelorarbeit Lyga 2013). Mib2 schwächt aber im adulten Flügel den Modifier-Phänotypen stark ab. Dadurch liegt die Vermutung nahe, dass Mib2 vielleicht doch eine Rolle im pupalen Flügel spielen könnte (Carrasco-Rando und Ruiz-Gómez 2008; FlyBase Curators 2004). Möglicherweise hat Mib2 auch eine gewisse Redundanz mit Mib1, sodass der Verlust von *mib2* nur Auswirkungen hat, wenn die Funktion von *mib1* ebenfalls gestört ist.

Darüber hinaus konnten zwei Komponenten des Coat-Protein-Komplexes, γ COP und β 'COP, identifiziert werden. Dieser Komplex dient dem retrograden Vesikeltransport vom Golgi Apparat zum ER (Merdes 1998; Stuart et al. 2007). Es konnte bereits gezeigt werden, dass die O-Fucosylierung von Notch im ER geschieht und daran beteiligte Komponenten retrograd innerhalb der Zelle transportiert werden (Luo und Haltiwanger 2005).

Interessanterweise konnten diverse Gene identifiziert werden, die an der Freisetzung synaptischer Vesikel beteiligt sind. Dabei handelt es sich um die Phospholipid-Scramblase *scrambl1* und die Calcium-abhängige Guanylat-Cyclase *Frq1* (Acharya et al. 2006). Ein Y2H-Screen legt darüber hinaus eine Verbindung zu Dx nahe (Pongs et al. 1993). Die Endopeptidase CG6048 prozessiert das Vesikel-assoziierten Membranprotein Vap-33A, welches wiederum mit Vamp in Verbindung steht (Deivasigamani et al. 2014). CG6048 wird von der Mikro-RNA Mir-184 reguliert (Abe et al. 2014). Darüber hinaus konnte

gezeigt werden, dass CG1909 an der Plasmamembran lokalisiert ist und dort Acetylcholin-Rezeptoren bindet (Curators 2008; FlyBase 1992). Experimente aus *C. elegans* legen eine Interaktion mit N nahe (FlyBase 1992; Curators 2008).

Kürzlich wurde gezeigt, dass Mib1 die Lokalisation von Glutamat-Rezeptoren an den Synapsen von *Drosophila* reguliert (Sturgeon et al. 2016). Der Verlust von *mib1* führt zu einer signifikanten Reduktion von Vesikel-assoziierten Proteinen und der Frequenz der spontanen Neurotransmission, während die Überexpression zu einer synaptischen Erhöhung des Glutamin-Rezeptors IIA in allen Geweben führt (Sturgeon et al. 2016). Dementsprechend führt auch die Überexpression von *mib1* im Modifier-Phänotyp bereits zu einer Erhöhung des Glutamin-Rezeptor IIA. Der Ausfall der oben erwähnten Gene könnte dementsprechend in diesem sensitiveren Hintergrund eine besonders starke Beeinflussung des Modifier-Phänotyps auslösen. Dies wäre ebenfalls ein indirekter Einfluss.

Bislang konnte lediglich eine besondere Rolle der Endozytose auf den Notch-Signalweg beobachtet werden (Seugnet et al. 1997). Obwohl die Exozytose der umgekehrte Prozess zur Endozytose ist wäre es möglich, dass Mib1 auch eine Rolle bei der Freisetzung synaptischer Vesikel spielt.

Darüber hinaus konnten mit Hilfe dieses Modifier-Screens auffällig viele Gene identifiziert werden, die in die Gruppe „Zytoskelett“ fallen. Das Zytoskelett besteht unter anderem aus Aktin und Mikrotubuli. Act88F gehört selbst zur Familie der Aktine. Es ist entscheidend an der Organisation des Zytoskeletts beteiligt und interagiert direkt mit dem Egfr-Rezeptor und der E3-Ub-Ligase Neur (Goldstein und Gunawardena 2000). Darüber hinaus ist eine Interaktion mit Awd durch Experimente in der Hefe vorhergesagt (DroID). Sn ist für die Bündelung von Aktinmolekülen zuständig (Cooley et al. 1996; Zanet et al. 2012; Guild et al. 2005; Tilney et al. 2003). Ihm wird eine Rolle bei der Bewegung von cytoplasmatischen Komponenten zugesprochen (Zanet et al. 2009; Buszczak und Cooley 2000). CG1890 hat ein Tubulin-bindendes Co-Faktor A-Motiv und spielt bei der Assemblierung des Tubulin-Komplexes eine Rolle (FlyBase 1992). Feo ist ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein und spielt neben der Spindelorganisation bei der Entwicklung von Epithelien, wie dem Flügel, eine Rolle (Verni et al. 2004; Berns et al. 2014).

Interessanterweise konnte auch einige Gene bestätigt werden, die eine Rolle bei der Zellteilung spielen. Für $eIF-2\alpha$, *mei-41*, *Axs* und *lwr* konnte eine Rolle bei der Bildung und

Funktion des Spindelapparates gezeigt werden (Apionishev et al. 2001; Kiger et al. 2003; Song et al. 2004; Laurençon et al. 2003; Walworth 2000). Dementsprechend handelt es sich hier ebenfalls um Proteine des Zytoskeletts. Darüber hinaus gehört Lwr zur Familie der E2-Ub-Konjugasen und vermittelt Sumolierung (Bhaskar et al. 2000). Für Shrub konnte ebenfalls ein Einfluss auf die Zellteilung bestätigt werden (Eikenes et al. 2015; Matias et al. 2015; Morawa et al. 2015). eIF-2 α hat sowohl Einfluss auf SkpA, als auch auf COP-Proteine (Goshima et al. 2007). Für den Notch-Signalweg könnte bereits ein Einfluss auf die Zellteilung im Auge und Flügel nachgewiesen werden (Rafel und Milán 2008; Herranz et al. 2008).

Insgesamt kann hier eindeutig eine große Menge der identifizierten Gene des Screens in Kontakt mit dem Zytoskelett und der Spindelorganisation gebracht werden. Möglicherweise ist dadurch ein so fundamentaler Prozess in der Zelle gestört, so dass es zur Veränderung des Modifier-Phänotypen kommt. Allerdings scheint dies sehr spezifisch zu sein und es ist denkbar, dass Mib1 hier eine Rolle spielt. Es wäre vorstellbar, dass die Komponenten des Notch-Signalweges durch das Zytoskelett zu spezifischen Stellen innerhalb der Zelle transportiert werden, um dort ihre Funktion auszuüben.

Darüber hinaus konnten auch einige Proteine identifiziert werden, die an der Zelladhäsion beteiligt sind. Dazu zählen die Netrine NetA und NetB. Sie stehen in Kontakt mit extrazellulären Matrix und spielen dort eine Rolle bei der Wegweisung von Axonen (Labrador et al. 2005; Übersicht in Hynes und Zhao 2000). Das Annexin AnxB11 verbindet das Zytoskelett mit der Membran, indem es gleichzeitig an Aktin und an Phospholipide bindet (FlyBase). Auch das Integrin Itg α PS5 ist an der Bindung von Membran und Matrix beteiligt (Hynes und Zhao 2000). Es konnte bereits gezeigt werden, dass der Notch-Signalweg durch die Aktivierung von Integrinen reguliert wird (Blobel 1997; Campos et al. 2006). Somit konnte der extrazellulären Matrix eine direkte Funktion bei der Regulierung des Notch-Signalweges zugesprochen werden. Darüber hinaus befindet sich *kuz* innerhalb der extrazellulären Matrix und vermittelt dort den S2-Schnitt (Pan und Rubin 1997).

Die Kandidaten der Gruppen „Ubiquitinierung und Transport“, „Zytoskelett“ und „Zelladhäsion“ sind demnach besonders interessant, da hier lediglich rudimentäre Verbindungen zum Notch-Signalweg bekannt sind. Weitere Analysen dieser Kandidaten scheinen sehr vielversprechend.

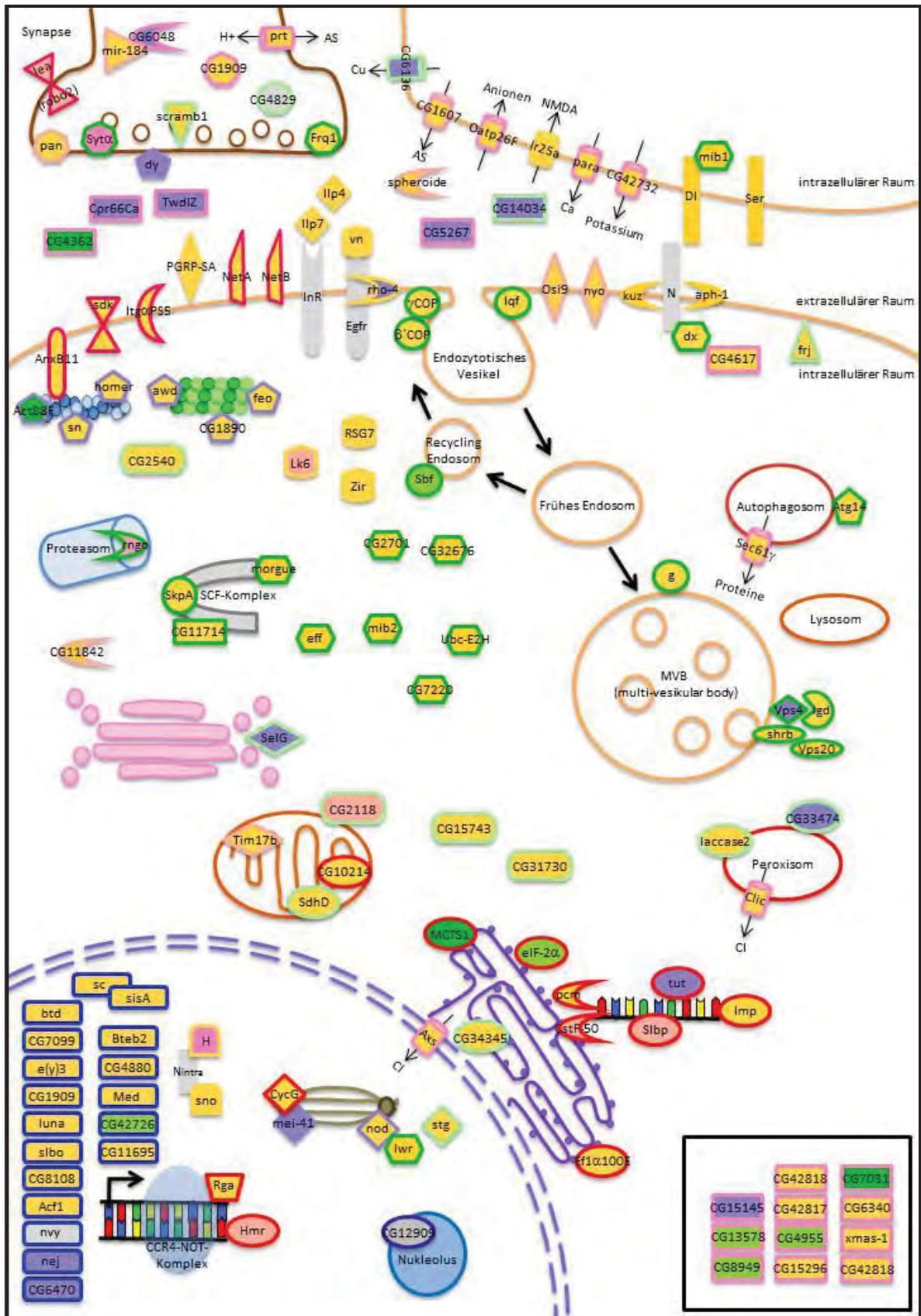


Abb. 4.2: Das Modell der identifizierten Gene des Modifier-Screens zeigt ihre Lokalisation und Rolle in Prozessen innerhalb der Zelle an. Die Farbe innerhalb des Kreises zeigt die Kategorie an in die das jeweilige Gen einsortiert wurde (**Kap. 3.2.1**): grün=Letal, Hellgrün=Semiletal, gelb=Abschwächungsgrad 3, lila=Knautsch, rosa=Reduziert, grau=Schmaler. Die Farbe des äußeren Randes zeigt die Farbe der Gruppe an, der das Gen anhand seiner Funktion zugeordnet wurde (**Kap. 3.2.4**): grün=Ubiquitinierung und Transport, blau=Transkriptionsfaktor; pink=Zelladhension, gelb=Signalweg, lila=Zytoskelett, rot=Zellmaschinierie, mint=Metabolismus, rosa=Andere. Graue Kreise zeigen Gene an, die selbst nicht im Screen aufgetaucht sind, aber mehrere im Screen aufgetauchte Gene miteinander verbinden.

Über einige wenige Gene ist fast nichts bekannt, sodass sie weder einer funktionellen Gruppe zugeordnet werden konnten, noch Interaktionen aufgedeckt wurden. Da es sich bei diesen Genen aber ebenfalls um sehr starke Modifikatoren des Modifier-Phänotyps handelt muss davon ausgegangen werden, dass es sich bei diesen Genen ebenfalls um potenzielle neue Interaktionspartner von Mib1 handelt.

Über 80 % der identifizierten Gene besitzen humane Homologe (**Tab. 3.1**). Bei einigen Genen könnte dies ebenfalls der Fall sein konnte aber aus Mangel an Informationen bislang nicht bestätigt werden. Mittels Sequenzvergleichen ließe sich dies jedoch noch überprüfen. Dennoch ist dies ein Hinweis auf die Konservierung der Mib1-Funktion und auch die Konservierung der Interaktionen von Mib1. Nichtsdestotrotz sind viele Interaktionen mit Mib1 nur vorhergesagt und müssen noch mittels weiterer Methoden untersucht werden. So könnte Massenspektrometrie oder Tap-Tag-Analyse verwendet werden, um Proteine zu identifizieren, die innerhalb eines Komplexes mit Mib1 interagieren. Um direkte Interaktionen aufzudecken könnten Co-Immunopräzipitationen oder Pull-Down-Assays angewendet werden. Diese Ergebnisse könnten dann mit dem hier durchgeführten Modifier-Screen verglichen werden, um die Kandidatenauswahl weiter einzuzugrenzen. Schlussendlich kann gesagt werden, dass die Kernkomponenten des Notch-Signalweges vermutlich bereits alle entdeckt wurden. Möglicherweise üben die hier identifizierten Gene hauptsächlich auf regulatorischen Ebenen einen Einfluss auf den Notch-Signalweg aus.

4.2.3 Herstellung und Analyse einer Mutante des Gens *CG11714*

Für weitere Analysen wurde das Gen *CG11714* ausgewählt. Bislang ist kaum etwas über dieses Gen bekannt. Es besitzt lediglich eine BTB/POZ-Domäne. Da es im Modifier-Hintergrund zu einer deutlichen Abschwächung des Phänotyps (AG3) kommt lässt sich auch zumindest eine genetische Interaktion mit Mib1 vermuten. Auch der

Sequenzvergleich erbrachte, dass es wahrscheinlich humane Homologe gibt (**Tab. 3.2**). Damit scheint CG11714 auch an einem konservierten Prozess beteiligt zu sein.

In dieser Arbeit wurde mittels P-Element-Mobilisation eine Mutante erzeugt. Allerdings ist nur circa das letzte Drittel des Gens deletiert. Um zu überprüfen, ob es sich dabei um ein Nullallel handelt sollte ein Komplementationstest durchgeführt werden

Der Verlust von *CG11714* und *If* führt zu einer Reduktion der Augengröße. Es konnte bereits gezeigt werden, dass der Verlust von *mibl* zu einer deutlichen Reduktion der Kopfgröße führt. Dadurch fehlt das Auge vollständig (Lai et al. 2005). Allerdings konnte bereits des Öfteren eine Reduktion der Augen im *If*-mutanten Hintergrund bei gleichzeitigem Verlust eines anderen Genes beobachtet werden (persönliche Kommunikation, AG Klein). Dementsprechend gibt dieses Experiment keine Aussage über die genetische Interaktion von *CG11714* und *mibl* ab.

Anhand der BTB/POZ-Domäne von *CG11714* wäre eine Funktion im SCF-Komplex zusammen mit *SkpA* und *Morgue* vorstellbar (Krek 2003; FlyBase). Allerdings konnte bislang keine genetische Interaktion zwischen *CG11714* und *SkpA* beobachtet werden. Im Weiteren sollten die genetische Interaktion von *CG11714* und *SkpA* mit Kernkomponenten des Notch-Signalweges überprüft werden.

Bei Verlust von einer Kopie von *CG11714* kommt es zu einer starken genetischen Interaktion mit *N*. Es kommt in circa 45 % der Fälle zu deutlich mehr und größeren Einkerbungen im Flügelrand. Im Vergleich zum *N*-mutanten Phänotyp ist die Anzahl der betroffenen Flügel nur leicht erhöht, aber die Ausprägung der Kerben im Flügelrand ist deutlich verstärkt. Dies deutet auf eine positiv-regulierende Funktion von *CG11714* in Bezug auf den Notch-Rezeptor hin.

In Bezug auf *SkpA* wurde eine genetische Interaktion mit *H* beobachtet. Die posteriore Kreuzvene ist zusätzlich reduziert. Dies deutet eine leichte genetische Interaktion an. Bei Verlust von einer Kopie *N* im *SkpA*/+-Hintergrund kommt es ebenfalls zu einer schwachen Veränderung. Es sind keine Kerben im Flügelrand mehr zu beobachten und es kommt zu einer leichten Verbreiterung im distalen Bereich der Venen. Dementsprechend könnte der *N*-mutante Phänotyp abgeschwächt sein. Diese Ergebnisse deuten auf eine negativ-regulierende Funktion von *SkpA* in Bezug auf den Notch-Rezeptor hin. Möglicherweise wird die intrazelluläre Domäne von Notch über den SCF-Komplex abgebaut.

Diese Ergebnisse deuten auf gegensätzliche Funktionen von CG11714 und SkpA in Bezug auf Notch hin. Dies macht eine Rolle für beide Komponenten im SCF-Komplex unwahrscheinlich. Möglicherweise spielt CG11714 doch keine Rolle im SCF-Komplex sondern hat eine andere Funktion, die es zu ermitteln gilt. Um eindeutigere Ergebnisse zu erzielen müssten diese Versuche im homozygot-mutanten Hintergrund wiederholt werden. Darüber hinaus könnten direkte Interaktionsanalysen mittels Pull-Down-Assays durchgeführt werden, sowie Lokalisationsstudien mittels Immuno-Fluoreszenz-Analysen. Trotzdem konnte für CG11714 nun durch den Modifier-Screen sowohl eine genetische Interaktion mit Mib1 als auch durch die Interaktionsanalyse eine genetische Interaktion mit N bestätigt werden. In Zukunft sollte die Art der Interaktion und der Prozess an dem CG11714 beteiligt ist weiter aufgedeckt werden.

5 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Funktionsverlust des Tumorsuppressorgens *lethal (2) giant discs (lgd)* während der Oogenese weiterführend untersucht. Zuvor konnte bereits beobachtet werden, dass es zu einer ektopischen Expression des Dpp-Reporters *dad-lacZ* in frühen Eikammern in einer Tkv-abhängigen Weise kommt. Darüber hinaus konnten Eikammern mit 32 Zellen beobachtet werden.

Hier konnte gezeigt werden, dass es zu zusätzlichen *dad*-positiven Zellen im Germarium kommt, die mit Spektrosomen assoziiert sind. Damit konnten sie eindeutig als Keimbahnstammzellen oder Keimbahnstammzell-ähnliche Zellen identifiziert werden. Darüber hinaus ist die Expression von *bam* komplementär zur ektopischen *dad*-Expression verzögert. Fusome sind dementsprechend erst im Bereich 2a in den sich teilenden Zysten zu beobachten. Zusätzlich kommt es in einem Teil der Germarien zu einer ektopischen Expression von *cycA* in späten Zysten. Die Anzahl der Zysten mit ektopische *cycA*-Expression korreliert mit der Anzahl von Eikammern mit 32 Zellen. Eine Akkumulation des Rezeptors Tkv in reifenden Endosomen ist bereits in frühen Eikammern zu beobachten und wird mit zunehmendem Alter der Eikammern immer gravierender. Darüber hinaus konnte eine genetische Interaktion mit der Kinase *fused* nachgewiesen werden. Eine Fusion mit dem Lysosom ist nicht notwendig für die ektopische Aktivierung des Dpp-Signalweges. Ähnliches konnte für die ESCRT-III-Komponente *shrub* beobachtet werden, die ein direkter Interaktionspartner von *lgd* ist.

Aufgrund dieser Daten wird hier die Vermutung aufgestellt, dass es zu einem Degradationsdefekt von aktivierten Tkv-Rezeptoren kommt, die solange weiter signalisieren, wie das Endosom existiert. Dadurch wird eine zusätzliche Mitose ausgelöst, die in Eikammern mit 32 Zellen resultiert.

Zusätzlich wurde in dieser Arbeit ein Modifier-Screen im Flügel von *Drosophila* durchgeführt bei dem 131 potenzielle neue Interaktionspartner der E3-Ubiquitin-Ligase Mib1 identifiziert wurden.

Durch die Identifizierung bekannter Kernkomponenten des Notch-Signalweges wurde die Funktionalität des Versuchsaufbaus bestätigt. *In silico* Analysen zeigten, dass Kandidaten aus dem Bereich Ubiquitinierung und Transport, sowie Zytoskelett und Zelladhäsion besonders interessante potenzielle neue Interaktoren von Mib1 darstellen. Darüber hinaus konnte eine genetische Interaktion von *CG11714* und *Notch* nachgewiesen werden.

6 Summary

In this thesis the loss of function of the tumor suppressor *gene lethal (2) giant discs* during oogenesis was further analyzed. It has been shown previously that loss of *lgd* causes ectopic expression of the Dpp-Reporter *dad-lacZ* in a Tkv-dependent manner in early egg chambers. Furthermore, egg chambers with 32 cells were observed.

This work showed ectopic *dad*-positive cells associated with spectrosomes in the germarium identifying them as germline stem cells or at least as germline stem cell-like cells. The *bam*-expression was delayed complementary to the ectopic *dad*-expression. Fusomes were observed in the region 2a in dividing cysts. Moreover, in some late cysts *cycA* was expressed ectopically. The amount of cysts expressing *cycA* ectopically correlated with the amount of egg chambers with 32 cells. Accumulation of the Tkv receptor was observed in maturing endosomes of early egg chambers. This degradation defect increased with the age of egg chambers. Furthermore, a genetic interaction of *lgd* and the kinase *fused* was observed. A fusion with the lysosome was shown not to be necessary for the ectopic activation of the Dpp signaling pathway. Similar facts were observed for the ESCRT-III-component *shrub*, which interacts directly with *lgd*.

Based on this data the theory was proposed that the degradation defect of activated tkv leads to an ectopic activation of Dpp signaling, which lasts for as long as the endosome exists. This leads to an additional round of mitosis and egg chambers with 32 cells.

Additionally, 131 potential new interaction partners of the E3-Ubiquitin-Ligase Mib1 were identified with a modifier-screen in the wing of *Drosophila*.

The identification of known Notch-components confirmed the functionality of the assay. *In silico* analysis revealed genes playing a role in ubiquitination and transport as well as cytoskeleton and cell adhesion as very interesting potential new interaction partners. Moreover, a genetic interaction between *CG11714* and *Notch* was demonstrated.

7 Literaturverzeichnis

Abe, Masashi; Naqvi, Ammar; Hendriks, Gert-Jan; Feltzin, Virzhiniya; Zhu, Yongqing; Grigoriev, Andrey; Bonini, Nancy M. (2014): Impact of age-associated increase in 2'-O-methylation of miRNAs on aging and neurodegeneration in *Drosophila*. In: *Genes & development* 28 (1), S. 44–57. DOI: 10.1101/gad.226654.113.

Acharya, Usha; Edwards, Michael Beth; Jorquera, Ramon A.; Silva, Hugo; Nagashima, Kunio; Labarca, Pedro; Acharya, Jairaj K. (2006): *Drosophila melanogaster* Scramblases modulate synaptic transmission. In: *The Journal of cell biology* 173 (1), S. 69–82. DOI: 10.1083/jcb.200506159.

Ahmad, K. F.; Engel, C. K.; Privé, G. G. (1998): Crystal structure of the BTB domain from PLZF. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (21), S. 12123–12128.

Akiyama, Takuya; Gibson, Matthew C. (2015): Decapentaplegic and growth control in the developing *Drosophila* wing. In: *Nature* 527 (7578), S. 375–378. DOI: 10.1038/nature15730.

Alpert, Gina (2012): Klonale Analyse von Uba1 und Isolation der Ubiquitin-konjugierenden Enzyme involviert im Notch-Signalweg in *Drosophila melanogaster*. Bachelorarbeit. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.

Altschul, S. F.; Madden, T. L.; Schäffer, A. A.; Zhang, J.; Zhang, Z.; Miller, W.; Lipman, D. J. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. In: *Nucleic acids research* 25 (17), S. 3389–3402.

Anderson, Jason; Bhandari, Rohan; Kumar, Justin P. (2005): A genetic screen identifies putative targets and binding partners of CREB-binding protein in the developing *Drosophila* eye. In: *Genetics* 171 (4), S. 1655–1672. DOI: 10.1534/genetics.105.045450.

Apionishev, S.; Malhotra, D.; Raghavachari, S.; Tanda, S.; Rasooly, R. S. (2001): The *Drosophila* UBC9 homologue lesswright mediates the disjunction of homologues in meiosis I. In: *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms* 6 (3), S. 215–224.

Arsham, Andrew M.; Neufeld, Thomas P. (2009): A genetic screen in *Drosophila* reveals novel cytoprotective functions of the autophagy-lysosome pathway. In: *PloS one* 4 (6), S. e6068. DOI: 10.1371/journal.pone.0006068.

Artavanis-Tsakonas, S.; Rand, M. D.; Lake, R. J. (1999): Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. In: *Science (New York, N.Y.)* 284 (5415), S. 770–776.

Assa-Kunik, Efrat; Torres, Isabel L.; Schejter, Eyal D.; Johnston, Daniel St; Shilo, Ben-Zion (2007): *Drosophila* follicle cells are patterned by multiple levels of Notch signaling and antagonism between the Notch and JAK/STAT pathways. In: *Development (Cambridge, England)* 134 (6), S. 1161–1169. DOI: 10.1242/dev.02800.

Babst, M.; Wendland, B.; Estepa, E. J.; Emr, S. D. (1998): The Vps4p AAA ATPase regulates membrane association of a Vps protein complex required for normal endosome function. In: *The EMBO journal* 17 (11), S. 2982–2993. DOI: 10.1093/emboj/17.11.2982.

- Babst, Markus; Katzmann, David J.; Snyder, William B.; Wendland, Beverly; Emr, Scott D. (2002): Endosome-associated complex, ESCRT-II, recruits transport machinery for protein sorting at the multivesicular body. In: *Developmental cell* 3 (2), S. 283–289.
- Babu, Kavita; Cai, Yu; Bahri, Sami; Yang, Xiaohang; Chia, William (2004): Roles of Bifocal, Homer, and F-actin in anchoring Oskar to the posterior cortex of *Drosophila* oocytes. In: *Genes & development* 18 (2), S. 138–143. DOI: 10.1101/gad.282604.
- Bailey, A. M.; Posakony, J. W. (1995): Suppressor of hairless directly activates transcription of enhancer of split complex genes in response to Notch receptor activity. In: *Genes & development* 9 (21), S. 2609–2622.
- Baker, Rosanna P.; Urban, Siniša (2015): Cytosolic extensions directly regulate a rhomboid protease by modulating substrate gating. In: *Nature* 523 (7558), S. 101–105. DOI: 10.1038/nature14357.
- Bang, A. G.; Posakony, J. W. (1992): The *Drosophila* gene Hairless encodes a novel basic protein that controls alternative cell fates in adult sensory organ development. In: *Genes & development* 6 (9), S. 1752–1769.
- Bardwell, V. J.; Treisman, R. (1994): The POZ domain: a conserved protein-protein interaction motif. In: *Genes & development* 8 (14), S. 1664–1677.
- Bawankar, Praveen; Loh, Belinda; Wohlbold, Lara; Schmidt, Steffen; Izaurrealde, Elisa (2013): NOT10 and C2orf29/NOT11 form a conserved module of the CCR4-NOT complex that docks onto the NOT1 N-terminal domain. In: *RNA biology* 10 (2), S. 228–244. DOI: 10.4161/rna.23018.
- Benes, Cyril H.; Wu, Ning; Elia, Andrew E. H.; Dharia, Tejal; Cantley, Lewis C.; Soltoff, Stephen P. (2005): The C2 domain of PKCdelta is a phosphotyrosine binding domain. In: *Cell* 121 (2), S. 271–280. DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.019.
- Benton, Richard; Vannice, Kirsten S.; Gomez-Diaz, Carolina; Vosshall, Leslie B. (2009): Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. In: *Cell* 136 (1), S. 149–162. DOI: 10.1016/j.cell.2008.12.001.
- Bergman, Zane J.; McLaurin, Justin D.; Eritano, Anthony S.; Johnson, Brittany M.; Sims, Amanda Q.; Riggs, Blake (2015): Spatial reorganization of the endoplasmic reticulum during mitosis relies on mitotic kinase cyclin A in the early *Drosophila* embryo. In: *PLoS one* 10 (2), S. e0117859. DOI: 10.1371/journal.pone.0117859.
- Berns, Nicola; Woichansky, Innokenty; Friedrichsen, Steffen; Kraft, Nadine; Riechmann, Veit (2014): A genome-scale in vivo RNAi analysis of epithelial development in *Drosophila* identifies new proliferation domains outside of the stem cell niche. In: *Journal of cell science* 127 (Pt 12), S. 2736–2748. DOI: 10.1242/jcs.144519.
- Bhaskar, V.; Valentine, S. A.; Courey, A. J. (2000): A functional interaction between dorsal and components of the Smt3 conjugation machinery. In: *The Journal of biological chemistry* 275 (6), S. 4033–4040.
- Biehs, B.; Sturtevant, M. A.; Bier, E. (1998): Boundaries in the *Drosophila* wing imaginal disc organize vein-specific genetic programs. In: *Development (Cambridge, England)* 125 (21), S. 4245–4257.
- Bier, E. (2000): Drawing lines in the *Drosophila* wing: initiation of wing vein development. In: *Current opinion in genetics & development* 10 (4), S. 393–398.

- Biggs, J.; Hersperger, E.; Steeg, P. S.; Liotta, L. A.; Shearn, A. (1990): A *Drosophila* gene that is homologous to a mammalian gene associated with tumor metastasis codes for a nucleoside diphosphate kinase. In: *Cell* 63 (5), S. 933–940.
- Bishop, S. A.; Klein, T.; Arias, A. M.; Couso, J. P. (1999): Composite signalling from Serrate and Delta establishes leg segments in *Drosophila* through Notch. In: *Development (Cambridge, England)* 126 (13), S. 2993–3003.
- Blair, Seth S. (2007): Wing vein patterning in *Drosophila* and the analysis of intercellular signaling. In: *Annual review of cell and developmental biology* 23, S. 293–319. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123606.
- Blaumueller, C. M.; Qi, H.; Zagouras, P.; Artavanis-Tsakonas, S. (1997): Intracellular cleavage of Notch leads to a heterodimeric receptor on the plasma membrane. In: *Cell* 90 (2), S. 281–291.
- Blobel, C. P. (1997): Metalloprotease-disintegrins: links to cell adhesion and cleavage of TNF alpha and Notch. In: *Cell* 90 (4), S. 589–592.
- Boutros, Michael; Kiger, Amy A.; Armknecht, Susan; Kerr, Kim; Hild, Marc; Koch, Britta et al. (2004): Genome-wide RNAi analysis of growth and viability in *Drosophila* cells. In: *Science (New York, N.Y.)* 303 (5659), S. 832–835. DOI: 10.1126/science.1091266.
- Boxhammer, Frank (2012):
SuchenachInteraktionspartnernvonMindbombzurRegulationdes Notch--Signalwegs.
Diplomarbeit. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.
- Brankatschk, Marko; Dickson, Barry J. (2006): Netrins guide *Drosophila* commissural axons at short range. In: *Nature neuroscience* 9 (2), S. 188–194. DOI: 10.1038/nn1625.
- Broggiolo, W.; Stocker, H.; Ikeya, T.; Rintelen, F.; Fernandez, R.; Hafen, E. (2001): An evolutionarily conserved function of the *Drosophila* insulin receptor and insulin-like peptides in growth control. In: *Current biology : CB* 11 (4), S. 213–221.
- Brooks, Elizabeth S.; Greer, Christina L.; Romero-Calderón, Rafael; Serway, Christine N.; Grygoruk, Anna; Haimovitz, Jasmine M. et al. (2011): A putative vesicular transporter expressed in *Drosophila* mushroom bodies that mediates sexual behavior may define a neurotransmitter system. In: *Neuron* 72 (2), S. 316–329. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.08.032.
- Brown, J. Lesley; Grau, Daniel J.; DeVido, Sarah K.; Kassis, Judith A. (2005): An Sp1/KLF binding site is important for the activity of a Polycomb group response element from the *Drosophila* engrailed gene. In: *Nucleic acids research* 33 (16), S. 5181–5189. DOI: 10.1093/nar/gki827.
- Brown, N. H. (2000): Cell-cell adhesion via the ECM: integrin genetics in fly and worm. In: *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology* 19 (3), S. 191–201.
- Brummel, T. J.; Twombly, V.; Marqués, G.; Wrana, J. L.; Newfeld, S. J.; Attisano, L. et al. (1994): Characterization and relationship of Dpp receptors encoded by the saxophone and thick veins genes in *Drosophila*. In: *Cell* 78 (2), S. 251–261.
- Bryant, P. J.; Schubiger, G. (1971): Giant and duplicated imaginal discs in a new lethal mutant of *Drosophila melanogaster*. In: *Developmental biology* 24 (2), S. 233–263.

- Bryant, P. J.; Watson, K. L.; Justice, R. W.; Woods, D. F. (1993): Tumor suppressor genes encoding proteins required for cell interactions and signal transduction in *Drosophila*. In: *Development (Cambridge, England). Supplement*, S. 239–249.
- Burd, C. G.; Emr, S. D. (1998): Phosphatidylinositol(3)-phosphate signaling mediated by specific binding to RING FYVE domains. In: *Molecular cell* 2 (1), S. 157–162.
- Bury, Frédéric J.; Moers, Virginie; Yan, Jiekun; Souopgui, Jacob; Quan, Xiao-Jiang; Geest, Natalie de et al. (2008): *Xenopus* BTBD6 and its *Drosophila* homologue lute are required for neuronal development. In: *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 237 (11), S. 3352–3360. DOI: 10.1002/dvdy.21748.
- Buszczak, M.; Cooley, L. (2000): Eggs to die for: cell death during *Drosophila* oogenesis. In: *Cell death and differentiation* 7 (11), S. 1071–1074. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400755.
- Cabrera, C. V.; Alonso, M. C. (1991): Transcriptional activation by heterodimers of the achaete-scute and daughterless gene products of *Drosophila*. In: *The EMBO journal* 10 (10), S. 2965–2973.
- Cabrera, C. V.; Alonso, M. C.; Huikeshoven, H. (1994): Regulation of scute function by extramacrochaete in vitro and in vivo. In: *Development (Cambridge, England)* 120 (12), S. 3595–3603.
- Cadavid, A. L.; Ginzl, A.; Fischer, J. A. (2000): The function of the *Drosophila* fat facets deubiquitinating enzyme in limiting photoreceptor cell number is intimately associated with endocytosis. In: *Development (Cambridge, England)* 127 (8), S. 1727–1736.
- Campos, Lia Scotti; Decker, Laurence; Taylor, Verdon; Skarnes, William (2006): Notch, epidermal growth factor receptor, and beta1-integrin pathways are coordinated in neural stem cells. In: *The Journal of biological chemistry* 281 (8), S. 5300–5309. DOI: 10.1074/jbc.M511886200.
- Carrasco-Rando, Marta; Ruiz-Gómez, Mar (2008): Mind bomb 2, a founder myoblast-specific protein, regulates myoblast fusion and muscle stability. In: *Development (Cambridge, England)* 135 (5), S. 849–857. DOI: 10.1242/dev.015529.
- Carreira, Valeria P.; Soto, Ignacio M.; Mensch, Julián; Fanara, Juan J. (2011): Genetic basis of wing morphogenesis in *Drosophila*: sexual dimorphism and non-allometric effects of shape variation. In: *BMC developmental biology* 11, S. 32. DOI: 10.1186/1471-213X-11-32.
- Casanueva, M. Olivia; Ferguson, Edwin L. (2004): Germline stem cell number in the *Drosophila* ovary is regulated by redundant mechanisms that control Dpp signaling. In: *Development (Cambridge, England)* 131 (9), S. 1881–1890. DOI: 10.1242/dev.01076.
- Castellano, S.; Morozova, N.; Morey, M.; Berry, M. J.; Serras, F.; Corominas, M.; Guigó, R. (2001): In silico identification of novel selenoproteins in the *Drosophila melanogaster* genome. In: *EMBO reports* 2 (8), S. 697–702. DOI: 10.1093/embo-reports/kve151.
- Celis, J. F. de (1997): Expression and function of decapentaplegic and thick veins during the differentiation of the veins in the *Drosophila* wing. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (5), S. 1007–1018.

- Celis, J. F. de; Bray, S.; Garcia-Bellido, A. (1997): Notch signalling regulates veinlet expression and establishes boundaries between veins and interveins in the *Drosophila* wing. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (10), S. 1919–1928.
- Celis, J. F. de; Bray, S. J. (2000): The Abruptex domain of Notch regulates negative interactions between Notch, its ligands and Fringe. In: *Development (Cambridge, England)* 127 (6), S. 1291–1302.
- Celis, J. F. de; García-Bellido, A. (1994): Roles of the Notch gene in *Drosophila* wing morphogenesis. In: *Mechanisms of development* 46 (2), S. 109–122.
- Cenci, G.; Rawson, R. B.; Belloni, G.; Castrillon, D. H.; Tudor, M.; Petrucci, R. et al. (1997): UbcD1, a *Drosophila* ubiquitin-conjugating enzyme required for proper telomere behavior. In: *Genes & development* 11 (7), S. 863–875.
- Chartier, Aymeric; Klein, Pierre; Pierson, Stéphanie; Barbezier, Nicolas; Gidaro, Teresa; Casas, François et al. (2015): Mitochondrial dysfunction reveals the role of mRNA poly(A) tail regulation in oculopharyngeal muscular dystrophy pathogenesis. In: *PLoS genetics* 11 (3), S. e1005092. DOI: 10.1371/journal.pgen.1005092.
- Chen, Dahua; McKearin, Dennis (2003): Dpp signaling silences bam transcription directly to establish asymmetric divisions of germline stem cells. In: *Current biology : CB* 13 (20), S. 1786–1791.
- Chen, Dongsheng; Wang, Qi; Huang, Haidong; Xia, Laixin; Jiang, Xiaoyong; Kan, Lijuan et al. (2009): E2f-mediated degradation of Cyclin A is essential for the maintenance of germline stem cells in *Drosophila*. In: *Development (Cambridge, England)* 136 (24), S. 4133–4142. DOI: 10.1242/dev.039032.
- Chen, Y.; Goodman, R. H.; Smolik, S. M. (2000): Cubitus interruptus requires *Drosophila* CREB-binding protein to activate wingless expression in the *Drosophila* embryo. In: *Molecular and cellular biology* 20 (5), S. 1616–1625.
- Childress, Jennifer L.; Acar, Melih; Tao, Chunyao; Halder, Georg (2006): Lethal giant discs, a novel C2-domain protein, restricts notch activation during endocytosis. In: *Current biology : CB* 16 (22), S. 2228–2233. DOI: 10.1016/j.cub.2006.09.031.
- Cook, R. Kimberley; Christensen, Stacey J.; Deal, Jennifer A.; Coburn, Rachel A.; Deal, Megan E.; Gresens, Jill M. et al. (2012): The generation of chromosomal deletions to provide extensive coverage and subdivision of the *Drosophila melanogaster* genome. In: *Genome biology* 13 (3), S. R21. DOI: 10.1186/gb-2012-13-3-r21.
- Cooley, L.; Cant, K.; Knowles, B.; Mahajan-Miklos, S. (1996): Genetic analysis of actin bundling protein function during oogenesis. In: *Program and Abstracts. 37th Annual Drosophila Research Conference, San Diego, 1996*, S. 20.
- Couso, J. P.; Knust, E.; Martinez Arias, A. (1995): Serrate and wingless cooperate to induce vestigial gene expression and wing formation in *Drosophila*. In: *Current biology : CB* 5 (12), S. 1437–1448.
- Couturier, Lydie; Trylinski, Mateusz; Mazouni, Khallil; Darnet, Léa; Schweisguth, François (2014): A fluorescent tagging approach in *Drosophila* reveals late endosomal trafficking of Notch and Sanpodo. In: *The Journal of cell biology* 207 (3), S. 351–363. DOI: 10.1083/jcb.201407071.
- Coyle-Thompson, C. A.; Banerjee, U. (1993): The strawberry notch gene functions with Notch in common developmental pathways. In: *Development (Cambridge, England)* 119 (2), S. 377–395.

- Cruz, Cristina; Glavic, Alvaro; Casado, Mar; Celis, Jose F. de (2009): A gain-of-function screen identifying genes required for growth and pattern formation of the *Drosophila melanogaster* wing. In: *Genetics* 183 (3), S. 1005–1026. DOI: 10.1534/genetics.109.107748.
- Cuevas, M. de; Lilly, M. A.; Spradling, A. C. (1997): Germline cyst formation in *Drosophila*. In: *Annual review of genetics* 31, S. 405–428. DOI: 10.1146/annurev.genet.31.1.405.
- Curators, FlyBase (2008): Assigning Gene Ontology (GO) terms by sequence similarity in FlyBase.
- Curtis, Brenda J.; Zraly, Claudia B.; Marendia, Daniel R.; Dingwall, Andrew K. (2011): Histone lysine demethylases function as co-repressors of SWI/SNF remodeling activities during *Drosophila* wing development. In: *Developmental biology* 350 (2), S. 534–547. DOI: 10.1016/j.ydbio.2010.12.001.
- Daskalaki, Aikaterini; Shalaby, Nevine A.; Kux, Kristina; Tsoumpekos, Giorgos; Tsididis, George D.; Muskavitch, Marc A. T.; Delidakis, Christos (2011): Distinct intracellular motifs of Delta mediate its ubiquitylation and activation by Mindbomb1 and Neuralized. In: *The Journal of cell biology* 195 (6), S. 1017–1031. DOI: 10.1083/jcb.201105166.
- Deivasigamani, Senthilkumar; Verma, Hemant Kumar; Ueda, Ryu; Ratnaparkhi, Anuradha; Ratnaparkhi, Girish S. (2014): A genetic screen identifies Tor as an interactor of VAPB in a *Drosophila* model of amyotrophic lateral sclerosis. In: *Biology open* 3 (11), S. 1127–1138. DOI: 10.1242/bio.201410066.
- Derst, Christian; Walther, Christian; Veh, Rüdiger W.; Wicher, Dieter; Heinemann, Stefan H. (2006): Four novel sequences in *Drosophila melanogaster* homologous to the auxiliary Para sodium channel subunit TipE. In: *Biochemical and biophysical research communications* 339 (3), S. 939–948. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.11.096.
- Deshais, Raymond J.; Joazeiro, Claudio A. P. (2009): RING domain E3 ubiquitin ligases. In: *Annual review of biochemistry* 78, S. 399–434. DOI: 10.1146/annurev.biochem.78.101807.093809.
- Diagana, Thierry T.; Thomas, Ulrich; Prokopenko, Sergei N.; Xiao, Bo; Worley, Paul F.; Thomas, John B. (2002): Mutation of *Drosophila* homer disrupts control of locomotor activity and behavioral plasticity. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22 (2), S. 428–436.
- DiBartolomeis, S. M.; Akten, B.; Genova, G.; Roberts, M. A.; Jackson, F. R. (2002): Molecular analysis of the *Drosophila* miniature-dusky (m-dy) gene complex: m-dy mRNAs encode transmembrane proteins with similarity to *C. elegans* cuticulin. In: *Molecular genetics and genomics : MGG* 267 (5), S. 564–576. DOI: 10.1007/s00438-002-0700-7.
- Diederich, R. J.; Matsuno, K.; Hing, H.; Artavanis-Tsakonas, S. (1994): Cytosolic interaction between deltex and Notch ankyrin repeats implicates deltex in the Notch signaling pathway. In: *Development (Cambridge, England)* 120 (3), S. 473–481.
- Doherty, Gary J.; McMahon, Harvey T. (2009): Mechanisms of endocytosis. In: *Annual review of biochemistry* 78, S. 857–902. DOI: 10.1146/annurev.biochem.78.081307.110540.
- Dominski, Zbigniew; Erkmann, Judith A.; Yang, Xiaocui; Sánchez, Ricardo; Marzluff, William F. (2002): A novel zinc finger protein is associated with U7 snRNP and

- interacts with the stem-loop binding protein in the histone pre-mRNP to stimulate 3'-end processing. In: *Genes & development* 16 (1), S. 58–71. DOI: 10.1101/gad.932302.
- Dong, X.; Zavitz, K. H.; Thomas, B. J.; Lin, M.; Campbell, S.; Zipursky, S. L. (1997): Control of G1 in the developing *Drosophila* eye: *rca1* regulates Cyclin A. In: *Genes & development* 11 (1), S. 94–105.
- Dorer, Douglas R.; Rudnick, Jamie A.; Moriyama, Etsuko N.; Christensen, Alan C. (2003): A family of genes clustered at the Triplo-lethal locus of *Drosophila melanogaster* has an unusual evolutionary history and significant synteny with *Anopheles gambiae*. In: *Genetics* 165 (2), S. 613–621.
- Dunphy, W. G.; Kumagai, A. (1991): The *cdc25* protein contains an intrinsic phosphatase activity. In: *Cell* 67 (1), S. 189–196.
- Eikenes, Åsmund H.; Malerød, Lene; Christensen, Anette Lie; Steen, Chloé B.; Mathieu, Juliette; Nezis, Ioannis P. et al. (2015): ALIX and ESCRT-III coordinately control cytokinetic abscission during germline stem cell division in vivo. In: *PLoS genetics* 11 (1), S. e1004904. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004904.
- Erickson, J. W.; Cline, T. W. (1991): Molecular nature of the *Drosophila* sex determination signal and its link to neurogenesis. In: *Science (New York, N.Y.)* 251 (4997), S. 1071–1074.
- Evangelista, Marie; Zigmond, Sally; Boone, Charles (2003): Formins: signaling effectors for assembly and polarization of actin filaments. In: *Journal of cell science* 116 (Pt 13), S. 2603–2611. DOI: 10.1242/jcs.00611.
- Faradji, Floria; Bloyer, Sébastien; Dardalhon-Cuménal, Delphine; Randsholt, Neel B.; Peronnet, Frédérique (2011): *Drosophila melanogaster* Cyclin G coordinates cell growth and cell proliferation. In: *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 10 (5), S. 805–818.
- Fehon, R. G.; Kooh, P. J.; Rebay, I.; Regan, C. L.; Xu, T.; Muskavitch, M. A.; Artavanis-Tsakonas, S. (1990): Molecular interactions between the protein products of the neurogenic loci Notch and Delta, two EGF-homologous genes in *Drosophila*. In: *Cell* 61 (3), S. 523–534.
- Fernandes, Isabelle; Chanut-Delalande, Hélène; Ferrer, Pierre; Latapie, Yvan; Waltzer, Lucas; Affolter, Markus et al. (2010): Zona pellucida domain proteins remodel the apical compartment for localized cell shape changes. In: *Developmental cell* 18 (1), S. 64–76. DOI: 10.1016/j.devcel.2009.11.009.
- Fernandez and Reginald (2003): Structure, function and evolution of the annexin gene superfamily. In: *Annexins*, S. 21–37.
- Findlay, Geoffrey D.; Yi, Xianhua; Maccoss, Michael J.; Swanson, Willie J. (2008): Proteomics reveals novel *Drosophila* seminal fluid proteins transferred at mating. In: *PLoS biology* 6 (7), S. e178. DOI: 10.1371/journal.pbio.0060178.
- Fleming, R. J.; Gu, Y.; Hukriede, N. A. (1997): Serrate-mediated activation of Notch is specifically blocked by the product of the gene *fringe* in the dorsal compartment of the *Drosophila* wing imaginal disc. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (15), S. 2973–2981.
- FlyBase (1992): FlyBase curation.
- FlyBase Curators (2004): Gene Ontology annotation in FlyBase through association of InterPro records with GO terms, 2004. Personal communication to FlyBase.

- Formstecher, Etienne; Aresta, Sandra; Collura, Vincent; Hamburger, Alexandre; Meil, Alain; Trehin, Alexandra et al. (2005): Protein interaction mapping: a *Drosophila* case study. In: *Genome research* 15 (3), S. 376–384. DOI: 10.1101/gr.2659105.
- Frolov, M. V.; Benevolenskaya, E. V.; Birchler, J. A. (1998): Regena (Rga), a *Drosophila* homolog of the global negative transcriptional regulator CDC36 (NOT2) from yeast, modifies gene expression and suppresses position effect variegation. In: *Genetics* 148 (1), S. 317–329.
- Furriols, M.; Bray, S. (2001): A model Notch response element detects Suppressor of Hairless-dependent molecular switch. In: *Current biology : CB* 11 (1), S. 60–64.
- Gallagher, Ciara M.; Knoblich, Juergen A. (2006): The conserved c2 domain protein lethal (2) giant discs regulates protein trafficking in *Drosophila*. In: *Developmental cell* 11 (5), S. 641–653. DOI: 10.1016/j.devcel.2006.09.014.
- Gao, F. B.; Brenman, J. E.; Jan, L. Y.; Jan, Y. N. (1999): Genes regulating dendritic outgrowth, branching, and routing in *Drosophila*. In: *Genes & development* 13 (19), S. 2549–2561.
- Garabedian, Mikael; Jarnik, Michael; Kotova, Elena; Tulin, Alexei V. (2011): Generating a knockdown transgene against *Drosophila* heterochromatic Tim17b gene encoding mitochondrial translocase subunit. In: *PloS one* 6 (10), S. e25945. DOI: 10.1371/journal.pone.0025945.
- Garcia-Bellido, A.; Celis, J. F. de (1992): Developmental genetics of the venation pattern of *Drosophila*. In: *Annual review of genetics* 26, S. 277–304. DOI: 10.1146/annurev.ge.26.120192.001425.
- Garner, M.; van Kreeveld, S.; Su, T. T. (2001): mei-41 and bub1 block mitosis at two distinct steps in response to incomplete DNA replication in *Drosophila* embryos. In: *Current biology : CB* 11 (20), S. 1595–1599.
- Gaudet, P.; Livstone, M.; Thomas, P.; The Reference Genome Project (2010): Annotation inferences using phylogenetic trees.
- Gelbart, W. M.; Irish, V. F.; St Johnston, R. D.; Hoffmann, F. M.; Blackman, R. K.; Segal, D. et al. (1985): The decapentaplegic gene complex in *Drosophila melanogaster*. In: *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* 50, S. 119–125.
- Gill, David J.; Teo, Hsiangling; Sun, Ji; Perisic, Olga; Veprintsev, Dmitry B.; Emr, Scott D.; Williams, Roger L. (2007): Structural insight into the ESCRT-I/-II link and its role in MVB trafficking. In: *The EMBO journal* 26 (2), S. 600–612. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601501.
- Giot, L.; Bader, J. S.; Brouwer, C.; Chaudhuri, A.; Kuang, B.; Li, Y. et al. (2003): A protein interaction map of *Drosophila melanogaster*. In: *Science (New York, N.Y.)* 302 (5651), S. 1727–1736. DOI: 10.1126/science.1090289.
- Gladstein, Natalie; McKeon, Meghan N.; Horabin, Jamila I. (2010): Requirement of male-specific dosage compensation in *Drosophila* females--implications of early X chromosome gene expression. In: *PLoS genetics* 6 (7), S. e1001041. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001041.
- Glittenberg, Marcus; Pitsouli, Chrysoula; Garvey, Clare; Delidakis, Christos; Bray, Sarah (2006): Role of conserved intracellular motifs in Serrate signalling, cis-inhibition and endocytosis. In: *The EMBO journal* 25 (20), S. 4697–4706. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601337.

- Gobert, Vanessa; Gottar, Marie; Matskevich, Alexey A.; Rutschmann, Sophie; Royet, Julien; Belvin, Marcia et al. (2003): Dual activation of the *Drosophila* toll pathway by two pattern recognition receptors. In: *Science (New York, N.Y.)* 302 (5653), S. 2126–2130. DOI: 10.1126/science.1085432.
- Goldstein, L. S.; Gunawardena, S. (2000): Flying through the *drosophila* cytoskeletal genome. In: *The Journal of cell biology* 150 (2), S. F63-8.
- Gorman, M. J.; Girton, J. R. (1992): A genetic analysis of *deltex* and its interaction with the Notch locus in *Drosophila melanogaster*. In: *Genetics* 131 (1), S. 99–112.
- Goshima, Gohta; Wollman, Roy; Goodwin, Sarah S.; Zhang, Nan; Scholey, Jonathan M.; Vale, Ronald D.; Stuurman, Nico (2007): Genes required for mitotic spindle assembly in *Drosophila* S2 cells. In: *Science (New York, N.Y.)* 316 (5823), S. 417–421. DOI: 10.1126/science.1141314.
- Gottar, Marie; Gobert, Vanessa; Michel, Tatiana; Belvin, Marcia; Duyk, Geoffrey; Hoffmann, Jules A. et al. (2002): The *Drosophila* immune response against Gram-negative bacteria is mediated by a peptidoglycan recognition protein. In: *Nature* 416 (6881), S. 640–644. DOI: 10.1038/nature734.
- Guichard, A.; Biehs, B.; Sturtevant, M. A.; Wickline, L.; Chacko, J.; Howard, K.; Bier, E. (1999): rhomboid and Star interact synergistically to promote EGFR/MAPK signaling during *Drosophila* wing vein development. In: *Development (Cambridge, England)* 126 (12), S. 2663–2676.
- Guild, Gregory M.; Connelly, Patricia S.; Ruggiero, Linda; Vranich, Kelly A.; Tilney, Lewis G. (2005): Actin filament bundles in *Drosophila* wing hairs: hairs and bristles use different strategies for assembly. In: *Molecular biology of the cell* 16 (8), S. 3620–3631. DOI: 10.1091/mbc.E05-03-0185.
- Hamaratoglu, Fisun; Affolter, Markus; Pyrowolakis, George (2014): Dpp/BMP signaling in flies: from molecules to biology. In: *Seminars in cell & developmental biology* 32, S. 128–136. DOI: 10.1016/j.semcdb.2014.04.036.
- Hamel, Sophie; Fantini, Jacques; Schweisguth, François (2010): Notch ligand activity is modulated by glycosphingolipid membrane composition in *Drosophila melanogaster*. In: *The Journal of cell biology* 188 (4), S. 581–594. DOI: 10.1083/jcb.200907116.
- Handley, P. M.; Mueckler, M.; Siegel, N. R.; Ciechanover, A.; Schwartz, A. L. (1991): Molecular cloning, sequence, and tissue distribution of the human ubiquitin-activating enzyme E1. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88 (1), S. 258–262.
- Harris, Robin E.; Ashe, Hilary L. (2011): Cease and desist: modulating short-range Dpp signalling in the stem-cell niche. In: *EMBO reports* 12 (6), S. 519–526. DOI: 10.1038/embor.2011.80.
- Herold, Nadine; Will, Cindy L.; Wolf, Elmar; Kastner, Berthold; Urlaub, Henning; Lührmann, Reinhard (2009): Conservation of the protein composition and electron microscopy structure of *Drosophila melanogaster* and human spliceosomal complexes. In: *Molecular and cellular biology* 29 (1), S. 281–301. DOI: 10.1128/MCB.01415-08.
- Herranz, Héctor; Pérez, Lidia; Martín, Francisco A.; Milán, Marco (2008): A Wingless and Notch double-repression mechanism regulates G1-S transition in the *Drosophila* wing. In: *The EMBO journal* 27 (11), S. 1633–1645. DOI: 10.1038/emboj.2008.84.

- Hierro, Aitor; Sun, Ji; Rusnak, Alexander S.; Kim, Jaewon; Prag, Gali; Emr, Scott D.; Hurley, James H. (2004): Structure of the ESCRT-II endosomal trafficking complex. In: *Nature* 431 (7005), S. 221–225. DOI: 10.1038/nature02914.
- Hill, D. P.; Davis, A. P.; Richardson, J. E.; Corradi, J. P.; Ringwald, M.; Eppig, J. T.; Blake, J. A. (2001): Program description: Strategies for biological annotation of mammalian systems: implementing gene ontologies in mouse genome informatics. In: *Genomics* 74 (1), S. 121–128. DOI: 10.1006/geno.2001.6513.
- Hori, Kazuya; Sen, Anindya; Artavanis-Tsakonas, Spyros (2013): Notch signaling at a glance. In: *Journal of cell science* 126 (Pt 10), S. 2135–2140. DOI: 10.1242/jcs.127308.
- Hori, Kazuya; Sen, Anindya; Kirchhausen, Tom; Artavanis-Tsakonas, Spyros (2011): Synergy between the ESCRT-III complex and Deltex defines a ligand-independent Notch signal. In: *The Journal of cell biology* 195 (6), S. 1005–1015. DOI: 10.1083/jcb.201104146.
- Horne-Badovinac, Sally; Bilder, David (2005): Mass transit: epithelial morphogenesis in the *Drosophila* egg chamber. In: *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 232 (3), S. 559–574. DOI: 10.1002/dvdy.20286.
- Hoshijima, K.; Kohyama, A.; Watakabe, I.; Inoue, K.; Sakamoto, H.; Shimura, Y. (1995): Transcriptional regulation of the Sex-lethal gene by helix-loop-helix proteins. In: *Nucleic acids research* 23 (17), S. 3441–3448.
- Hsu, Hwei-Jan; LaFever, Leesa; Drummond-Barbosa, Daniela (2008): Diet controls normal and tumorous germline stem cells via insulin-dependent and -independent mechanisms in *Drosophila*. In: *Developmental biology* 313 (2), S. 700–712. DOI: 10.1016/j.ydbio.2007.11.006.
- Huang, A. M.; Rubin, G. M. (2000): A misexpression screen identifies genes that can modulate RAS1 pathway signaling in *Drosophila melanogaster*. In: *Genetics* 156 (3), S. 1219–1230.
- Hung, Hsiu-Cheng; Maurer, Christian; Kay, Steve A.; Weber, Frank (2007): Circadian transcription depends on limiting amounts of the transcription co-activator neJire/CBP. In: *The Journal of biological chemistry* 282 (43), S. 31349–31357. DOI: 10.1074/jbc.M702319200.
- Huotari, Jatta; Helenius, Ari (2011): Endosome maturation. In: *The EMBO journal* 30 (17), S. 3481–3500. DOI: 10.1038/emboj.2011.286.
- Huppert, S. S.; Jacobsen, T. L.; Muskavitch, M. A. (1997): Feedback regulation is central to Delta-Notch signalling required for *Drosophila* wing vein morphogenesis. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (17), S. 3283–3291.
- Hurd, Thomas Ryan; Liang, Feng-Xia; Lehmann, Ruth (2015): Curly Encodes Dual Oxidase, Which Acts with Heme Peroxidase Curly Su to Shape the Adult *Drosophila* Wing. In: *PLoS genetics* 11 (11), S. e1005625. DOI: 10.1371/journal.pgen.1005625.
- Hynes, R. O.; Zhao, Q. (2000): The evolution of cell adhesion. In: *The Journal of cell biology* 150 (2), S. F89–96.
- Ibrahim, Daniel M.; Biehs, Brian; Kornberg, Thomas B.; Klebes, Ansgar (2013): Microarray comparison of anterior and posterior *Drosophila* wing imaginal disc cells identifies novel wing genes. In: *G3 (Bethesda, Md.)* 3 (8), S. 1353–1362. DOI: 10.1534/g3.113.006569.

- Ignesti, Marilena; Barraco, Marilena; Nallamotheu, Gouthami; Woolworth, Julie A.; Duchi, Serena; Gargiulo, Giuseppe et al. (2014): Notch signaling during development requires the function of awd, the *Drosophila* homolog of human metastasis suppressor gene Nm23. In: *BMC biology* 12, S. 12. DOI: 10.1186/1741-7007-12-12.
- Inoue, H.; Imamura, T.; Ishidou, Y.; Takase, M.; Udagawa, Y.; Oka, Y. et al. (1998): Interplay of signal mediators of decapentaplegic (Dpp): molecular characterization of mothers against dpp, Medea, and daughters against dpp. In: *Molecular biology of the cell* 9 (8), S. 2145–2156.
- Ito, K.; Awano, W.; Suzuki, K.; Hiromi, Y.; Yamamoto, D. (1997): The *Drosophila* mushroom body is a quadruple structure of clonal units each of which contains a virtually identical set of neurons and glial cells. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (4), S. 761–771.
- Ito, T.; Levenstein, M. E.; Fyodorov, D. V.; Kutach, A. K.; Kobayashi, R.; Kadonaga, J. T. (1999): ACF consists of two subunits, Acf1 and ISWI, that function cooperatively in the ATP-dependent catalysis of chromatin assembly. In: *Genes & development* 13 (12), S. 1529–1539.
- Itoh, Motoyuki; Kim, Cheol-Hee; Palardy, Gregory; Oda, Takaya; Jiang, Yun-Jin; Maust, Donovan et al. (2003): Mind bomb is a ubiquitin ligase that is essential for efficient activation of Notch signaling by Delta. In: *Developmental cell* 4 (1), S. 67–82.
- Jaekel, Robert; Klein, Thomas (2006): The *Drosophila* Notch inhibitor and tumor suppressor gene lethal (2) giant discs encodes a conserved regulator of endosomal trafficking. In: *Developmental cell* 11 (5), S. 655–669. DOI: 10.1016/j.devcel.2006.09.019.
- Jagut, Marlène; Mihaila-Bodart, Ludivine; Molla-Herman, Anahi; Alin, Marie-Françoise; Lepesant, Jean-Antoine; Huynh, Jean-René (2013): A mosaic genetic screen for genes involved in the early steps of *Drosophila* oogenesis. In: *G3 (Bethesda, Md.)* 3 (3), S. 409–425. DOI: 10.1534/g3.112.004747.
- Jean, Steve; Cox, Sarah; Schmidt, Eric J.; Robinson, Fred L.; Kiger, Amy (2012): Sbf/MTMR13 coordinates PI(3)P and Rab21 regulation in endocytic control of cellular remodeling. In: *Molecular biology of the cell* 23 (14), S. 2723–2740. DOI: 10.1091/mbc.E12-05-0375.
- Jékely, Gáspár; Rørth, Pernille (2003): Hrs mediates downregulation of multiple signalling receptors in *Drosophila*. In: *EMBO reports* 4 (12), S. 1163–1168. DOI: 10.1038/sj.embor.7400019.
- Jiang, Xiaoyong; Xia, Laixin; Chen, Dongsheng; Yang, Yingyue; Huang, Haidong; Yang, Lele et al. (2008): Otefin, a nuclear membrane protein, determines the fate of germline stem cells in *Drosophila* via interaction with Smad complexes. In: *Developmental cell* 14 (4), S. 494–506. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.02.018.
- Jouvenet, Nolwenn (2012): Dynamics of ESCRT proteins. In: *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 69 (24), S. 4121–4133. DOI: 10.1007/s00018-012-1035-0.
- Kambris, Zakaria; Brun, Sylvain; Jang, In-Hwan; Nam, Hyuck-Jin; Romeo, Yves; Takahashi, Kuniaki et al. (2006): *Drosophila* immunity: a large-scale in vivo RNAi screen identifies five serine proteases required for Toll activation. In: *Current biology : CB* 16 (8), S. 808–813. DOI: 10.1016/j.cub.2006.03.020.
- Karouzou, Maria V.; Spyropoulos, Yannis; Iconomidou, Vassiliki A.; Cornman, R. S.; Hamodrakas, Stavros J.; Willis, Judith H. (2007): *Drosophila* cuticular proteins with the

- R&R Consensus: annotation and classification with a new tool for discriminating RR-1 and RR-2 sequences. In: *Insect biochemistry and molecular biology* 37 (8), S. 754–760. DOI: 10.1016/j.ibmb.2007.03.007.
- Kassis, J. A.; Noll, E.; VanSickle, E. P.; Odenwald, W. F.; Perrimon, N. (1992): Altering the insertional specificity of a *Drosophila* transposable element. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89 (5), S. 1919–1923.
- Katharina Schulz (2015): Analyse der Funktion der humanen LGDs und hLGD2MR in humanen Zellen und in *Drosophila melanogaster*. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.
- Katzmann, D. J.; Babst, M.; Emr, S. D. (2001): Ubiquitin-dependent sorting into the multivesicular body pathway requires the function of a conserved endosomal protein sorting complex, ESCRT-I. In: *Cell* 106 (2), S. 145–155.
- Kidd, D.; Raff, J. W. (1997): LK6, a short lived protein kinase in *Drosophila* that can associate with microtubules and centrosomes. In: *Journal of cell science* 110 (Pt 2), S. 209–219.
- Kiger, A. A.; Baum, B.; Jones, S.; Jones, M. R.; Coulson, A.; Echeverri, C.; Perrimon, N. (2003): A functional genomic analysis of cell morphology using RNA interference. In: *Journal of biology* 2 (4), S. 27. DOI: 10.1186/1475-4924-2-27.
- Kim, J.; Sebring, A.; Esch, J. J.; Kraus, M. E.; Vorwerk, K.; Magee, J.; Carroll, S. B. (1996): Integration of positional signals and regulation of wing formation and identity by *Drosophila* vestigial gene. In: *Nature* 382 (6587), S. 133–138. DOI: 10.1038/382133a0.
- Klein, T.; Arias, A. M. (1998): Interactions among Delta, Serrate and Fringe modulate Notch activity during *Drosophila* wing development. In: *Development (Cambridge, England)* 125 (15), S. 2951–2962.
- Klein, Thomas (2003): The tumour suppressor gene *l(2)giant discs* is required to restrict the activity of Notch to the dorsoventral boundary during *Drosophila* wing development. In: *Developmental biology* 255 (2), S. 313–333.
- Knoblich, J. A.; Sauer, K.; Jones, L.; Richardson, H.; Saint, R.; Lehner, C. F. (1994): Cyclin E controls S phase progression and its down-regulation during *Drosophila* embryogenesis is required for the arrest of cell proliferation. In: *Cell* 77 (1), S. 107–120.
- Komada, M.; Soriano, P. (1999): Hrs, a FYVE finger protein localized to early endosomes, is implicated in vesicular traffic and required for ventral folding morphogenesis. In: *Genes & development* 13 (11), S. 1475–1485.
- Koo, Bon-Kyoung; Yoon, Ki-Jun; Yoo, Kyeong-Won; Lim, Hyoung-Soo; Song, Ran; So, Ju-Hoon et al. (2005): Mind bomb-2 is an E3 ligase for Notch ligand. In: *The Journal of biological chemistry* 280 (23), S. 22335–22342. DOI: 10.1074/jbc.M501631200.
- Kramer, Joseph; Hawley, R. Scott (2003): The spindle-associated transmembrane protein Axs identifies a new family of transmembrane proteins in eukaryotes. In: *Cell cycle (Georgetown, Tex.)* 2 (3), S. 174–176.
- Krejčí, Alena; Bernard, Fred; Housden, Ben E.; Collins, Stephanie; Bray, Sarah J. (2009): Direct response to Notch activation: signaling crosstalk and incoherent logic. In: *Science signaling* 2 (55), S. ra1. DOI: 10.1126/scisignal.2000140.

- Krek, Wilhelm (2003): BTB proteins as henchmen of Cul3-based ubiquitin ligases. In: *Nature cell biology* 5 (11), S. 950–951. DOI: 10.1038/ncb1103-950.
- Krupp, Joshua J.; Yaich, Lauren E.; Wessells, Robert J.; Bodmer, Rolf (2005): Identification of genetic loci that interact with cut during *Drosophila* wing-margin development. In: *Genetics* 170 (4), S. 1775–1795. DOI: 10.1534/genetics.105.043125.
- Kwon, Matt Hyoung; Callaway, Heather; Zhong, Jim; Yedvobnick, Barry (2013): A targeted genetic modifier screen links the SWI2/SNF2 protein domino to growth and autophagy genes in *Drosophila melanogaster*. In: *G3 (Bethesda, Md.)* 3 (5), S. 815–825. DOI: 10.1534/g3.112.005496.
- Labrador, Juan Pablo; O'keefe, David; Yoshikawa, Shingo; McKinnon, Randall D.; Thomas, John B.; Bashaw, Greg J. (2005): The homeobox transcription factor even-skipped regulates netrin-receptor expression to control dorsal motor-axon projections in *Drosophila*. In: *Current biology : CB* 15 (15), S. 1413–1419. DOI: 10.1016/j.cub.2005.06.058.
- Lai, E. C.; Deblandre, G. A.; Kintner, C.; Rubin, G. M. (2001): *Drosophila* neuralized is a ubiquitin ligase that promotes the internalization and degradation of delta. In: *Developmental cell* 1 (6), S. 783–794.
- Lai, Eric C.; Roegiers, Fabrice; Qin, Xiaoli; Jan, Yuh Nung; Rubin, Gerald M. (2005): The ubiquitin ligase *Drosophila* Mind bomb promotes Notch signaling by regulating the localization and activity of Serrate and Delta. In: *Development (Cambridge, England)* 132 (10), S. 2319–2332. DOI: 10.1242/dev.01825.
- Langenbach; Jessica (2015): Funktionelle Analyse der Liquid Facets-abhängigen Endozytose von DSL-Liganden und Suche nach neuen Interaktionspartnern des Notch-Rezeptors. Masterarbeit. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.
- Larkin, M. K.; Holder, K.; Yost, C.; Giniger, E.; Ruohola-Baker, H. (1996): Expression of constitutively active Notch arrests follicle cells at a precursor stage during *Drosophila* oogenesis and disrupts the anterior-posterior axis of the oocyte. In: *Development (Cambridge, England)* 122 (11), S. 3639–3650.
- Lascu, I.; Chaffotte, A.; Limbourg-Bouchon, B.; Véron, M. (1992): A Pro/Ser substitution in nucleoside diphosphate kinase of *Drosophila melanogaster* (mutation killer of prune) affects stability but not catalytic efficiency of the enzyme. In: *The Journal of biological chemistry* 267 (18), S. 12775–12781.
- Lasko, P. (2000): The *drosophila melanogaster* genome: translation factors and RNA binding proteins. In: *The Journal of cell biology* 150 (2), S. F51-6.
- Laurençon, Anne; Purdy, Amanda; Sekelsky, Jeff; Hawley, R. Scott; Su, Tin Tin (2003): Phenotypic analysis of separation-of-function alleles of MEI-41, *Drosophila* ATM/ATR. In: *Genetics* 164 (2), S. 589–601.
- Le Borgne, Roland (2006): Regulation of Notch signalling by endocytosis and endosomal sorting. In: *Current opinion in cell biology* 18 (2), S. 213–222. DOI: 10.1016/j.ceb.2006.02.011.
- Le Borgne, Roland; Bardin, Allison; Schweisguth, François (2005a): The roles of receptor and ligand endocytosis in regulating Notch signaling. In: *Development (Cambridge, England)* 132 (8), S. 1751–1762. DOI: 10.1242/dev.01789.
- Le Borgne, Roland; Remaud, Sylvie; Hamel, Sophie; Schweisguth, François (2005b): Two distinct E3 ubiquitin ligases have complementary functions in the regulation of

- delta and serrate signaling in *Drosophila*. In: *PLoS biology* 3 (4), S. e96. DOI: 10.1371/journal.pbio.0030096.
- Le Roy, Christine; Wrana, Jeffrey L. (2005): Signaling and endocytosis: a team effort for cell migration. In: *Developmental cell* 9 (2), S. 167–168. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.07.007.
- Lee, H. H.; Frasch, M. (2000): Wingless effects mesoderm patterning and ectoderm segmentation events via induction of its downstream target sloppy paired. In: *Development (Cambridge, England)* 127 (24), S. 5497–5508.
- Letterio, J. J.; Roberts, A. B. (1998): Regulation of immune responses by TGF-beta. In: *Annual review of immunology* 16, S. 137–161. DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.137.
- Levine, Benjamin; Hackney, Jennifer F.; Bergen, Andrew; Dobens, Leonard; Truesdale, Angela (2010): Opposing interactions between *Drosophila* cut and the C/EBP encoded by slow border cells direct apical constriction and epithelial invagination. In: *Developmental biology* 344 (1), S. 196–209. DOI: 10.1016/j.ydbio.2010.04.030.
- Li, L.; Cohen, S. N. (1996): Tsg101: a novel tumor susceptibility gene isolated by controlled homozygous functional knockout of allelic loci in mammalian cells. In: *Cell* 85 (3), S. 319–329.
- Li, Ping; Peng, Jianjian; Hu, Jiangbo; Xu, Zhongxin; Xie, Wei; Yuan, Liudi (2011): Localized expression pattern of miR-184 in *Drosophila*. In: *Molecular biology reports* 38 (1), S. 355–358. DOI: 10.1007/s11033-010-0115-1.
- Lilly, M. A.; Cuevas, M. de; Spradling, A. C. (2000): Cyclin A associates with the fusome during germline cyst formation in the *Drosophila* ovary. In: *Developmental biology* 218 (1), S. 53–63. DOI: 10.1006/dbio.1999.9570.
- Lin, H.; Yue, L.; Spradling, A. C. (1994): The *Drosophila* fusome, a germline-specific organelle, contains membrane skeletal proteins and functions in cyst formation. In: *Development (Cambridge, England)* 120 (4), S. 947–956.
- Lin, Yuan; Kimpler, Lisa A.; Naismith, Teresa V.; Lauer, Joshua M.; Hanson, Phyllis I. (2005): Interaction of the mammalian endosomal sorting complex required for transport (ESCRT) III protein hSnf7-1 with itself, membranes, and the AAA+ ATPase SKD1. In: *The Journal of biological chemistry* 280 (13), S. 12799–12809. DOI: 10.1074/jbc.M413968200.
- Lindsley, D. L.; Zimm, G. G. (1990): The genome of *Drosophila melanogaster*. In: *Drosophila Information Service* 68, S. 1–382.
- Littler, Dene R.; Harrop, Stephen J.; Brown, Louise J.; Pankhurst, Greg J.; Mynott, Andrew V.; Luciani, Paolo et al. (2008): Comparison of vertebrate and invertebrate CLIC proteins: the crystal structures of *Caenorhabditis elegans* EXC-4 and *Drosophila melanogaster* DmCLIC. In: *Proteins* 71 (1), S. 364–378. DOI: 10.1002/prot.21704.
- Liu, Y.; Belote, J. M. (1995): Protein-protein interactions among components of the *Drosophila* primary sex determination signal. In: *Molecular & general genetics : MGG* 248 (2), S. 182–189.
- Lloyd, T. E.; Verstreken, P.; Ostrin, E. J.; Phillippi, A.; Lichtarge, O.; Bellen, H. J. (2000): A genome-wide search for synaptic vesicle cycle proteins in *Drosophila*. In: *Neuron* 26 (1), S. 45–50.

- López-Schier, H.; St Johnston, D. (2001): Delta signaling from the germ line controls the proliferation and differentiation of the somatic follicle cells during *Drosophila* oogenesis. In: *Genes & development* 15 (11), S. 1393–1405. DOI: 10.1101/gad.200901.
- Ludlam, William H.; Taylor, Matthew H.; Tanner, Kirk G.; Denu, John M.; Goodman, Richard H.; Smolik, Sarah M. (2002): The acetyltransferase activity of CBP is required for wingless activation and H4 acetylation in *Drosophila melanogaster*. In: *Molecular and cellular biology* 22 (11), S. 3832–3841.
- Luo, Yi; Haltiwanger, Robert S. (2005): O-fucosylation of notch occurs in the endoplasmic reticulum. In: *The Journal of biological chemistry* 280 (12), S. 11289–11294. DOI: 10.1074/jbc.M414574200.
- Lyga; Marvin (2013): Analyse der Funktion von mindbomb2 im Notch-Signalweg von *Drosophila melanogaster*. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.
- Macías-Silva, M.; Abdollah, S.; Hoodless, P. A.; Pirone, R.; Attisano, L.; Wrana, J. L. (1996): MADR2 is a substrate of the TGFbeta receptor and its phosphorylation is required for nuclear accumulation and signaling. In: *Cell* 87 (7), S. 1215–1224.
- Maier, Dieter (2006): Hairless: the ignored antagonist of the Notch signalling pathway. In: *Hereditas* 143 (2006), S. 212–221. DOI: 10.1111/j.2007.0018-0661.01971.x.
- Majumdar, A.; Nagaraj, R.; Banerjee, U. (1997): strawberry notch encodes a conserved nuclear protein that functions downstream of Notch and regulates gene expression along the developing wing margin of *Drosophila*. In: *Genes & development* 11 (10), S. 1341–1353.
- Marek, K. W.; Ng, N.; Fetter, R.; Smolik, S.; Goodman, C. S.; Davis, G. W. (2000): A genetic analysis of synaptic development: pre- and postsynaptic dCBP control transmitter release at the *Drosophila* NMJ. In: *Neuron* 25 (3), S. 537–547.
- Markgraf, Daniel F.; Peplowska, Karolina; Ungermann, Christian (2007): Rab cascades and tethering factors in the endomembrane system. In: *FEBS letters* 581 (11), S. 2125–2130. DOI: 10.1016/j.febslet.2007.01.090.
- Matias, Neuza Reis; Mathieu, Juliette; Huynh, Jean-René (2015): Abscission is regulated by the ESCRT-III protein shrub in *Drosophila* germline stem cells. In: *PLoS genetics* 11 (2), S. e1004653. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004653.
- Matsuda, Akio; Suzuki, Yutaka; Honda, Goichi; Muramatsu, Shuji; Matsuzaki, Osamu; Nagano, Yukiko et al. (2003): Large-scale identification and characterization of human genes that activate NF-kappaB and MAPK signaling pathways. In: *Oncogene* 22 (21), S. 3307–3318. DOI: 10.1038/sj.onc.1206406.
- Matsui, Asuka; Tran, May; Yoshida, Aya C.; Kikuchi, Satomi S.; U, Mami; Ogawa, Masaharu; Shimogori, Tomomi (2013): BTBD3 controls dendrite orientation toward active axons in mammalian neocortex. In: *Science (New York, N.Y.)* 342 (6162), S. 1114–1118. DOI: 10.1126/science.1244505.
- Matsuno, K.; Diederich, R. J.; Go, M. J.; Blaumueller, C. M.; Artavanis-Tsakonas, S. (1995): Deltex acts as a positive regulator of Notch signaling through interactions with the Notch ankyrin repeats. In: *Development (Cambridge, England)* 121 (8), S. 2633–2644.
- Matsuno, Kenji; Ito, Mikiko; Hori, Kazuya; Miyashita, Fumiyasu; Suzuki, Satoshi; Kishi, Noriyuki et al. (2002): Involvement of a proline-rich motif and RING-H2 finger

- of Deltex in the regulation of Notch signaling. In: *Development (Cambridge, England)* 129 (4), S. 1049–1059.
- Mayor, S.; Presley, J. F.; Maxfield, F. R. (1993): Sorting of membrane components from endosomes and subsequent recycling to the cell surface occurs by a bulk flow process. In: *The Journal of cell biology* 121 (6), S. 1257–1269.
- Mazaleyrat, Sabine L.; Fostier, Maggy; Wilkin, Marian B.; Aslam, Hanna; Evans, Dana A. P.; Cornell, Michael; Baron, Martin (2003): Down-regulation of Notch target gene expression by Suppressor of dltex. In: *Developmental biology* 255 (2), S. 363–372.
- McGrath, J. P.; Jentsch, S.; Varshavsky, A. (1991): UBA 1: an essential yeast gene encoding ubiquitin-activating enzyme. In: *The EMBO journal* 10 (1), S. 227–236.
- McMillan, Brian J.; Schnute, Björn; Ohlenhard, Nadja; Zimmerman, Brandon; Miles, Laura; Beglova, Natalia et al. (2015): A tail of two sites: a bipartite mechanism for recognition of notch ligands by mind bomb E3 ligases. In: *Molecular cell* 57 (5), S. 912–924. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.01.019.
- Mellman, I. (1996): Membranes and sorting. In: *Current opinion in cell biology* 8 (4), S. 497–498.
- Merdes, G. (1998): Drosophila melanogaster mRNA for the coatomer beta-prime subunit. In: *GenBank/EMBL/DDBJ sequence record*.
- Metzger, Meredith B.; Hristova, Ventzislava A.; Weissman, Allan M. (2012): HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance. In: *Journal of cell science* 125 (Pt 3), S. 531–537. DOI: 10.1242/jcs.091777.
- Micchelli, C. A.; Rulifson, E. J.; Blair, S. S. (1997): The function and regulation of cut expression on the wing margin of Drosophila: Notch, Wingless and a dominant negative role for Delta and Serrate. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (8), S. 1485–1495.
- Michel, T.; Reichhart, J. M.; Hoffmann, J. A.; Royet, J. (2001): Drosophila Toll is activated by Gram-positive bacteria through a circulating peptidoglycan recognition protein. In: *Nature* 414 (6865), S. 756–759. DOI: 10.1038/414756a.
- Moberg, Kenneth H.; Schelble, Suzanne; Burdick, Sharon K.; Hariharan, Iswar K. (2005): Mutations in erupted, the Drosophila ortholog of mammalian tumor susceptibility gene 101, elicit non-cell-autonomous overgrowth. In: *Developmental cell* 9 (5), S. 699–710. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.09.018.
- Molnar, Cristina; López-Varea, Ana; Hernández, Rosario; Celis, Jose F. de (2006): A gain-of-function screen identifying genes required for vein formation in the Drosophila melanogaster wing. In: *Genetics* 174 (3), S. 1635–1659. DOI: 10.1534/genetics.106.061283.
- Morawa, Kim Sara (2012): Analyse der Funktion der Mitglieder der Lgd-Proteinfamilie. Masterarbeit. Ruhr-Universität, Bochum. Institut für Genetik.
- Morawa, Kim Sara; Schneider, Markus; Klein, Thomas (2015): Lgd regulates the activity of the BMP/Dpp signalling pathway during Drosophila oogenesis. In: *Development (Cambridge, England)* 142 (7), S. 1325–1335. DOI: 10.1242/dev.112961.
- Morawe, Tobias; Honemann-Capito, Mona; Stein, Walter von; Wodarz, Andreas (2011): Loss of the extraproteasomal ubiquitin receptor Rings lost impairs ring canal growth in Drosophila oogenesis. In: *The Journal of cell biology* 193 (1), S. 71–80. DOI: 10.1083/jcb.201009142.

- Morgan and Bridges: Sex-linked inheritance in *Drosophila*. Series: Carnegie Institution of Washington publication 237 (1916).
- Mount, S. M.; Salz, H. K. (2000): Pre-messenger RNA processing factors in the *Drosophila* genome. In: *The Journal of cell biology* 150 (2), S. F37-44.
- Mourikis, Philippos; Lake, Robert J.; Firnhaber, Christopher B.; DeDecker, Brian S. (2010): Modifiers of notch transcriptional activity identified by genome-wide RNAi. In: *BMC developmental biology* 10, S. 107. DOI: 10.1186/1471-213X-10-107.
- Mousavi, Seyed Ali; Malerød, Lene; Berg, Trond; Kjekken, Rune (2004): Clathrin-dependent endocytosis. In: *The Biochemical journal* 377 (Pt 1), S. 1–16. DOI: 10.1042/BJ20031000.
- Mueller, J. L.; Ravi Ram, K.; McGraw, L. A.; Bloch Qazi, M. C.; Siggia, E. D.; Clark, A. G. et al. (2005): Cross-species comparison of *Drosophila* male accessory gland protein genes. In: *Genetics* 171 (1), S. 131–143. DOI: 10.1534/genetics.105.043844.
- Mullor, J. L.; Calleja, M.; Capdevila, J.; Guerrero, I. (1997): Hedgehog activity, independent of decapentaplegic, participates in wing disc patterning. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (6), S. 1227–1237.
- Murphy, A. M.; Lee, T.; Andrews, C. M.; Shilo, B. Z.; Montell, D. J. (1995): The breathless FGF receptor homolog, a downstream target of *Drosophila* C/EBP in the developmental control of cell migration. In: *Development (Cambridge, England)* 121 (8), S. 2255–2263.
- Muzioł, Tadeusz; Pineda-Molina, Estela; Ravelli, Raimond B.; Zamborlini, Alessia; Usami, Yoshiko; Göttliger, Heinrich; Weissenhorn, Winfried (2006): Structural basis for budding by the ESCRT-III factor CHMP3. In: *Developmental cell* 10 (6), S. 821–830. DOI: 10.1016/j.devcel.2006.03.013.
- Nagel, Anja C.; Krejci, Alena; Tenin, Gennady; Bravo-Patiño, Alejandro; Bray, Sarah; Maier, Dieter; Preiss, Anette (2005): Hairless-mediated repression of notch target genes requires the combined activity of Groucho and CtBP corepressors. In: *Molecular and cellular biology* 25 (23), S. 10433–10441. DOI: 10.1128/MCB.25.23.10433-10441.2005.
- Nakamura, Akito; Naito, Mikihiro; Tsuruo, Takashi; Fujita, Naoya (2008): Freud-1/Aki1, a novel PDK1-interacting protein, functions as a scaffold to activate the PDK1/Akt pathway in epidermal growth factor signaling. In: *Molecular and cellular biology* 28 (19), S. 5996–6009. DOI: 10.1128/MCB.00114-08.
- Narayanan, R.; Ramaswami, M. (2001): Endocytosis in *Drosophila*: progress, possibilities, prognostications. In: *Experimental cell research* 271 (1), S. 28–35. DOI: 10.1006/excr.2001.5370.
- Narbonne-Reveau, Karine; Besse, Florence; Lamour-Isnard, Claudie; Busson, Denise; Pret, Anne-Marie (2006): fused regulates germline cyst mitosis and differentiation during *Drosophila* oogenesis. In: *Mechanisms of development* 123 (3), S. 197–209. DOI: 10.1016/j.mod.2006.01.001.
- Nellen, D.; Affolter, M.; Basler, K. (1994): Receptor serine/threonine kinases implicated in the control of *Drosophila* body pattern by decapentaplegic. In: *Cell* 78 (2), S. 225–237.
- Nellen, D.; Burke, R.; Struhl, G.; Basler, K. (1996): Direct and long-range action of a DPP morphogen gradient. In: *Cell* 85 (3), S. 357–368.

- Neul, J. L.; Ferguson, E. L. (1998): Spatially restricted activation of the SAX receptor by SCW modulates DPP/TKV signaling in *Drosophila* dorsal-ventral patterning. In: *Cell* 95 (4), S. 483–494.
- Neumann, C. J.; Cohen, S. M. (1996): A hierarchy of cross-regulation involving Notch, wingless, vestigial and cut organizes the dorsal/ventral axis of the *Drosophila* wing. In: *Development (Cambridge, England)* 122 (11), S. 3477–3485.
- Neumüller, Ralph A.; Richter, Constance; Fischer, Anja; Novatchkova, Maria; Neumüller, Klaus G.; Knoblich, Juergen A. (2011): Genome-wide analysis of self-renewal in *Drosophila* neural stem cells by transgenic RNAi. In: *Cell stem cell* 8 (5), S. 580–593. DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.022.
- Newfeld, S. J.; Mehra, A.; Singer, M. A.; Wrana, J. L.; Attisano, L.; Gelbart, W. M. (1997): Mothers against dpp participates in a DDP/TGF-beta responsive serine-threonine kinase signal transduction cascade. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (16), S. 3167–3176.
- Nguyen, Hanh T.; Voza, Francesca; Ezzeddine, Nader; Frasch, Manfred (2007): *Drosophila* mind bomb2 is required for maintaining muscle integrity and survival. In: *The Journal of cell biology* 179 (2), S. 219–227. DOI: 10.1083/jcb.200708135.
- Nielsen, J.; Cilius Nielsen, F.; Kragh Jakobsen, R.; Christiansen, J. (2000): The biphasic expression of IMP/Vg1-RBP is conserved between vertebrates and *Drosophila*. In: *Mechanisms of development* 96 (1), S. 129–132.
- Nüsslein-Volhard, C.; Wieschaus, E. (1980): Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. In: *Nature* 287 (5785), S. 795–801.
- Ooi, C. E.; Moreira, J. E.; Dell'Angelica, E. C.; Poy, G.; Wassarman, D. A.; Bonifacino, J. S. (1997): Altered expression of a novel adaptin leads to defective pigment granule biogenesis in the *Drosophila* eye color mutant garnet. In: *The EMBO journal* 16 (15), S. 4508–4518. DOI: 10.1093/emboj/16.15.4508.
- Ou, Xiao-Ming; Lemonde, Sylvie; Jafar-Nejad, Hamed; Bown, Christopher D.; Goto, Aya; Rogaeva, Anastasia; Albert, Paul R. (2003): Freud-1: A neuronal calcium-regulated repressor of the 5-HT1A receptor gene. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 23 (19), S. 7415–7425.
- Overstreet, Erin; Fitch, Erin; Fischer, Janice A. (2004): Fat facets and Liquid facets promote Delta endocytosis and Delta signaling in the signaling cells. In: *Development (Cambridge, England)* 131 (21), S. 5355–5366. DOI: 10.1242/dev.01434.
- Pan, D.; Rubin, G. M. (1997): Kuzbanian controls proteolytic processing of Notch and mediates lateral inhibition during *Drosophila* and vertebrate neurogenesis. In: *Cell* 90 (2), S. 271–280.
- Parks, A. L.; Klueg, K. M.; Stout, J. R.; Muskavitch, M. A. (2000): Ligand endocytosis drives receptor dissociation and activation in the Notch pathway. In: *Development (Cambridge, England)* 127 (7), S. 1373–1385.
- Pennetta, Giuseppa; Hiesinger, Peter Robin; Fabian-Fine, Ruth; Meinertzhagen, Ian A.; Bellen, Hugo J. (2002): *Drosophila* VAP-33A directs bouton formation at neuromuscular junctions in a dosage-dependent manner. In: *Neuron* 35 (2), S. 291–306.
- Phuong Thao, Dang Thi; Ida, Hiroyuki; Yoshida, Hideki; Yamaguchi, Masamitsu (2006): Identification of the *Drosophila* skpA gene as a novel target of the transcription

- factor DREF. In: *Experimental cell research* 312 (18), S. 3641–3650. DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.08.005.
- Pi, Haiwei; Huang, Yi-Chun; Chen, I-Chun; Lin, Chung-De; Yeh, Hsiao-Fong; Pai, Li-Mei (2011): Identification of 11-amino acid peptides that disrupt Notch-mediated processes in *Drosophila*. In: *Journal of biomedical science* 18, S. 42. DOI: 10.1186/1423-0127-18-42.
- Pickart, Cecile M.; Eddins, Michael J. (2004): Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. In: *Biochimica et biophysica acta* 1695 (1-3), S. 55–72. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2004.09.019.
- Pircs, Karolina; Nagy, Peter; Varga, Agnes; Venkei, Zsolt; Erdi, Balazs; Hegedus, Krisztina; Juhasz, Gabor (2012): Advantages and limitations of different p62-based assays for estimating autophagic activity in *Drosophila*. In: *PloS one* 7 (8), S. e44214. DOI: 10.1371/journal.pone.0044214.
- Pitsouli, Chrysoula; Delidakis, Christos (2005): The interplay between DSL proteins and ubiquitin ligases in Notch signaling. In: *Development (Cambridge, England)* 132 (18), S. 4041–4050. DOI: 10.1242/dev.01979.
- Pongs, O.; Lindemeier, J.; Zhu, X. R.; Theil, T.; Engelkamp, D.; Krah-Jentgens, I. et al. (1993): Frequenin--a novel calcium-binding protein that modulates synaptic efficacy in the *Drosophila* nervous system. In: *Neuron* 11 (1), S. 15–28.
- Ponting, C. P.; Mott, R.; Bork, P.; Copley, R. R. (2001): Novel protein domains and repeats in *Drosophila melanogaster*: insights into structure, function, and evolution. In: *Genome research* 11 (12), S. 1996–2008. DOI: 10.1101/gr.198701.
- Poodry, C. A. (1990): shibire, a neurogenic mutant of *Drosophila*. In: *Developmental biology* 138 (2), S. 464–472.
- Radtke, Freddy; MacDonald, H. Robson; Tacchini-Cottier, Fabienne (2013): Regulation of innate and adaptive immunity by Notch. In: *Nature reviews. Immunology* 13 (6), S. 427–437. DOI: 10.1038/nri3445.
- Rafel, Neus; Milán, Marco (2008): Notch signalling coordinates tissue growth and wing fate specification in *Drosophila*. In: *Development (Cambridge, England)* 135 (24), S. 3995–4001. DOI: 10.1242/dev.027789.
- Raiborg, C.; Bache, K. G.; Mehlum, A.; Stenmark, H. (2001): Function of Hrs in endocytic trafficking and signalling. In: *Biochemical Society transactions* 29 (Pt 4), S. 472–475.
- Rajagopalan, S.; Nicolas, E.; Vivancos, V.; Berger, J.; Dickson, B. J. (2000): Crossing the midline: roles and regulation of Robo receptors. In: *Neuron* 28 (3), S. 767–777.
- Ravikumar, T. S.; Allen, J. D.; Bothe, A.; Steele, G. (1989): Splenectomy. The treatment of choice for human immunodeficiency virus-related immune thrombocytopenia? In: *Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960)* 124 (5), S. 625–628.
- Rink, Jochen; Ghigo, Eric; Kalaidzidis, Yannis; Zerial, Marino (2005): Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. In: *Cell* 122 (5), S. 735–749. DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.043.
- Rodahl, Lina M.; Stuffers, Susanne; Lobert, Viola H.; Stenmark, Harald (2009): The role of ESCRT proteins in attenuation of cell signalling. In: *Biochemical Society transactions* 37 (Pt 1), S. 137–142. DOI: 10.1042/BST0370137.

- Rolls, Melissa M.; Satoh, Daisuke; Clyne, Peter J.; Henner, Astra L.; Uemura, Tadashi; Doe, Chris Q. (2007): Polarity and intracellular compartmentalization of *Drosophila* neurons. In: *Neural development* 2, S. 7. DOI: 10.1186/1749-8104-2-7.
- Romero-Calderón, Rafael; Shome, Ratula M.; Simon, Anne F.; Daniels, Richard W.; DiAntonio, Aaron; Krantz, David E. (2007): A screen for neurotransmitter transporters expressed in the visual system of *Drosophila melanogaster* identifies three novel genes. In: *Developmental neurobiology* 67 (5), S. 550–569. DOI: 10.1002/dneu.20342.
- Roote, John; Russell, Steven (2012): Toward a complete *Drosophila* deficiency kit. In: *Genome biology* 13 (3), S. 149. DOI: 10.1186/gb-2012-13-3-149.
- Ross, Jeremy; Jiang, Haobo; Kanost, Michael R.; Wang, Yang (2003): Serine proteases and their homologs in the *Drosophila melanogaster* genome: an initial analysis of sequence conservation and phylogenetic relationships. In: *Gene* 304, S. 117–131.
- Rulifson, E. J.; Blair, S. S. (1995): Notch regulates wingless expression and is not required for reception of the paracrine wingless signal during wing margin neurogenesis in *Drosophila*. In: *Development (Cambridge, England)* 121 (9), S. 2813–2824.
- Ryoo, Hyung Don; Bergmann, Andreas; Gonen, Hedva; Ciechanover, Aaron; Steller, Hermann (2002): Regulation of *Drosophila* IAP1 degradation and apoptosis by reaper and ubcD1. In: *Nature cell biology* 4 (6), S. 432–438. DOI: 10.1038/ncb795.
- Saj, Abil; Arziman, Zeynep; Stempfle, Denise; van Belle, Werner; Sauder, Ursula; Horn, Thomas et al. (2010): A combined ex vivo and in vivo RNAi screen for notch regulators in *Drosophila* reveals an extensive notch interaction network. In: *Developmental cell* 18 (5), S. 862–876. DOI: 10.1016/j.devcel.2010.03.013.
- Saksena, Suraj; Emr, Scott D. (2009): ESCRTs and human disease. In: *Biochemical Society transactions* 37 (Pt 1), S. 167–172. DOI: 10.1042/BST0370167.
- Saksena, Suraj; Wahlman, Judit; Teis, David; Johnson, Arthur E.; Emr, Scott D. (2009): Functional reconstitution of ESCRT-III assembly and disassembly. In: *Cell* 136 (1), S. 97–109. DOI: 10.1016/j.cell.2008.11.013.
- Sallé, Jérémy; Campbell, Shelagh D.; Gho, Michel; Audibert, Agnès (2012): CycA is involved in the control of endoreplication dynamics in the *Drosophila* bristle lineage. In: *Development (Cambridge, England)* 139 (3), S. 547–557. DOI: 10.1242/dev.069823.
- Sampson, Christopher J.; Valanne, Susanna; Fauvarque, Marie-Odile; Hultmark, Dan; Rämets, Mika; Williams, Michael J. (2012): The RhoGEF Zizimin-related acts in the *Drosophila* cellular immune response via the Rho GTPases Rac2 and Cdc42. In: *Developmental and comparative immunology* 38 (1), S. 160–168. DOI: 10.1016/j.dci.2012.05.004.
- Santiago-Martínez, Edgardo; Soplop, Nadine H.; Patel, Rajesh; Kramer, Sunita G. (2008): Repulsion by Slit and Roundabout prevents Shotgun/E-cadherin-mediated cell adhesion during *Drosophila* heart tube lumen formation. In: *The Journal of cell biology* 182 (2), S. 241–248. DOI: 10.1083/jcb.200804120.
- Sardiello, Marco; Licciulli, Flavio; Catalano, Domenico; Attimonelli, Marcella; Caggese, Corrado (2003): MitoDrome: a database of *Drosophila melanogaster* nuclear genes encoding proteins targeted to the mitochondrion. In: *Nucleic acids research* 31 (1), S. 322–324.

- Satyaki, P. R. V.; Cuykendall, Tawny N.; Wei, Kevin H-C; Brideau, Nicholas J.; Kwak, Hojoong; Aruna, S. et al. (2014): The Hmr and Lhr hybrid incompatibility genes suppress a broad range of heterochromatic repeats. In: *PLoS genetics* 10 (3), S. e1004240. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004240.
- Schleich, Sibylle; Strassburger, Katrin; Janiesch, Philipp Christoph; Koledachkina, Tatyana; Miller, Katharine K.; Haneke, Katharina et al. (2014): DENR-MCT-1 promotes translation re-initiation downstream of uORFs to control tissue growth. In: *Nature* 512 (7513), S. 208–212. DOI: 10.1038/nature13401.
- Schneider; Markus Hubertus (2012): Die Analyse der Funktion des Tumorsuppressors Lethal (2) giant discs(Lgd) während der Oogenese und die Analyse der Determination der sensorischen Vorläuferzellen im peripheren Nervensystem von *Drosophila melanogaster*. Dissertation. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.
- Schneider, Markus; Troost, Tobias; Grawe, Ferdi; Martinez-Arias, Alfonso; Klein, Thomas (2013): Activation of Notch in Lgd mutant cells requires the fusion of late endosomes with the lysosome. In: *Journal of cell science* 126 (Pt 2), S. 645–656. DOI: 10.1242/jcs.116590.
- Schnepp, B.; Grumblin, G.; Donaldson, T.; Simcox, A. (1996): Vein is a novel component in the *Drosophila* epidermal growth factor receptor pathway with similarity to the neuregulins. In: *Genes & development* 10 (18), S. 2302–2313.
- Schnute, Björn (2013): Charakterisierung zur Funktion des Ubiquitin-konjugierenden Enzyms Ect2 (UbcD1) als Regulator des Notch-Signalweges und Untersuchung der Ubiquitinierungs-abhängigen Internalisierung des Notch-Rezeptors in *Drosophila melanogaster*. Masterarbeit. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf. Institut für Genetik.
- Schulman, Brenda A.; Harper, J. Wade (2009): Ubiquitin-like protein activation by E1 enzymes: the apex for downstream signalling pathways. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 10 (5), S. 319–331. DOI: 10.1038/nrm2673.
- Schütt, C.; Nöthiger, R. (2000): Structure, function and evolution of sex-determining systems in Dipteran insects. In: *Development (Cambridge, England)* 127 (4), S. 667–677.
- Scita, Giorgio; Di Fiore, Pier Paolo (2010): The endocytic matrix. In: *Nature* 463 (7280), S. 464–473. DOI: 10.1038/nature08910.
- Scott, Anna; Gaspar, Jason; Stuchell-Brereton, Melissa D.; Alam, Steven L.; Skalicky, Jack J.; Sundquist, Wesley I. (2005): Structure and ESCRT-III protein interactions of the MIT domain of human VPS4A. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (39), S. 13813–13818. DOI: 10.1073/pnas.0502165102.
- Segal, D.; Gelbart, W. M. (1985): Shortvein, a new component of the decapentaplegic gene complex in *Drosophila melanogaster*. In: *Genetics* 109 (1), S. 119–143.
- Sepp, Katharine J.; Hong, Pengyu; Lizarraga, Sofia B.; Liu, Judy S.; Mejia, Luis A.; Walsh, Christopher A.; Perrimon, Norbert (2008): Identification of neural outgrowth genes using genome-wide RNAi. In: *PLoS genetics* 4 (7), S. e1000111. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000111.
- Seugnet, L.; Simpson, P.; Haenlin, M. (1997): Requirement for dynamin during Notch signaling in *Drosophila* neurogenesis. In: *Developmental biology* 192 (2), S. 585–598. DOI: 10.1006/dbio.1997.8723.

- Shidlovskii, Yu V.; Krasnov, A. N.; Nikolenko, Yu V.; Georgieva, S. G.; Nabirochkina, E. N. (2005): Characteristics of a novel activator of RNA polymerase II transcription. In: *Doklady. Biochemistry and biophysics* 402, S. 204–206.
- Song, Xiaoqing; Wong, Marco D.; Kawase, Eihachiro; Xi, Rongwen; Ding, Bee C.; McCarthy, John J.; Xie, Ting (2004): Bmp signals from niche cells directly repress transcription of a differentiation-promoting gene, bag of marbles, in germline stem cells in the *Drosophila* ovary. In: *Development (Cambridge, England)* 131 (6), S. 1353–1364. DOI: 10.1242/dev.01026.
- Sotillos, S.; Roch, F.; Campuzano, S. (1997): The metalloprotease-disintegrin Kuzbanian participates in Notch activation during growth and patterning of *Drosophila* imaginal discs. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (23), S. 4769–4779.
- Sotillos, Sol; Celis, Jose F. de (2005): Interactions between the Notch, EGFR, and decapentaplegic signaling pathways regulate vein differentiation during *Drosophila* pupal wing development. In: *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 232 (3), S. 738–752. DOI: 10.1002/dvdy.20270.
- Spencer, F. A.; Hoffmann, F. M.; Gelbart, W. M. (1982): Decapentaplegic: a gene complex affecting morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. In: *Cell* 28 (3), S. 451–461.
- Spradling, A. C.; Cuevas, M. de; Drummond-Barbosa, D.; Keyes, L.; Lilly, M.; Pepling, M.; Xie, T. (1997): The *Drosophila* germarium: stem cells, germ line cysts, and oocytes. In: *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* 62, S. 25–34.
- Spradling, A. C.; Nystul, T.; Lighthouse, D.; Morris, L.; Fox, D.; Cox, R. et al. (2008): Stem cells and their niches: integrated units that maintain *Drosophila* tissues. In: *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* 73, S. 49–57. DOI: 10.1101/sqb.2008.73.023.
- Sprenger, F.; Yakubovich, N.; O'Farrell, P. H. (1997): S-phase function of *Drosophila* cyclin A and its downregulation in G1 phase. In: *Current biology : CB* 7 (7), S. 488–499.
- St Johnston, Daniel (2002): The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*. In: *Nature reviews. Genetics* 3 (3), S. 176–188. DOI: 10.1038/nrg751.
- Steiner, Håkan (2004): Peptidoglycan recognition proteins: on and off switches for innate immunity. In: *Immunological reviews* 198, S. 83–96.
- Strigini, M.; Cohen, S. M. (1997): A Hedgehog activity gradient contributes to AP axial patterning of the *Drosophila* wing. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (22), S. 4697–4705.
- Strooper, B. de; Annaert, W.; Cupers, P.; Saftig, P.; Craessaerts, K.; Mumm, J. S. et al. (1999): A presenilin-1-dependent gamma-secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain. In: *Nature* 398 (6727), S. 518–522. DOI: 10.1038/19083.
- Struhl, G.; Basler, K. (1993): Organizing activity of wingless protein in *Drosophila*. In: *Cell* 72 (4), S. 527–540.
- Struhl, G.; Greenwald, I. (1999): Presenilin is required for activity and nuclear access of Notch in *Drosophila*. In: *Nature* 398 (6727), S. 522–525. DOI: 10.1038/19091.
- Stuart, L. M.; Boulais, J.; Charriere, G. M.; Hennessy, E. J.; Brunet, S.; Jutras, I. et al. (2007): A systems biology analysis of the *Drosophila* phagosome. In: *Nature* 445 (7123), S. 95–101. DOI: 10.1038/nature05380.

- Sturgeon, Morgan; Davis, Dustin; Albers, Amanda; Beatty, Derek; Austin, Rik; Ferguson, Matt et al. (2016): The Notch ligand E3 ligase, Mind Bomb1, regulates glutamate receptor localization in *Drosophila*. In: *Molecular and cellular neurosciences* 70, S. 11–21. DOI: 10.1016/j.mcn.2015.11.004.
- Sturtevant, M. A.; Biehs, B.; Marin, E.; Bier, E. (1997): The spalt gene links the A/P compartment boundary to a linear adult structure in the *Drosophila* wing. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (1), S. 21–32.
- Sturtevant, M. A.; Roark, M.; Bier, E. (1993): The *Drosophila* rhomboid gene mediates the localized formation of wing veins and interacts genetically with components of the EGF-R signaling pathway. In: *Genes & development* 7 (6), S. 961–973.
- Sun, Jianjun; Deng, Wu-Min (2005): Notch-dependent downregulation of the homeodomain gene cut is required for the mitotic cycle/endocycle switch and cell differentiation in *Drosophila* follicle cells. In: *Development (Cambridge, England)* 132 (19), S. 4299–4308. DOI: 10.1242/dev.02015.
- Sun, Jianjun; Deng, Wu-Min (2007): Hindsight mediates the role of notch in suppressing hedgehog signaling and cell proliferation. In: *Developmental cell* 12 (3), S. 431–442. DOI: 10.1016/j.devcel.2007.02.003.
- Sweeney, Neal T.; Brenman, Jay E.; Jan, Yuh Nung; Gao, Fen-Biao (2006): The coiled-coil protein shrub controls neuronal morphogenesis in *Drosophila*. In: *Current biology : CB* 16 (10), S. 1006–1011. DOI: 10.1016/j.cub.2006.03.067.
- Szabad, J.; Jursnich, V. A.; Bryant, P. J. (1991): Requirement for cell-proliferation control genes in *Drosophila* oogenesis. In: *Genetics* 127 (3), S. 525–533.
- Takasugi, Nobumasa; Tomita, Taisuke; Hayashi, Ikuo; Tsuruoka, Makiko; Niimura, Manabu; Takahashi, Yasuko et al. (2003): The role of presenilin cofactors in the gamma-secretase complex. In: *Nature* 422 (6930), S. 438–441. DOI: 10.1038/nature01506.
- Tang, Shaogeng; Henne, W. Mike; Borbat, Peter P.; Buchkovich, Nicholas J.; Freed, Jack H.; Mao, Yuxin et al. (2015): Structural basis for activation, assembly and membrane binding of ESCRT-III Snf7 filaments. In: *eLife* 4. DOI: 10.7554/eLife.12548.
- Temme, Claudia; Zhang, Lianbing; Kremmer, Elisabeth; Ihling, Christian; Chartier, Aymeric; Sinz, Andrea et al. (2010): Subunits of the *Drosophila* CCR4-NOT complex and their roles in mRNA deadenylation. In: *RNA (New York, N.Y.)* 16 (7), S. 1356–1370. DOI: 10.1261/rna.2145110.
- Teo, Hsiangling; Perisic, Olga; González, Beatriz; Williams, Roger L. (2004): ESCRT-II, an endosome-associated complex required for protein sorting: crystal structure and interactions with ESCRT-III and membranes. In: *Developmental cell* 7 (4), S. 559–569. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.09.003.
- Terman, Jonathan R.; Kolodkin, Alex L. (2004): Nrvy links protein kinase a to plexin-mediated semaphorin repulsion. In: *Science (New York, N.Y.)* 303 (5661), S. 1204–1207. DOI: 10.1126/science.1092121.
- Terracol, R.; Lengyel, J. A. (1994): The thick veins gene of *Drosophila* is required for dorsoventral polarity of the embryo. In: *Genetics* 138 (1), S. 165–178.
- Terriente-Félix, Ana; López-Varea, Ana; Celis, Jose F. de (2010): Identification of genes affecting wing patterning through a loss-of-function mutagenesis screen and

- characterization of med15 function during wing development. In: *Genetics* 185 (2), S. 671–684. DOI: 10.1534/genetics.109.113670.
- Thomae, Andreas W.; Schade, Georg O. M.; Padeken, Jan; Borath, Marc; Vetter, Irene; Kremmer, Elisabeth et al. (2013): A pair of centromeric proteins mediates reproductive isolation in *Drosophila* species. In: *Developmental cell* 27 (4), S. 412–424. DOI: 10.1016/j.devcel.2013.10.001.
- Thompson, Barry J.; Mathieu, Juliette; Sung, Hsin-Ho; Loeser, Eva; Rørth, Pernille; Cohen, Stephen M. (2005): Tumor suppressor properties of the ESCRT-II complex component Vps25 in *Drosophila*. In: *Developmental cell* 9 (5), S. 711–720. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.09.020.
- Tilney, Lewis G.; Connelly, Patricia S.; Ruggiero, Linda; Vranich, Kelly A.; Guild, Gregory M. (2003): Actin filament turnover regulated by cross-linking accounts for the size, shape, location, and number of actin bundles in *Drosophila* bristles. In: *Molecular biology of the cell* 14 (10), S. 3953–3966. DOI: 10.1091/mbc.E03-03-0158.
- Torrie, Leah S.; Radford, Jonathan C.; Southall, Tony D.; Kean, Laura; Dinsmore, Andrew J.; Davies, Shireen A.; Dow, Julian A. T. (2004): Resolution of the insect ouabain paradox. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (37), S. 13689–13693. DOI: 10.1073/pnas.0403087101.
- Troost, Tobias; Jaekel, Sandra; Ohlenhard, Nadja; Klein, Thomas (2012): The tumour suppressor Lethal (2) giant discs is required for the function of the ESCRT-III component Shrub/CHMP4. In: *Journal of cell science* 125 (Pt 3), S. 763–776. DOI: 10.1242/jcs.097261.
- Trowbridge, I. S. (1993): Dynamin, SH3 domains and endocytosis. In: *Current biology* : CB 3 (11), S. 773–775.
- Tseng, Li-Chuan; Zhang, Chengjin; Cheng, Chun-Mei; Xu, Haoying; Hsu, Chia-Hao; Jiang, Yun-Jin (2014): New classes of mind bomb-interacting proteins identified from yeast two-hybrid screens. In: *PloS one* 9 (4), S. e93394. DOI: 10.1371/journal.pone.0093394.
- Tsuda, Leo; Nagaraj, Raghavendra; Zipursky, S. Lawrence; Banerjee, Utpal (2002): An EGFR/Ebi/Sno pathway promotes delta expression by inactivating Su(H)/SMRTER repression during inductive notch signaling. In: *Cell* 110 (5), S. 625–637.
- Tsuneizumi, K.; Nakayama, T.; Kamoshida, Y.; Kornberg, T. B.; Christian, J. L.; Tabata, T. (1997): Daughters against dpp modulates dpp organizing activity in *Drosophila* wing development. In: *Nature* 389 (6651), S. 627–631. DOI: 10.1038/39362.
- Urban, Sinisa; Lee, Jeffrey R.; Freeman, Matthew (2002): A family of Rhomboid intramembrane proteases activates all *Drosophila* membrane-tethered EGF ligands. In: *The EMBO journal* 21 (16), S. 4277–4286.
- Vaccari, Thomas; Bilder, David (2005): The *Drosophila* tumor suppressor vps25 prevents nonautonomous overproliferation by regulating notch trafficking. In: *Developmental cell* 9 (5), S. 687–698. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.09.019.
- Vaccari, Thomas; Rusten, Tor Erik; Menut, Laurent; Nezis, Ioannis P.; Brech, Andreas; Stenmark, Harald; Bilder, David (2009): Comparative analysis of ESCRT-I, ESCRT-II and ESCRT-III function in *Drosophila* by efficient isolation of ESCRT mutants. In: *Journal of cell science* 122 (Pt 14), S. 2413–2423. DOI: 10.1242/jcs.046391.

- van Doren, M.; Ellis, H. M.; Posakony, J. W. (1991): The *Drosophila* extramacrochaetae protein antagonizes sequence-specific DNA binding by daughterless/achaete-scute protein complexes. In: *Development (Cambridge, England)* 113 (1), S. 245–255.
- van Wijk, Sjoerd J L; Timmers, H. T. Marc (2010): The family of ubiquitin-conjugating enzymes (E2s): deciding between life and death of proteins. In: *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 24 (4), S. 981–993. DOI: 10.1096/fj.09-136259.
- Vernì, Fiammetta; Somma, Maria Patrizia; Gunsalus, Kristin C.; Bonaccorsi, Silvia; Belloni, Giorgio; Goldberg, Michael L.; Gatti, Maurizio (2004): Feo, the *Drosophila* homolog of PRC1, is required for central-spindle formation and cytokinesis. In: *Current biology : CB* 14 (17), S. 1569–1575. DOI: 10.1016/j.cub.2004.08.054.
- Waltzer, L.; Bienz, M. (1998): *Drosophila* CBP represses the transcription factor TCF to antagonize Wingless signalling. In: *Nature* 395 (6701), S. 521–525. DOI: 10.1038/26785.
- Walworth, N. C. (2000): Cell-cycle checkpoint kinases: checking in on the cell cycle. In: *Current opinion in cell biology* 12 (6), S. 697–704.
- Wang, Liwei; Li, Zhouhua; Cai, Yu (2008): The JAK/STAT pathway positively regulates DPP signaling in the *Drosophila* germline stem cell niche. In: *The Journal of cell biology* 180 (4), S. 721–728. DOI: 10.1083/jcb.200711022.
- Wang, Weidong; Struhl, Gary (2004): *Drosophila* Epsin mediates a select endocytic pathway that DSL ligands must enter to activate Notch. In: *Development (Cambridge, England)* 131 (21), S. 5367–5380. DOI: 10.1242/dev.01413.
- Wang, Weidong; Struhl, Gary (2005): Distinct roles for Mind bomb, Neuralized and Epsin in mediating DSL endocytosis and signaling in *Drosophila*. In: *Development (Cambridge, England)* 132 (12), S. 2883–2894. DOI: 10.1242/dev.01860.
- Wang, Y.; Wang, J.; Li, B. H.; Qu, H.; Luo, C. L.; Shu, D. M. (2014): An association between genetic variation in the roundabout, axon guidance receptor, homolog 2 gene and immunity traits in chickens. In: *Poultry science* 93 (1), S. 31–38. DOI: 10.3382/ps.2013-03512.
- Ward, L. (1923): The Genetics of Curly Wing in *Drosophila*. Another Case of Balanced Lethal Factors. In: *Genetics* 8 (3), S. 276–300.
- Watts, Ryan J.; Hoopfer, Eric D.; Luo, Liqun (2003): Axon pruning during *Drosophila* metamorphosis: evidence for local degeneration and requirement of the ubiquitin-proteasome system. In: *Neuron* 38 (6), S. 871–885.
- Weiss, Alexander; Charbonnier, Enrica; Ellertsdóttir, Elín; Tsirigos, Aristotelis; Wolf, Christian; Schuh, Reinhard et al. (2010): A conserved activation element in BMP signaling during *Drosophila* development. In: *Nature structural & molecular biology* 17 (1), S. 69–76. DOI: 10.1038/nsmb.1715.
- Werner, T.; Liu, G.; Kang, D.; Ekengren, S.; Steiner, H.; Hultmark, D. (2000): A family of peptidoglycan recognition proteins in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (25), S. 13772–13777. DOI: 10.1073/pnas.97.25.13772.
- Wildonger, Jill; Mann, Richard S. (2005): Evidence that nervy, the *Drosophila* homolog of ETO/MTG8, promotes mechanosensory organ development by enhancing Notch

- signaling. In: *Developmental biology* 286 (2), S. 507–520. DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.08.026.
- Wilkin, Marian; Tongngok, Pajaree; Gensch, Nicole; Clemence, Sylvaine; Motoki, Masato; Yamada, Kenta et al. (2008): Drosophila HOPS and AP-3 complex genes are required for a Deltex-regulated activation of notch in the endosomal trafficking pathway. In: *Developmental cell* 15 (5), S. 762–772. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.09.002.
- Williams, Michael J. (2007): Drosophila hemopoiesis and cellular immunity. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 178 (8), S. 4711–4716.
- Williams, Roger L.; Urbé, Sylvie (2007): The emerging shape of the ESCRT machinery. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 8 (5), S. 355–368. DOI: 10.1038/nrm2162.
- Willis, Monte S.; Townley-Tilson, W. H. Davin; Kang, Eunice Y.; Homeister, Jonathon W.; Patterson, Cam (2010): Sent to destroy: the ubiquitin proteasome system regulates cell signaling and protein quality control in cardiovascular development and disease. In: *Circulation research* 106 (3), S. 463–478. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.208801.
- Wimmer, E. A.; Jäckle, H.; Pfeifle, C.; Cohen, S. M. (1993): A Drosophila homologue of human Sp1 is a head-specific segmentation gene. In: *Nature* 366 (6456), S. 690–694. DOI: 10.1038/366690a0.
- Windler, Sarah L.; Bilder, David (2010): Endocytic internalization routes required for delta/notch signaling. In: *Current biology : CB* 20 (6), S. 538–543. DOI: 10.1016/j.cub.2010.01.049.
- Wing, John P.; Schreader, Barbara A.; Yokokura, Takakazu; Wang, Yiqin; Andrews, Paul S.; Huseinovic, Neda et al. (2002): Drosophila Morgue is an F box/ubiquitin conjugase domain protein important for grim-reaper mediated apoptosis. In: *Nature cell biology* 4 (6), S. 451–456. DOI: 10.1038/ncb800.
- Wollert, Thomas; Hurley, James H. (2010): Molecular mechanism of multivesicular body biogenesis by ESCRT complexes. In: *Nature* 464 (7290), S. 864–869. DOI: 10.1038/nature08849.
- Wong, Jack Jing Lin; Li, Song; Lim, Edwin Kok Hao; Wang, Yan; Wang, Cheng; Zhang, Heng et al. (2013): A Cullin1-based SCF E3 ubiquitin ligase targets the InR/PI3K/TOR pathway to regulate neuronal pruning. In: *PLoS biology* 11 (9), S. e1001657. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001657.
- Wrana, J. L.; Attisano, L.; Cárcamo, J.; Zentella, A.; Doody, J.; Laiho, M. et al. (1992): TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. In: *Cell* 71 (6), S. 1003–1014.
- Wrana, J. L.; Attisano, L.; Wieser, R.; Ventura, F.; Massagué, J. (1994): Mechanism of activation of the TGF-beta receptor. In: *Nature* 370 (6488), S. 341–347. DOI: 10.1038/370341a0.
- Xia, Laixin; Jia, Shunji; Huang, Shoujun; Wang, Hailong; Zhu, Yuanxiang; Mu, Yanjun et al. (2010): The Fused/Smurf complex controls the fate of Drosophila germline stem cells by generating a gradient BMP response. In: *Cell* 143 (6), S. 978–990. DOI: 10.1016/j.cell.2010.11.022.
- Xia, Laixin; Zheng, Xiudeng; Zheng, Wenjing; Zhang, Guoqiang; Wang, Hailong; Tao, Yi; Chen, Dahua (2012): The niche-dependent feedback loop generates a BMP activity

- gradient to determine the germline stem cell fate. In: *Current biology : CB* 22 (6), S. 515–521. DOI: 10.1016/j.cub.2012.01.056.
- Xiao, B.; Tu, J. C.; Petralia, R. S.; Yuan, J. P.; Doan, A.; Breder, C. D. et al. (1998): Homer regulates the association of group 1 metabotropic glutamate receptors with multivalent complexes of homer-related, synaptic proteins. In: *Neuron* 21 (4), S. 707–716.
- Xie, T.; Finelli, A. L.; Padgett, R. W. (1994): The *Drosophila* saxophone gene: a serine-threonine kinase receptor of the TGF-beta superfamily. In: *Science (New York, N.Y.)* 263 (5154), S. 1756–1759.
- Xie, T.; Spradling, A. C. (2000): A niche maintaining germ line stem cells in the *Drosophila* ovary. In: *Science (New York, N.Y.)* 290 (5490), S. 328–330.
- Yamamoto, N.; Yamamoto, S.; Inagaki, F.; Kawaichi, M.; Fukamizu, A.; Kishi, N. et al. (2001): Role of Deltex-1 as a transcriptional regulator downstream of the Notch receptor. In: *The Journal of biological chemistry* 276 (48), S. 45031–45040. DOI: 10.1074/jbc.M105245200.
- Yang, Sheng-An; Wang, Wen-Der; Chen, Ciao-Ting; Tseng, Chen-Yuan; Chen, Yi-Ning; Hsu, Hwei-Jan (2013): FOXO/Fringe is necessary for maintenance of the germline stem cell niche in response to insulin insufficiency. In: *Developmental biology* 382 (1), S. 124–135. DOI: 10.1016/j.ydbio.2013.07.018.
- Yeh, E.; Gustafson, K.; Boulianne, G. L. (1995): Green fluorescent protein as a vital marker and reporter of gene expression in *Drosophila*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92 (15), S. 7036–7040.
- Yin, Z.; Xu, X. L.; Frasch, M. (1997): Regulation of the twist target gene tinman by modular cis-regulatory elements during early mesoderm development. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (24), S. 4971–4982.
- Yip, M. L.; Lamka, M. L.; Lipshitz, H. D. (1997): Control of germ-band retraction in *Drosophila* by the zinc-finger protein HINDSIGHT. In: *Development (Cambridge, England)* 124 (11), S. 2129–2141.
- Yousefian, Jahan; Troost, Tobias; Grawe, Ferdi; Sasamura, Takeshi; Fortini, Mark; Klein, Thomas (2013): Dmon1 controls recruitment of Rab7 to maturing endosomes in *Drosophila*. In: *Journal of cell science* 126 (Pt 7), S. 1583–1594. DOI: 10.1242/jcs.114934.
- Zamborlini, Alessia; Usami, Yoshiko; Radoshitzky, Sheli R.; Popova, Elena; Palu, Giorgio; Göttlinger, Heinrich (2006): Release of autoinhibition converts ESCRT-III components into potent inhibitors of HIV-1 budding. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (50), S. 19140–19145. DOI: 10.1073/pnas.0603788103.
- Zanet, Jennifer; Jayo, Asier; Plaza, Serge; Millard, Tom; Parsons, Maddy; Stramer, Brian (2012): Fascin promotes filopodia formation independent of its role in actin bundling. In: *The Journal of cell biology* 197 (4), S. 477–486. DOI: 10.1083/jcb.201110135.
- Zanet, Jennifer; Stramer, Brian; Millard, Thomas; Martin, Paul; Payre, François; Plaza, Serge (2009): Fascin is required for blood cell migration during *Drosophila* embryogenesis. In: *Development (Cambridge, England)* 136 (15), S. 2557–2565. DOI: 10.1242/dev.036517.

- Zastrow, Mark von; Sorkin, Alexander (2007): Signaling on the endocytic pathway. In: *Current opinion in cell biology* 19 (4), S. 436–445. DOI: 10.1016/j.ceb.2007.04.021.
- Zerial, M.; McBride, H. (2001): Rab proteins as membrane organizers. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 2 (2), S. 107–117. DOI: 10.1038/35052055.
- Zhang, Junzheng; Liu, Min; Su, Ying; Du, Juan; Zhu, Alan Jian (2012): A targeted in vivo RNAi screen reveals deubiquitinases as new regulators of Notch signaling. In: *G3 (Bethesda, Md.)* 2 (12), S. 1563–1575. DOI: 10.1534/g3.112.003780.
- Zhang, P.; Knowles, B. A.; Goldstein, L. S.; Hawley, R. S. (1990): A kinesin-like protein required for distributive chromosome segregation in *Drosophila*. In: *Cell* 62 (6), S. 1053–1062.
- Zhao, Meng; Li, Xiao-Dong; Chen, Zhijian (2010): CC2D1A, a DM14 and C2 domain protein, activates NF-kappaB through the canonical pathway. In: *The Journal of biological chemistry* 285 (32), S. 24372–24380. DOI: 10.1074/jbc.M109.100057.
- Zhou, Weihua; Wei, Wenyi; Sun, Yi (2013): Genetically engineered mouse models for functional studies of SKP1-CUL1-F-box-protein (SCF) E3 ubiquitin ligases. In: *Cell research* 23 (5), S. 599–619. DOI: 10.1038/cr.2013.44.
- Zollman, S.; Godt, D.; Privé, G. G.; Couderc, J. L.; Laski, F. A. (1994): The BTB domain, found primarily in zinc finger proteins, defines an evolutionarily conserved family that includes several developmentally regulated genes in *Drosophila*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (22), S. 10717–10721.

8 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
aK	anteriore Kreuzvene
bam	bag of marbels
bp	Basenpaare
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
dad	daughters against Dpp
dH ₂ O	destilliertes Wasser
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dpp	decapentaplegic
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESCRT	<i>endosomal sorting complex required for transport</i>
EtBr	Ethidiumbromid
FRT	<i>flippase recognition site</i>
FSC	<i>follicle stem cell</i>
g	Gramm
GFP	<i>green fluorescent protein</i>
GSC	<i>germline stem cell</i>
h	<i>hour</i>
His	Histon
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
hsFlp	<i>heatshock Flippase</i>
kb	Kilobasenpaare
l	Liter
L	Longitudinalvene
lgd	lethal (2) giant discs
MB	Multibalancer
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mRNA	<i>messenger</i> Ribonukleinsäure
MVB	<i>multivesicular body</i>

N	Notch
NECD	<i>Notch intracellular domain</i>
NEXT	<i>Notch extracellular truncation</i>
NGS	<i>normal goat serum</i>
NICD	<i>Notch extracellular domain</i>
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
PCR	Polymerasekettenreaktion
PFA	Paraformaldehyd
pH	<i>potentia hydrogenii</i>
pK	posteriore Kreuzvene
RFP	<i>red fluorescent protein</i>
RNA	Ribonukleinsäure
RNAi	RNA-Interferenz
RT	Raumtemperatur
TAE	Tris-Acetat-EDTA
UAS	<i>upstream activating sequence</i>
Ub	Ubiquitin
UV	ultraviolett
VPS	<i>vacuolar protein sorting</i>
Wt	Wildtyp

9 Anhang

9.1 statistische Analyse der Flügel des Modifier-Screens

9.1.1 Das *Bloomington Deficiency Kit*

Tab. 9.1: statistische Analyse der Flügel der Defizienzen des *Bloomington Deficiency Kits* im Modifier-Hintergrund. Alle 462 Stämme des Bloomington Deficiency Kits wurden gegen den Modifier-Stamm *UAS-mib1;;C5-Gal4* gekreuzt. Die Flügel der ersten Filialgeneration wurden statistisch ausgewertet. Die erste Spalte zeigt die Stammmummer nach Bloomington an. Die zweite Spalte zeigt die Anzahl der ausgewerteten Flügel an. Die folgende Spalte zeigt an wieviele Flügel unverändert im Vergleich zum Modifier-Stamm sind. Die nächsten Spalten zeigen an wie oft je nur die L3, L4 oder L5 betroffen ist oder die L3 und L4, L3 und L5, L4 und L5 sowie L3, L4 und L5. Die Werte werden absolut und in Prozent angegeben. Die darauf folgenden Spalten zeigen an wie stark die jeweiligen Venen betroffen sind: / = nicht betroffen, + = leicht, ++ = mittel, +++ = stark. Die folgenden drei Spalten geben an wieviel Prozent der L3, L4 oder L5 insgesamt betroffen ist. Dies bezieht sich jeweils auf die Wiederherstellung von Venengewebe, da die Reduktion von Venengewebe sehr selten auftritt. Die letzte Spalte beinhaltet Bemerkungen. Der Farbcode entspricht den jeweiligen Kategorien, die in **Kap. 3.2.1** beschrieben wurden (**Abb. 3.16**). rosa = Reduziert, hellblau = Unverändert, blau = Abschwächungsgrad 1, orange = Abschwächungsgrad 2, gelb = Abschwächungsgrad 3, grün = Letal, lila = Knautsch, grau = Schmalere.

Stamm	Anzahl N [%]	unverändert	L3	L4	L5	L3+L4	L3+L5	L4+L5	L3+L4+L5	L3	L4	L5	Bemerkungen
15466													lethal
27887	4 [100.0]	1 [25.0]	2 [50.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [25.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	+	+	AG1
901	2 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [100.0]	+++	+++	+++	AG3, posteriore Quervene verlängert, semilethal
25058	5 [100.0]	0 [0.0]	3 [60.0]	0 [0.0]	2 [40.0]	0 [0.0]	2 [40.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	+	+	AG1
9053	18 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	18 [100.0]	+++	+++	+++	AG3, posteriore Quervene verlängert
25062	7 [100.0]	1 [14.3]	3 [42.9]	0 [0.0]	3 [42.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	+	+	AG1
26571	24 [100.0]	0 [0.0]	2 [8.3]	0 [0.0]	16 [66.7]	0 [0.0]	1 [4.2]	0 [0.0]	5 [20.8]	+++	+	+	AG2, Polariatsdefekte
92979	13 [100.0]	4 [30.8]	9 [69.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	+	+	AG1
26569	6 [100.0]	6 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	+	+	unverändert
8031	16 [100.0]	0 [0.0]	3 [18.8]	0 [0.0]	5 [31.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [50.0]	+++	+	+	AG3
9348	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [20.0]	0 [0.0]	8 [80.0]	+++	+	+	AG3
8948	23 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [13.0]	0 [0.0]	3 [13.0]	0 [0.0]	20 [87.0]	+++	+	+	AG3, "Delta" an der posterioren Quervene
25059	13 [100.0]	0 [0.0]	12 [92.3]	0 [0.0]	1 [7.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
27866	9 [100.0]	1 [11.1]	6 [66.7]	0 [0.0]	2 [22.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	+	+	AG1
9169	15 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	15 [100.0]	+++	+	+	AG3, posteriore Quervene verlängert
24145	16 [100.0]	1 [6.3]	4 [25.0]	1 [6.3]	11 [68.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG2
25414	8 [100.0]	0 [0.0]	8 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	+	+	AG1
8956	19 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	18 [94.7]	+++	+++	+++	AG3
944	6 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [100.0]	+++	+	+	AG3
25061	12 [100.0]	0 [0.0]	10 [83.3]	0 [0.0]	2 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
7708	14 [100.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	0 [0.0]	1 [7.1]	0 [0.0]	4 [28.6]	0 [0.0]	8 [57.1]	+++	+	+	AG3
7079	14 [100.0]	1 [7.1]	12 [85.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	+	+	AG1
25114	18 [100.0]	0 [0.0]	7 [38.9]	0 [0.0]	5 [27.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [33.3]	+++	+	+	AG2
8949	14 [100.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	0 [0.0]	3 [21.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [71.4]	+++	+	+	AG3
5281													lethal
8947	25 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	25 [100.0]	+++	+++	+++	AG3, posteriore Quervene verlängert
7713	10 [100.0]	0 [0.0]	6 [60.0]	0 [0.0]	2 [20.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [20.0]	+++	+	+	AG1
7714	24 [100.0]	4 [16.7]	18 [75.0]	0 [0.0]	2 [8.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	+	+	AG1
25063	13 [100.0]	4 [30.8]	9 [69.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	+	+	AG1
24375	18 [100.0]	0 [0.0]	15 [83.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
30587	12 [100.0]	3 [25.0]	9 [75.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
3196	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [66.7]	+++	+	+	AG3
29990	16 [100.0]	0 [0.0]	5 [31.3]	0 [0.0]	2 [12.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [56.3]	+++	+	+	AG2
8955	12 [100.0]	2 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [83.3]	+++	+	+	AG3
25064	17 [100.0]	0 [0.0]	17 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
6698	9 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [100.0]	+++	+++	+++	AG3, posteriore Quervene verlängert
25097	22 [100.0]	0 [0.0]	14 [63.6]	0 [0.0]	7 [31.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [14.5]	+++	+	+	AG1
949	19 [100.0]	5 [26.3]	11 [57.9]	1 [5.3]	1 [5.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [47.4]	+++	+	+	AG3
29989	19 [100.0]	5 [26.3]	11 [57.9]	1 [5.3]	1 [5.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [47.4]	+++	+	+	AG1
26514	16 [100.0]	2 [12.5]	8 [50.0]	3 [18.8]	0 [0.0]	3 [18.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
27986	15 [100.0]	3 [60.0]	2 [40.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	unverändert
5706	14 [100.0]	0 [0.0]	8 [57.1]	0 [0.0]	2 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [28.6]	+++	+	+	AG2, Borsten teilweise, viel extra Venengewebe, L2 und L3 teilweise am Rand verkürzt
8033	8 [100.0]	0 [0.0]	5 [62.5]	0 [0.0]	1 [12.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [25.0]	+++	+	+	AG1
25065	14 [100.0]	1 [7.1]	9 [64.3]	0 [0.0]	4 [28.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	AG1
26564	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [42.9]	0 [0.0]	7 [50.0]	+++	+	+	AG3
9153	19 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	19 [100.0]	+++	+++	+++	AG3, posteriore Quervene verlängert, Polariatsdefekt, Makrochaeten am Rand?
26853	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [41.7]	0 [0.0]	7 [58.3]	0 [0.0]	+++	+++	+++	AG3
25068	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	12 [100.0]	+++	+++	+++	AG3, Adhäsionsdefekte
25291	19 [100.0]	0 [0.0]	14 [73.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [26.3]	+++	+	+	AG1

9276	11	100.0	4	36.4	1	9.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	18.2	+	+	54.5	127.3	AG1, "Deltis" an der posterioren Quervene
9157	8	100.0	0	0.0	5	62.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	+	37.5	0.0	AG1
9063	23	100.0	0	0.0	3	13.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	10	43.5	+++	++	100.0	87.5	AG2, viel extra Venengewebe
23665	25	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	25	100.0	+++	+++	100.0	100.0	Bild 4-4x fast WT; 13x L5 nicht ganz; 4x L4 nicht ganz
9410	13	100.0	4	30.8	1	7.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	++	(+)	30.8	0.0	unverändert
23682	12	100.0	4	33.3	8	66.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	++	-	66.7	0.0	AG1
1702	14	100.0	0	0.0	5	35.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	9	64.3	+++	++	100.0	64.3	AG1
9539	22	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	7	31.8	+++	+++	100.0	100.0	AG2
23686	15	100.0	2	13.3	1	6.7	0	0.0	2	13.3	0	0.0	8	53.3	+++	+	73.3	113.3	Bild 2
23666	15	100.0	0	0.0	3	20.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	12	80.0	+++	++	100.0	180.0	AG3
25428	14	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	14	100.0	+++	+++	100.0	100.0	AG3, "Deltis" an der posterioren Quervene
8910	13	100.0	13	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-	-	0.0	0.0	unverändert
8912	18	100.0	18	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-	-	0.0	0.0	unverändert
9626	2	100.0	2	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-	-	0.0	0.0	AG2
26551	19	100.0	0	0.0	11	57.9	0	0.0	0	0.0	0	0.0	8	42.1	+++	++	142.1	0.0	AG1
24929	18	100.0	0	0.0	18	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
7543	28	100.0	0	0.0	28	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
23688	11	100.0	0	0.0	11	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
30585	6	100.0	2	33.3	4	66.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+	-	100.0	0.0	AG1
24989	19	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	19	100.0	0	0.0	++	-	100.0	0.0	Bild 1
442	13	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	13	100.0	+++	+++	100.0	100.0	AG3, 2x notches
7544	20	100.0	1	5.0	19	95.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	95.0	0.0	AG1
7871	20	100.0	12	60.0	8	40.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	40.0	0.0	unverändert
23169	25	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	25	100.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	0
23170	19	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	12	63.2	0	0.0	+++	+	136.8	100.0	0
23690	16	100.0	0	0.0	6	37.5	0	0.0	0	0.0	7	43.8	0	0.0	++	+	87.5	6.3	AG1
24385	25	100.0	6	24.0	16	64.0	0	0.0	0	0.0	2	8.0	0	0.0	++	+	68.0	12.0	AG1
24407	26	100.0	0	0.0	25	96.2	0	0.0	0	0.0	1	3.8	0	0.0	++	(+)	100.0	3.8	AG1
7875	6	100.0	0	0.0	6	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
7876	18	100.0	0	0.0	18	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
8913	8	100.0	1	12.5	5	62.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	25.0	+++	++	87.5	25.0	AG1, posteriore Quervene teilweise verlängert
7749	21	100.0	2	9.5	19	90.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	90.5	0.0	AG1
24933	28	100.0	5	17.9	23	82.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	82.1	0.0	AG1
25741	17	100.0	4	23.5	13	76.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	76.5	0.0	AG1
9064	11	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	9.1	0	0.0	10	90.9	++	+	100.0	90.9	AG2
8914	22	100.0	0	0.0	7	31.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0	15	68.2	+++	++	100.0	68.2	AG1
8915	12	100.0	4	33.3	5	41.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	+	66.7	25.0	AG1
29661	10	100.0	2	20.0	4	40.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	+	80.0	40.0	AG1
25078	20	100.0	3	15.0	16	80.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	(+)	85.0	5.0	AG1
7888	12	100.0	0	0.0	12	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
7546	22	100.0	22	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	-	-	0.0	0.0	Reduktion der L2
9278	18	100.0	5	27.8	10	55.6	0	0.0	0	0.0	1	5.6	0	0.0	-	-	72.2	11.1	AG1
24356	19	100.0	0	0.0	16	84.2	0	0.0	0	0.0	3	15.8	0	0.0	++	+	121.1	31.6	24356-1
7548	17	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	15	88.2	0	0.0	+++	++	100.0	111.8	AG1
9586	13	100.0	4	30.8	9	69.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	69.2	0.0	Fügelform posterior-distal; Bild 2
24379	21	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	9	42.9	0	0.0	12	57.1	+++	++	100.0	100.0	AG1
7890	17	100.0	0	0.0	15	88.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	+	100.0	11.8	AG1
24371	28	100.0	0	0.0	1	3.6	0	0.0	1	3.6	21	75.0	0	0.0	++	+	96.4	17.9	24371-1
6780	11	100.0	0	0.0	11	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+++	-	100.0	0.0	AG1
9066	6	100.0	4	66.7	2	33.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	+	-	33.3	0.0	unverändert

3096	24	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	4	16.7	16.7	16.7	AG1	
24395	26	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	15	57.7	100.0	100.0	L3 meist vollständig 24395-5	
30589	20	100.0	0	10.0	1	5.0	0	10.0	4	20.0	0	10.0	2	10.0	15.0	95.0	6x Rand	
24914	10	100.0	0	10.0	0	10.0	9	90.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	10.0	10.0	10x L4 distal fehlt (4x, L4 distal + pk fehlt), L3 9x unverändert; L3 1x prox. Verkürzt	
24915	17	100.0	1	5.9	9	52.9	0	10.0	0	10.0	3	17.6	4	23.5	41.2	23.5	AG1	
7588	12	100.0	4	33.3	8	66.7	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	66.7	10.0	AG1	
6867	10	100.0	0	10.0	3	30.0	0	10.0	1	10.0	6	60.0	1	10.0	60.0	10.0	0	
9701	20	100.0	2	10.0	0	10.0	0	10.0	2	10.0	2	10.0	16	80.0	90.0	90.0	Zu unverändert; L2 fast WT (L3, L4, L5:+++)	
8974	22	100.0	5	22.7	17	77.3	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	77.3	10.0	AG1	
6964	10	100.0	0	10.0	8	80.0	0	10.0	0	10.0	2	20.0	0	10.0	10.0	20.0	1x Zusätze zw. 3 und 4 auf Höhe pk. 1x 4 distal fehlt	
7929	34	100.0	0	10.0	8	57.1	0	10.0	2	14.3	2	14.3	2	14.3	28.6	28.6	0	
24399	19	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	19	100.0	100.0	100.0	L4 6x fast komplett	
24412	8	100.0	2	33.3	0	10.0	0	10.0	2	33.3	0	10.0	0	10.0	66.7	10.0	AG1	
7591	20	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	20	100.0	100.0	100.0	0	
27576	20	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	20	100.0	0	10.0	0	10.0	100.0	100.0	AG2	
24413	19	100.0	0	10.0	7	36.8	0	10.0	3	15.8	0	10.0	9	47.4	63.2	47.4	AG2	
27577	18	100.0	4	22.2	13	72.2	0	10.0	1	5.6	0	10.0	0	10.0	77.8	10.0	AG1	
8066	12	100.0	1	8.3	10	83.3	0	10.0	0	10.0	1	8.3	0	10.0	91.7	10.0	AG1	
997	19	100.0	0	10.0	2	10.5	0	10.0	2	10.5	5	26.3	0	10.0	11	57.9	AG3, "Delta" an der posterioren Querverne	
8970	10	100.0	2	20.0	6	60.0	0	10.0	0	10.0	2	20.0	0	10.0	80.0	10.0	AG1	
24415	16	100.0	1	6.3	5	31.3	0	10.0	3	18.8	0	10.0	6	37.5	63.5	10.0	Bild 2	
8975	16	100.0	5	31.3	11	68.8	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	68.8	10.0	AG1	
24416	18	100.0	0	10.0	1	5.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	18	100.0	100.0	100.0	Bild 3	
26525	20	100.0	1	5.0	1	5.0	0	10.0	0	10.0	13	65.0	0	10.0	75.0	90.0	Bild 3	
9355	16	100.0	0	10.0	11	68.8	0	10.0	0	10.0	5	31.3	0	10.0	31.3	10.0	AG1	
8068	10	100.0	0	10.0	8	80.0	0	10.0	2	20.0	0	10.0	8	72.7	90.9	90.9	zusätzliche Querverne (angeblenut)	
26828	21	100.0	0	10.0	11	52.4	0	10.0	4	19.0	0	10.0	6	28.6	47.6	28.6	unverändert	
8072	20	100.0	0	10.0	5	25.0	0	10.0	15	75.0	0	10.0	0	10.0	75.0	10.0	AG2	
6457	22	100.0	3	13.6	18	81.8	0	10.0	0	10.0	1	4.5	0	10.0	86.4	10.0	AG1	
8097	9	100.0	0	10.0	9	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	100.0	10.0	AG1, 5x zusätzliche Querverne	
8073	22	100.0	1	4.5	12	54.5	0	10.0	9	40.9	0	10.0	0	10.0	195.5	140.9	AG1	
8074	12	100.0	5	41.7	3	25.0	1	8.3	3	25.0	0	10.0	0	10.0	33.3	10.0	AG1	
27888	14	100.0	0	10.0	8	57.1	0	10.0	6	42.9	0	10.0	0	10.0	42.9	10.0	AG1	
27346	20	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	6	30.0	0	10.0	14	70.0	100.0	100.0	AG3, posteriore Querverne teilweise verlängert oder verkürzt???	
8078	2	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	2	100.0	0	10.0	0	10.0	100.0	10.0	AG2	
8098	12	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	12	100.0	0	10.0	0	10.0	100.0	100.0	AG2, erupted	
8099	19	100.0	0	10.0	2	10.5	0	10.0	6	31.6	9	47.4	2	10.5	42.1	157.9	Foto 2, erupted	
8100	5	100.0	0	10.0	5	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	100.0	10.0	AG1	
27347	8	100.0	8	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	10.0	10.0	unverändert, L2 1x reduziert	
9697	6	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	4	100.0	0	10.0	0	10.0	100.0	100.0	0	
8087	6	100.0	1	16.7	4	66.7	0	10.0	1	16.7	0	10.0	0	10.0	83.3	116.7	AG1	
6646	17	100.0	0	10.0	17	100.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	100.0	10.0	AG1	
8088	18	100.0	4	22.2	14	77.8	0	10.0	0	10.0	0	10.0	0	10.0	77.8	10.0	AG1	
27917	21	100.0	5	23.8	15	71.4	0	10.0	1	4.8	0	10.0	0	10.0	14.8	10.0	AG1	
27369	16	100.0	0	10.0	2	12.5	0	10.0	11	68.8	0	10.0	3	18.8	87.5	10.0	7x pk fehlt fast vollständig Bild 3	
24953	10	100.0	0	10.0	2	20.0	0	10.0	2	20.0	0	10.0	0	10.0	20.0	60.0	0	
25116	16	100.0	0	10.0	13	81.3	0	10.0	3	18.8	0	10.0	0	10.0	100.0	18.8	AG1	
24923	17	100.0	4	23.5	3	17.6	0	10.0	0	10.0	0	10.0	10	58.8	76.5	158.8	AG1	
8101	11	100.0	0	10.0	7	63.6	0	10.0	0	10.0	0	10.0	4	36.4	100.0	136.4	AG1	

9481	19	100.0	0	0.0	4	21.1	0	0.0	0	0.0	14	73.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	73.7	0.0	AG2
9482	18	100.0	0	0.0	1	5.6	0	0.0	0	0.0	16	88.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG2
7737	15	100.0	0	0.0	5	33.3	0	0.0	0	0.0	6	40.0	0	0.0	1	6.7	0	0.0	0	0.0	60.0	26.7	AG1
3486	27	100.0	2	7.4	22	81.5	1	3.7	0	0.0	1	3.7	1	3.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	7.4	3.7	L3 mit Lücken oder z. T. verlängert
26846	41	100.0	0	0.0	10	24.4	0	0.0	0	0.0	25	61.0	0	0.0	6	14.6	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	Bild 2 Ordner älter
8104	19	100.0	1	5.3	8	42.1	0	0.0	0	0.0	3	15.8	1	5.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
27362	18	100.0	4	22.2	2	11.1	0	0.0	0	0.0	1	5.6	0	0.0	11	61.1	0	0.0	0	0.0	66.7	61.1	AG2
25740	4	100.0	0	0.0	3	75.0	0	0.0	0	0.0	1	25.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	25.0	0.0	AG2, semilethal
9208	9	100.0	2	22.2	3	33.3	0	0.0	0	0.0	4	44.4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
6962	4	100.0	0	0.0	1	25.0	0	0.0	0	0.0	3	75.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG2
24139	18	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	18	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG3, geknaufte Flügel, viel extra Venengewebe, L1 und L2 teilweise fusioniert
8964	16	100.0	0	0.0	2	12.5	0	0.0	0	0.0	2	12.5	0	0.0	12	75.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG3
25021	17	100.0	5	29.4	8	47.1	0	0.0	0	0.0	3	17.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	64.7	17.6	Borsten fehlen, Adhäsionsdefekte, Reduktion der L2, 1x Notches
9501	11	100.0	10	90.9	1	9.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	9.1	0.0	Reduktion
7413	5	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG2
27580	13	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	15.4	0	0.0	9	69.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	Bild 3
7739	18	100.0	0	0.0	10	55.6	0	0.0	0	0.0	1	5.6	0	0.0	7	38.9	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
9487	14	100.0	4	28.6	3	21.4	0	0.0	0	0.0	3	21.4	0	0.0	4	28.6	0	0.0	0	0.0	71.4	28.6	AG2
26529	12	100.0	4	33.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	8	66.7	0	0.0	0	0.0	66.7	66.7	AG2, semilethal
8923	18	100.0	6	33.3	10	55.6	0	0.0	0	0.0	2	11.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	66.7	11.1	AG1
8684	21	100.0	0	0.0	2	9.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	19	90.5	0	0.0	0	0.0	100.0	90.5	AG3, 2x geknaufte Flügel
6367	12	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	41.7	0	0.0	7	58.3	0	0.0	0	0.0	58.3	100.0	AG3
25694	25	100.0	2	8.0	19	76.0	0	0.0	1	4.0	2	8.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	88.0	12.0	AG1
9497	8	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	8	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG2
24993	19	100.0	0	0.0	1	5.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	18	94.7	0	0.0	0	0.0	100.0	94.7	AG3
7675	27	100.0	4	14.8	16	59.3	1	3.7	0	0.0	6	22.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	81.5	25.9	L3-L4 leicht modifiziert
7676	12	100.0	0	0.0	12	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
9347	25	100.0	1	4.0	18	72.0	0	0.0	0	0.0	4	16.0	0	0.0	2	8.0	0	0.0	0	0.0	96.0	24.0	AG1
9211	17	100.0	10	58.8	7	41.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	41.2	0.0	unverändert
24965	12	100.0	8	66.7	4	33.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	33.3	0.0	unverändert
7680	16	100.0	7	43.8	9	56.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	56.3	0.0	AG1
27404	18	100.0	2	11.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	11	61.1	0	0.0	5	27.8	0	0.0	0	0.0	88.9	17.8	Bild 3
7681	24	100.0	2	8.3	19	79.2	0	0.0	0	0.0	1	4.2	0	0.0	2	8.3	0	0.0	0	0.0	91.7	12.5	L3+L4+L5 2x wildtypisch
7682	13	100.0	5	38.5	8	61.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	61.5	0.0	AG1
24969	17	100.0	2	11.8	15	88.2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	88.2	0.0	AG1
9500	4	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	4	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	4x pik fehlt??!! 9500-4
8105	17	100.0	1	5.9	13	76.5	0	0.0	0	0.0	3	17.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	84.1	17.6	AG1
9210	14	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	14	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG3, serrate
25001	20	100.0	0	0.0	1	5.0	0	0.0	0	0.0	1	5.0	0	0.0	18	90.0	0	0.0	0	0.0	90.0	95.0	AG3
29667	18	100.0	1	5.6	17	94.4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
25390	7	100.0	5	71.4	2	28.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	28.6	0.0	unverändert
29977	2	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG3
25005	18	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	5.6	0	0.0	17	94.4	0	0.0	0	0.0	100.0	94.4	Bild 3
25075	4	100.0	0	0.0	4	100.0	0	0.0	0	0.0	4	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
3547	25	100.0	0	0.0	22	88.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	3	12.0	0	0.0	0	0.0	100.0	12.0	AG1
25695	21	100.0	0	0.0	13	61.9	0	0.0	8	38.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	38.1	25695-2
2352	20	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	6	30.0	0	0.0	14	70.0	0	0.0	0	0.0	100.0	70.0	AG3
25006	12	100.0	3	25.0	8	66.7	0	0.0	1	8.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	66.7	0.0	Bild 2
7692	4	100.0	0	0.0	4	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG1
2234	18	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	18	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0	AG3, posteriore Quersvene verlängert

25007	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[28.6]	0	[0.0]	10	[71.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	171.4	[0.0]	[100.0]	Bild 2
25008	33	[100.0]	4	[12.1]	11	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[6.1]	12	[36.4]	0	[0.0]	4	[12.1]	0	[0.0]	4	[12.1]	187.9	[18.2]	[48.5]	zusätzliche ak 25008-2
7997	25	[100.0]	0	[0.0]	20	[80.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1100.0	[20.0]	[0.0]	AG1
2155	18	[100.0]	6	[33.3]	8	[44.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[22.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	666.7	[22.2]	[0.0]	L3+L4 mit Lüchen 2155-2
24142	19	[100.0]	1	[5.3]	1	[5.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[10.5]	3	[15.8]	0	[0.0]	12	[63.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	94.7	[73.7]	[78.9]	10/19 L3 vollständig
26847	13	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[38.5]	0	[0.0]	8	[61.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	100.0	[61.5]	[100.0]	Bild 2
27365	21	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	20	[95.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[4.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	100.0	[4.8]	[100.0]	AG2
24143	19	[100.0]	1	[5.3]	10	[52.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	6	[31.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[15.8]	0	[0.0]	3	[15.8]	100.0	[47.4]	[15.8]	AG1
24516	20	[100.0]	0	[0.0]	2	[10.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	15	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[15.0]	0	[0.0]	3	[15.0]	100.0	[90.0]	[15.0]	AG2
4055	24	[100.0]	0	[0.0]	1	[4.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[8.3]	0	[0.0]	21	[87.5]	0	[0.0]	21	[87.5]	100.0	[87.5]	[95.8]	letthal
9433	21	[100.0]	9	[42.9]	8	[38.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	52.4	[14.3]	[0.0]	AG3, "Delta" an der posterioren Querverne, Augen stark reduziert
9421	18	[100.0]	2	[11.1]	15	[83.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	20.6	[5.6]	[0.0]	AG1
9579	33	[100.0]	1	[3.0]	25	[75.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[15.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[6.1]	0	[0.0]	2	[6.1]	97.0	[21.2]	[6.1]	unverändert
7084	2	[100.0]	0	[0.0]	2	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	100.0	[0.0]	[0.0]	AG1
759	28	[100.0]	11	[39.3]	17	[60.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	60.7	[0.0]	[0.0]	AG1

9.1.2 Verkleinerte Defizienzen

Tab. 9.2: statistische Analyse der Flügel der verkleinerten Defizienzen im Modifier-Hintergrund. Zur näheren Analyse der auffälligen Defizienzen wurden weitere Defizienzen gegen den Modifier-Stamm *UAS-mib1;;C5-Gal4* gekreuzt. Die Flügel der ersten Filialgeneration wurden statistisch ausgewertet. Die erste Spalte zeigt die Stammmnummer nach Bloomington an. Die zweite Spalte zeigt die Anzahl der ausgewerteten Flügel an. Die folgende Spalte zeigt an wieviele Flügel unverändert im Vergleich zum Modifier-Stamm sind. Die nächsten Spalten zeigen an wie oft je nur die L3, L4 oder L5 betroffen ist oder die L3 und L4, L3 und L5, L4 und L5 sowie L3, L4 und L5. Die Werte werden absolut und in Prozent angegeben. Die darauf folgenden Spalten zeigen an wie stark die jeweiligen Venen betroffen sind: / = nicht betroffen, + = leicht, ++ = mittel, +++ = stark. Die folgenden drei Spalten geben an wieviel Prozent der L3, L4 oder L5 insgesamt betroffen ist. Dies bezieht sich jeweils auf die Wiederherstellung von Venengewebe, da die Reduktion von Venengewebe sehr selten auftritt. Die letzte Spalte beinhaltet Bemerkungen. Der Farbcode entspricht den jeweiligen Kategorien, die in **Kap. 3.2.1** beschrieben wurden (**Abb. 3.16**). rosa = Reduziert, hellblau = Unverändert, blau = Abschwächungsgrad 1, orange = Abschwächungsgrad 2, gelb = Abschwächungsgrad 3, grün = Letal, lila = Knautsch, grau = Schmäler.

Stamm	Anzahl N [%]	unverändert	L3	L4	L5	L3+L4	L3+L5	L4+L5	L3+L4+L5	L3	L4	L5	L3	L4	L5	L3	L4	L5	Bemerkungen
8497 CG4832-CG3145	11 [100.0]	1 [9.1]	7 [63.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [9.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [18.2]	+++	-	-	+++	27.3]	18.2]	90.3]	27.3]	18.2]	422 #24933 +19 #6187
23146 CG3147-CG2926	14 [100.0]	15 [93.8]	1 [7.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	(+)	-	-	(+)	0.0]	0.0]	6.3]	0.0]	0.0]	359 #25077
8963 Mlg-pnt	3 [21.4]	3 [21.4]	1 [78.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	++	0.0]	0.0]	78.6]	0.0]	0.0]	419 #6367
25726 Namc-CG10889	10 [100.0]	2 [20.0]	7 [70.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	++	0.0]	0.0]	70.0]	0.0]	0.0]	409 #8964
7965 LAG-CG34307	16 [100.0]	0 [0.0]	3 [18.8]	0 [0.0]	1 [6.3]	3 [18.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [56.3]	+++	++	++	+++	75.0]	62.5]	93.8]	75.0]	62.5]	384 #24973
8968 mhlc-CG42327	12 [100.0]	12 [92.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	92.3]	0.0]	0.0]	384 #24973
24995 CG3145-nzw	19 [100.0]	3 [15.8]	16 [84.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	84.2]	0.0]	0.0]	419 #6367 +22 #24993
5103 rev?-snoRNA/Mc285-42134s	19 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	19 [100.0]	+++	+++	+++	+++	100.0]	100.0]	100.0]	100.0]	100.0]	359 #25077
2159 mmidst1-wsl	14 [100.0]	4 [28.6]	8 [57.1]	0 [0.0]	2 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	+	-	++	14.3]	14.3]	71.4]	14.3]	14.3]	359 #25077
7690 CG14509-CG1445	8 [100.0]	0 [0.0]	4 [50.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [25.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [25.0]	+++	+++	++	+++	0.0]	0.0]	75.0]	0.0]	0.0]	439 #2997 /Bowden fellen
7689 pros-tophier	13 [100.0]	2 [15.4]	10 [76.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [7.7]	+++	-	-	+++	7.7]	7.7]	84.6]	7.7]	7.7]	384 #24973
7688 CG31050-Slu7	3 [100.0]	3 [100.0]	3 [100.0]	1 [33.3]	1 [33.3]	1 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	33.3]	33.3]	66.7]	33.3]	33.3]	438 #2997 /extra Vrhengewebe
2642 Oh17-Dmmn	18 [100.0]	0 [0.0]	16 [88.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [11.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	11.1]	11.1]	100.0]	11.1]	11.1]	364 #26533
24961 ...CG32071	8 [100.0]	5 [62.5]	3 [37.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	37.5]	0.0]	0.0]	323 #8068
24412 Ert4-GV7387	9 [100.0]	0 [0.0]	7 [77.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	77.8]	0.0]	0.0]	311 #7591
7672 Mlg-enc	7 [100.0]	7 [100.0]	2 [28.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	28.6]	0.0]	0.0]	418 #6694
24409 CG3142-zhvh	12 [100.0]	0 [0.0]	10 [83.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [16.7]	+++	(+)	(+)	+++	16.7]	16.7]	100.0]	16.7]	16.7]	324 #6694
7653 CG14866-CG18516	13 [100.0]	1 [7.7]	5 [38.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [61.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [23.1]	+++	+	+	+++	7.7]	7.7]	94.7]	7.7]	7.7]	392 #9152
7991 CG9590-...	21 [100.0]	2 [9.5]	5 [23.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [66.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	9.5]	9.5]	66.7]	9.5]	9.5]	392 #9152
8092 CSNe-CG48095	8 [100.0]	3 [37.5]	5 [62.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	62.5]	0.0]	0.0]	418 #6684
9479 hnt-CG4360	10 [100.0]	1 [10.0]	1 [10.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [20.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	30.0]	0.0]	0.0]	Unverändert
7991 neu-mbc	15 [100.0]	4 [26.7]	1 [6.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [60.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	6.7]	6.7]	73.3]	6.7]	6.7]	422 #24993
7700 CG5254-CG36997700 CG5254-CG3699770	11 [100.0]	4 [36.4]	7 [63.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	63.6]	0.0]	0.0]	1 #1546 + 3 #901 + 5 #9053
12434 CG8650	14 [100.0]	0 [0.0]	12 [85.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	100.0]	14.3]	0.0]	32 #3196 + 34 #8955
24901 drc	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [14.3]	0 [0.0]	11 [78.6]	+++	++	++	+++	0.0]	0.0]	100.0]	85.7]	92.9]	45 #26564 + 46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
8636 WhfS-...	11 [100.0]	13 [92.9]	1 [7.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	(+)	-	-	(+)	0.0]	0.0]	7.1]	0.0]	0.0]	63 #29732
7721 Hmnp21-...	15 [100.0]	1 [6.7]	14 [93.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	93.3]	0.0]	0.0]	86 #29994
7712 CG5937-CG3745	24 [100.0]	3 [12.5]	15 [62.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [16.7]	1 [4.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	4.2]	4.2]	79.2]	4.2]	4.2]	24 #8949 + 26 #8947
7717 McCellf-c-GG1138	16 [100.0]	5 [31.3]	9 [56.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [12.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	68.8]	12.5]	0.0]	31 #930 + 55 #9217
7707 ...CG32791	12 [100.0]	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	-	-	-	-	0.0]	0.0]	0.0]	0.0]	0.0]	15 #9169 Zreduzierte L2
9056 nel-CG34104	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	11 [100.0]	+++	+++	+++	+++	0.0]	0.0]	100.0]	0.0]	0.0]	45 #26564 + 46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
43608 CG3259	16 [100.0]	0 [0.0]	14 [77.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [22.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+++	+++	+++	0.0]	0.0]	100.0]	22.2]	0.0]	18 #8956 + 19 #944 + 21 #7708
7761 Bc-CG3181701	21 [100.0]	9 [42.9]	12 [57.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	57.1]	0.0]	0.0]	80 #29733 + 81 #24376 + 82 #26568
7996 CG34124-Rm11	10 [100.0]	1 [10.0]	9 [90.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	90.0]	0.0]	0.0]	123 #1164
24353 wde-...	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [100.0]	+++	+++	+++	+++	0.0]	0.0]	100.0]	0.0]	0.0]	209 #3566 + 210 #25428
7421 ...Ovng	16 [100.0]	11 [68.8]	5 [31.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	68.8]	0.0]	0.0]	162 #32756
8042 lgl	17 [100.0]	0 [0.0]	13 [76.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [23.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	76.5]	0.0]	0.0]	93 #2626
7872 AQP-mr-184-RA	10 [100.0]	0 [0.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	100.0]	0.0]	0.0]	226 #442
24629 CG4629-CG4340124629 CG4629-CG4340	13 [100.0]	7 [53.8]	6 [46.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	46.2]	0.0]	0.0]	100 #3084 + 101 #24118
7827 Aec11-CG42830	12 [100.0]	0 [0.0]	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	100.0]	0.0]	0.0]	175 #3180
7838 lrb-CG15144	9 [100.0]	4 [44.4]	5 [55.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	55.6]	0.0]	0.0]	175 #3180
7491 S-Pilae	17 [100.0]	1 [5.9]	16 [94.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	-	-	+++	0.0]	0.0]	94.1]	0.0]	0.0]	100 #3084 + 101 #24118
7836 Aec11-CvN	18 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	18 [100.0]	+++	+++	+++	+++	0.0]	0.0]	100.0]	0.0]	0.0]	175 #3180
34406 S062-...	9 [100.0]	2 [22.2]	7 [77.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	77.8]	0.0]	0.0]	359 #9566
7496 CG325-CG3036	21 [100.0]	0 [0.0]	4 [19.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [9.5]	0 [0.0]	15 [71.4]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	71.4]	0.0]	0.0]	123 #1164
7591 nord-slk	26 [100.0]	0 [0.0]	15 [57.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [38.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [3.8]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	57.7]	3.8]	0.0]	273 #2752
7520 sano-aha	20 [100.0]	0 [0.0]	16 [80.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [15.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.0]	+++	+	+	+++	0.0]	0.0]	80.0]	5.0]	0.0]	249 #8918
75491 hnt1-Wha100-3	27 [100.0]	0 [0.0]	6 [22.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [14.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	17 [63.0]	+++	+++	+++	+++	0.0]	0.0]	63.0]	17.8]	0.0]	249 #8918 gekrauschte Flügel,SkV,Querverwundefekt

9.1.3 Die getesteten Allele

Tab. 9.3: statistische Analyse der Flügel der getesteten Allele im Modifier-Hintergrund. Zur näheren Analyse der auffälligen Bereiche innerhalb der Defizienzen wurden Allele gegen den Modifier-Stamm *UAS-mib1;;C5-Gal4* gekreuzt. Die Flügel der ersten Filialgeneration wurden statistisch ausgewertet. Die erste Spalte zeigt die Stammmnummer nach Bloomington an. Die zweite Spalte zeigt die Anzahl der ausgewerteten Flügel an. Die folgende Spalte zeigt an wieviele Flügel unverändert im Vergleich zum Modifier-Stamm sind. Die nächsten Spalten zeigen an wie oft je nur die L3, L4 oder L5 betroffen ist oder die L3 und L4, L3 und L5, L4 und L5 sowie L3, L4 und L5. Die Werte werden absolut und in Prozent angegeben. Die darauf folgenden Spalten zeigen an wie stark die jeweiligen Venen betroffen sind: / = nicht betroffen, + = leicht, ++ = mittel, +++ = stark. Die folgenden drei Spalten geben an wieviel Prozent der L3, L4 oder L5 insgesamt betroffen ist. Dies bezieht sich jeweils auf die Wiederherstellung von Venengewebe, da die Reduktion von Venengewebe sehr selten auftritt. Die letzte Spalte beinhaltet Bemerkungen. Der Farbcode entspricht den jeweiligen Kategorien, die in **Kap. 3.2.1** beschrieben wurden (**Abb. 3.16**). rosa = Reduziert, hellblau = Unverändert, blau = Abschwächungsgrad 1, orange = Abschwächungsgrad 2, gelb = Abschwächungsgrad 3, grün = Letal, lila = Knautsch, grau = Schmäler.

Stamm	Anzahl N [%]	unverändert	L3	L4	L5	L3+L4	L3+L5	L4+L5	L3+L4+L5	L3	L4	L5	L3	L4	L5	Bemerkungen
singed	21 [100.0]	0 [0.0]	3 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [9.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	16 [76.2]	++	++(+)	++(+)	[100.0]	[85.7]	[76.2]	38 #949
mindbomb2 ⁴	12 [100.0]	0 [0.0]	2 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [8.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [75.0]	++	++	++	[100.0]	[83.3]	[75.0]	182 #8935
daughterless	22 [100.0]	1 [4.5]	17 [77.3]	0 [0.0]	4 [18.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[95.5]	[18.2]	[0.0]	150 #1469
FU33 Rabconnectin3b	17 [100.0]	0 [0.0]	7 [41.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [47.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [11.8]	++	+	+	[100.0]	[58.8]	[11.8]	25 #5281
mb2 ¹	18 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	17 [94.4]	++	++	++	[100.0]	[94.4]	[0.0]	182 #8935, pQ "Delta"
scute ^{M6}	14 [100.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	1 [7.1]	0 [0.0]	11 [78.6]	++	++	++	[100.0]	[85.7]	[85.7]	3 #901
FU10 Rabconnectin	21 [100.0]	0 [0.0]	21 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[100.0]	[0.0]	[0.0]	3 #901
sc/ac	12 [100.0]	4 [33.3]	8 [66.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[66.7]	[0.0]	[0.0]	25 #5281
FU39 Rbcn 3b	21 [100.0]	0 [0.0]	11 [52.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [38.1]	1 [4.8]	0 [0.0]	1 [4.8]	++	++	++	[100.0]	[42.9]	[9.5]	25 #5281
GA20 Rbcn 3b	18 [100.0]	0 [0.0]	18 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[100.0]	[0.0]	[0.0]	25 #5281
FEG Rbcn 3b	18 [100.0]	0 [0.0]	18 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[100.0]	[0.0]	[0.0]	25 #5281
FU10 Rbcn 3a	18 [100.0]	0 [0.0]	17 [94.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[100.0]	[5.6]	[0.0]	123 #1164, selten L2 Reduktion
tkv ^{M12}	17 [100.0]	10 [58.8]	7 [41.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[41.2]	[0.0]	[0.0]	392 #9152
waharan	10 [100.0]	9 [90.0]	1 [10.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	(+)	-	-	[10.0]	[0.0]	[0.0]	418 #8684
26727 rumi	13 [100.0]	0 [0.0]	3 [23.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [30.8]	4 [30.8]	0 [0.0]	2 [15.4]	++	++	++	[100.0]	[46.2]	[46.2]	392 #9152
474 cvd	16 [100.0]	0 [0.0]	16 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[100.0]	[0.0]	[0.0]	355 #2597
ruby rb ¹	17 [100.0]	6 [35.3]	11 [64.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[64.7]	[0.0]	[0.0]	93 #24626
37081 CG12582	19 [100.0]	0 [0.0]	19 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	-	-	[100.0]	[0.0]	[0.0]	56 #8898
38993 Be45 ???	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	-	-	-	[0.0]	[0.0]	[0.0]	32 #3196
11653 smr ^{G0060}	14 [100.0]	12 [85.7]	2 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	-	(+)	-	[0.0]	[14.3]	[0.0]	355 #2597
26674 aux ^{L4}	19 [100.0]	1 [5.3]	17 [89.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	++	-	[94.7]	[5.3]	[0.0]	220 #442
354 net ¹	13 [100.0]	0 [0.0]	7 [53.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [30.8]	1 [7.7]	0 [0.0]	1 [7.7]	+++	++	+	[100.0]	[38.5]	[15.4]	419 #6367 + 422 #24993
8745 smo ^{71e1}	19 [100.0]	0 [0.0]	3 [15.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	16 [84.2]	+++	+++	++	[100.0]	[84.2]	[84.2]	439 #29997 + 440 #25005
21 cm ¹	6 [100.0]	0 [0.0]	5 [83.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	++	-	[100.0]	[16.7]	[0.0]	447 #2234
24598 CG14636	9 [100.0]	7 [77.8]	2 [22.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+	-	-	[22.2]	[0.0]	[0.0]	439 #29997 + 440 #25005
vg ^{887R}	25 [100.0]	0 [0.0]	8 [32.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	12 [48.0]	0 [0.0]	5 [20.0]	+++	+++	+++	[100.0]	[20.0]	[68.0]	392 #9152
garnet	20 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	20 [100.0]	+++	+++	+++	[100.0]	[100.0]	[100.0]	220 #442
15336 CG16254	23 [100.0]	0 [0.0]	7 [30.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	16 [69.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	++	-	[100.0]	[69.6]	[0.0]	58 #8952
20212 CG2006	15 [100.0]	0 [0.0]	14 [93.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [6.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	++	-	[100.0]	[6.7]	[0.0]	419 #6367 + 422 #24993
15364 E1alpha10E	24 [100.0]	0 [0.0]	1 [4.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [20.8]	1 [4.2]	0 [0.0]	17 [70.8]	+++	+++	+++	[100.0]	[91.7]	[75.0]	439 #29997 + 440 #25005
20349 stg	29 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [34.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	19 [65.5]	+++	+++	+++	[100.0]	[100.0]	[65.5]	447 #2234
19202 Surf4	19 [100.0]	19 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	-	-	-	[0.0]	[0.0]	[0.0]	439 #29997 + 440 #25005
14848 CG11873	14 [100.0]	2 [14.3]	0 [0.0]	4 [28.6]	0 [0.0]	8 [57.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	++	-	[57.1]	[85.7]	[0.0]	392 #9152
15642 Rpn9	17 [100.0]	0 [0.0]	8 [47.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [52.9]	+++	+++	++	[100.0]	[52.9]	[52.9]	439 #29997 + 440 #25005
4544 gammaCop	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [28.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [71.4]	+++	+++	++	[100.0]	[100.0]	[71.4]	419 #6367 + 422 #24993
5089 Ptp99A	10 [100.0]	0 [0.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+++	++	[100.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
15177 CG10214	17 [100.0]	0 [0.0]	1 [5.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	15 [88.2]	+++	+++	+++	[100.0]	[94.1]	[88.2]	439 #29997 + 440 #25005
25306 CG11876	18 [100.0]	4 [22.2]	3 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [44.4]	++	++	++	[77.8]	[61.1]	[44.4]	419 #6367 + 422 #24993
20399 CG7185	17 [100.0]	6 [35.3]	9 [52.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [11.8]	++	++	++	[64.7]	[11.8]	[11.8]	439 #29997 + 440 #25005
19368 CG2118	11 [100.0]	9 [81.8]	2 [18.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	++	-	[18.2]	[0.0]	[0.0]	311 #7591
28740 ligatin	14 [100.0]	3 [21.4]	8 [57.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	++	++	(+)	[78.6]	[21.4]	[7.1]	#NAME?
15569 CG11504	17 [100.0]	0 [0.0]	17 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+++	++	[100.0]	[0.0]	[0.0]	439 #29997 + 440 #25005
22965 impE1	19 [100.0]	0 [0.0]	15 [78.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [21.1]	+++	+++	(+)	[100.0]	[21.1]	[21.1]	444 #2352
21101 Atg14	16 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	16 [100.0]	+++	+++	+++	[100.0]	[100.0]	[100.0]	311 #7591
15509 pasha	13 [100.0]	0 [0.0]	7 [53.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [46.2]	+++	++	++	[100.0]	[46.2]	[46.2]	439 #29997 + 440 #25005
23066 5-HT7	10 [100.0]	4 [40.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [40.0]	0 [0.0]	2 [20.0]	++	++	++	[60.0]	[20.0]	[60.0]	447 #2234
14211 cindr	17 [100.0]	4 [23.5]	11 [64.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [11.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	++	+	-	[76.5]	[11.8]	[0.0]	447 #2234
23716 dico	8 [100.0]	0 [0.0]	8 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+++	+++	[100.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
20622 Trc8	13 [100.0]	0 [0.0]	5 [38.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [61.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	+++	+++	-	[100.0]	[61.5]	[0.0]	439 #29997 + 440 #25005

22543 CG2310	21	[100.0]	0	[0.0]	14	[66.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[4.8]	+++	+++	[100.0]	[33.3]	[4.8]	439 #29997 + 440 #25005
22917 CG2010	19	[100.0]	0	[0.0]	11	[57.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[42.1]	+++	+++	[100.0]	[42.1]	[42.1]	439 #29997 + 440 #25005
20333 Sp3	13	[100.0]	0	[0.0]	13	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
21994 CG4360	18	[100.0]	1	[8.3]	6	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[41.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	[91.7]	[41.7]	[0.0]	409 #8964
7095 tll	17	[100.0]	1	[5.9]	15	[88.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	(+)	[94.1]	[5.9]	[0.0]	447 #2234
23030 CG1607	18	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.6]	0	[0.0]	+++	+++	[100.0]	[94.4]	####	447 #2234
11609 Rga	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[14.3]	0	[0.0]	12	[85.7]	+++	+++	[100.0]	[100.0]	[85.7]	359 #25099
21095 CG1910	12	[100.0]	0	[0.0]	4	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[33.3]	0	[0.0]	4	[33.3]	+++	+++	[100.0]	[66.7]	[33.3]	447 #2234
34149 Indy-2,CG33934	9	[100.0]	2	[22.2]	7	[77.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[77.8]	[0.0]	[0.0]	409 #8964
22526 CG7197	15	[100.0]	0	[0.0]	11	[73.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[26.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[26.7]	[0.0]	311 #7591
4164 CG1856	10	[100.0]	5	[50.0]	5	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[50.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
27872 CG14160	10	[100.0]	1	[10.0]	9	[90.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[90.0]	[0.0]	[0.0]	316 #997 + 320 #24416
22271 CG2911	22	[100.0]	1	[4.5]	21	[95.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[95.5]	[0.0]	[0.0]	359 #25099
22061 CG7182	9	[100.0]	4	[44.4]	5	[55.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[55.6]	[0.0]	[0.0]	311 #7591
14028 CG16718	20	[100.0]	7	[35.0]	13	[65.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[65.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152 ???
43938 CG22187	8	[100.0]	4	[50.0]	4	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[50.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
9006 Med	10	[100.0]	0	[0.0]	2	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[80.0]	+++	++	[100.0]	[80.0]	[80.0]	447 #2234
31853 Ir100a	14	[100.0]	9	[64.3]	5	[35.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[35.7]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
26701 para	20	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	20	[100.0]	+++	+++	[100.0]	[100.0]	####	69 #23295 + 70 #26858
14611 modf(r)	16	[100.0]	3	[18.8]	13	[81.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[81.3]	[0.0]	[0.0]	1 #1546 + 3 #901 + #9053
43711 Hmt4-20	24	[100.0]	1	[4.2]	15	[62.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[12.5]	0	[0.0]	5	[20.8]	+++	++	[95.8]	[20.8]	[33.3]	18 #8956 + 19 #944 + 21 #7708
27777 SPR	17	[100.0]	7	[41.2]	8	[47.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[58.8]	[11.8]	[0.0]	1 #1546 + 3 #901 + #9053
26623 Vps26	14	[100.0]	0	[0.0]	7	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[28.6]	0	[0.0]	3	[21.4]	+++	+	[100.0]	[50.0]	[21.4]	10 #8031 + 11 #9348 + 12 #8948
4095 ssg	20	[100.0]	0	[0.0]	17	[85.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[15.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[0.0]	[15.0]	
18971 Rab9D	18	[100.0]	2	[11.1]	1	[5.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.6]	2	[11.1]	0	[0.0]	+++	++	[88.9]	[72.2]	[77.8]	
11429 Fur2	14	[100.0]	12	[85.7]	2	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[14.3]	[0.0]	[0.0]	68 #26869
10799 Clect7	18	[100.0]	4	[22.2]	14	[77.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[77.8]	[0.0]	[0.0]	123 #1164
14109 morgue	14	[100.0]	0	[0.0]	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[0.0]	[0.0]	119 #23680 + 120 #744 RNAi zeigt AG3
17216 Ubc-E2H	16	[100.0]	7	[43.8]	9	[56.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[56.3]	[0.0]	[0.0]	
23608 Nlg4	16	[100.0]	12	[75.0]	4	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[25.0]	[0.0]	[0.0]	409 #8964
41020 RhoGAP100F	18	[100.0]	14	[77.8]	4	[22.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[22.2]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
23112 ATP5yalpha-Cf6	16	[100.0]	6	[37.5]	10	[62.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[62.5]	[0.0]	[0.0]	419 #6367 + 422 #24993
29211 CanA1	13	[100.0]	1	[7.7]	12	[92.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[92.3]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
52077 CG5023	16	[100.0]	2	[12.5]	11	[68.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[18.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[87.5]	[18.8]	[0.0]	409 #8964
23284 NclDronc	18	[100.0]	0	[0.0]	17	[94.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[5.6]	[0.0]	316 #997 + 320 #24416
26079 CG13671	14	[100.0]	0	[0.0]	11	[78.6]	1	[7.1]	0	[0.0]	2	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[92.9]	[21.4]	[0.0]	311 #7591
24239 Ccm3	18	[100.0]	2	[11.1]	16	[88.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[88.9]	[0.0]	[0.0]	392 #9152
27137 CG7083 (DNApol-alpha50 includ	13	[100.0]	3	[23.1]	10	[76.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[76.9]	[0.0]	[0.0]	311 #7591
51251 elf4E-3	15	[100.0]	4	[26.7]	11	[73.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[73.3]	[0.0]	[0.0]	311 #7591
24216 CG1544	16	[100.0]	2	[12.5]	13	[81.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[6.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[87.5]	[6.3]	[0.0]	447 #2234
24658 zwilch	17	[100.0]	4	[23.5]	13	[76.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[76.5]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
22831 CG34461	15	[100.0]	0	[0.0]	13	[86.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[13.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	(+)	[100.0]	[13.3]	[0.0]	311 #7591
42429 Rbp	14	[100.0]	0	[0.0]	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152
13921 CG6236	16	[100.0]	5	[31.3]	11	[68.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[68.8]	[0.0]	[0.0]	316 #997 + 320 #24416
2519 vnc	12	[100.0]	2	[16.7]	9	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[8.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	(+)	[83.3]	[8.3]	[0.0]	316 #997 + 320 #24416
43715 CG8177	13	[100.0]	1	[7.7]	12	[92.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[92.3]	[0.0]	[0.0]	316 #997 + 320 #24416
25100 taf	14	[100.0]	0	[0.0]	4	[28.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	10	[71.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	[100.0]	[71.4]	[0.0]	447 #2234
35853 Cui-5	16	[100.0]	2	[12.5]	4	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[50.0]	+++	++	[87.5]	[62.5]	[50.0]	439 #29997 + 440 #25005
50853 CG7201	20	[100.0]	1	[5.0]	19	[95.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[95.0]	[0.0]	[0.0]	311 #7591
19273 CG6171+CG34404 (Trax included	12	[100.0]	5	[41.7]	6	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[8.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[58.3]	[8.3]	[0.0]	392 #9152

32691 RhoGAP102A (dpr)	21 [100.0]	1 [4.8]	13 [61.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	7 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[95.2]	[33.3]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
636 bt	19 [100.0]	0 [0.0]	15 [78.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [21.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[21.1]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
23306 PMCA	10 [100.0]	0 [0.0]	16 [84.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [15.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[15.8]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
13625 Asator	19 [100.0]	5 [50.0]	5 [50.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[50.0]	[0.0]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
4759 pan	23 [100.0]	0 [0.0]	3 [13.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [21.7]	1 [4.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [60.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[82.6]	[65.2]	457 #4005 + 458 #9433
23728 Lin29	18 [100.0]	0 [0.0]	8 [44.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [55.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[55.6]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
16114 CG33978	26 [100.0]	0 [0.0]	21 [80.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [19.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[19.2]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
24321 chip	21 [100.0]	5 [23.8]	7 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [42.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [23.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[66.7]	[23.8]	447 #2234
13876 Pur-alpha	16 [100.0]	0 [0.0]	6 [37.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [62.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[62.5]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
42700 lgs	20 [100.0]	3 [15.0]	1 [5.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [50.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [30.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[80.0]	[30.0]	457 #4005 + 458 #9433
26089 CG31997	22 [100.0]	0 [0.0]	8 [36.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [63.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[63.6]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
638 ci (pan)	10 [100.0]	4 [40.0]	3 [30.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [30.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[60.0]	[30.0]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
17177 Ir21a	27 [100.0]	1 [3.7]	6 [22.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	20 [74.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[96.3]	[74.1]	[0.0]	93 #24626
27428 CG3008	13 [100.0]	0 [0.0]	7 [53.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [46.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[46.2]	[0.0]	123 #1164
44833 CG14024	21 [100.0]	0 [0.0]	3 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [66.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [19.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[85.7]	[19.0]	127 #7497
13074 CG42817	19 [100.0]	0 [0.0]	6 [31.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	6 [22.2]	1 [3.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	19 [70.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[92.6]	[74.1]	173 #27353
27789 Ir25a	19 [100.0]	0 [0.0]	6 [31.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [15.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [52.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[68.4]	[52.6]	123 #1164
12411 Zlr	12 [100.0]	0 [0.0]	1 [8.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [8.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	10 [83.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[83.3]	[91.7]	93 #24626
3058 sxc	14 [100.0]	0 [0.0]	13 [92.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [7.1]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[7.1]	[0.0]	192 #25705
246 bs	21 [100.0]	0 [0.0]	7 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [66.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[66.7]	[0.0]	273 #27352
29288 Ndg	16 [100.0]	0 [0.0]	10 [62.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [31.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [6.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[37.5]	[6.3]	209 #23666
23466 CG15147	15 [100.0]	6 [40.0]	7 [46.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [13.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[60.0]	[13.3]	[0.0]	175 #3180
42307 frj	27 [100.0]	1 [3.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	9 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	17 [63.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[96.3]	[63.0]	131 #9341
18391 CG5126	21 [100.0]	8 [38.1]	13 [61.9]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[61.9]	[0.0]	[0.0]	100 #3084 + 101 #24118
18236 Nco6	15 [100.0]	6 [40.0]	9 [60.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[60.0]	[0.0]	[0.0]	127 #7497
15251 CG9815	17 [100.0]	0 [0.0]	17 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[0.0]	[0.0]	270 #26513
55463 CG42818	25 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [20.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	20 [80.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[100.0]	[80.0]	173 #27353
42206 laccase2	19 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [5.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	18 [94.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[100.0]	[94.7]	192 #25705
29699 CG31643	17 [100.0]	0 [0.0]	4 [23.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	13 [76.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[76.5]	[0.0]	131 #9341
3620 mRpl4	25 [100.0]	0 [0.0]	12 [48.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [8.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	11 [44.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[52.0]	[44.0]	173 #27353
3606 crp	20 [100.0]	0 [0.0]	12 [60.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [20.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	4 [20.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[40.0]	[20.0]	173 #27353
55720 Spn27A	16 [100.0]	0 [0.0]	16 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[0.0]	[0.0]	134 #9615
37860 CG17508	20 [100.0]	1 [5.0]	16 [80.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [15.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[95.0]	[15.0]	[0.0]	192 #25705
benless	13 [100.0]	11 [84.6]	2 [15.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[15.4]	[0.0]	[0.0]	1
16449 mRps2	17 [100.0]	0 [0.0]	2 [11.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	12 [70.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [17.6]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[88.2]	[17.6]	123 #1164
12915 Obp46a	20 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	15 [75.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	5 [25.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[100.0]	[25.0]	209 #23666
260 Cyp303a1	20 [100.0]	0 [0.0]	13 [65.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	7 [35.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[35.0]	[0.0]	173 #27353
32760 TgalPhaPSS	20 [100.0]	0 [0.0]	1 [5.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	19 [95.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[95.0]	[0.0]	270 #26513
35912 CG30411 (CG69812)	21 [100.0]	0 [0.0]	20 [95.2]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [4.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[4.8]	[0.0]	270 #26513
22792 Msp-300	17 [100.0]	0 [0.0]	17 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[0.0]	[0.0]	127 #7497
30993 Ostp26F	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[0.0]	[0.0]	134 #9615
4974 cort	23 [100.0]	0 [0.0]	21 [91.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [8.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[8.7]	[0.0]	134 #9615
29226 CG11927	15 [100.0]	2 [13.3]	13 [86.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[86.7]	[0.0]	[0.0]	123 #1164
2492 fcy	21 [100.0]	0 [0.0]	21 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[0.0]	[0.0]	173 #27353
27436 CG5861	25 [100.0]	0 [0.0]	25 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[0.0]	[0.0]	173 #27353
22418 CG5001	16 [100.0]	0 [0.0]	15 [93.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [6.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[6.3]	[0.0]	100 #3084 + 101 #24118
10564 RamBPM	24 [100.0]	0 [0.0]	4 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	20 [83.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[100.0]	[83.3]	[0.0]	209 #23666
3645 Syy5	9 [100.0]	5 [55.6]	4 [44.4]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[44.4]	[0.0]	[0.0]	173 #27353
37646 Of59b (CG43795)	21 [100.0]	2 [9.5]	17 [81.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [9.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[90.5]	[9.5]	[0.0]	270 #26513
52032 vrt	21 [100.0]	1 [4.8]	17 [81.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	3 [14.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	[95.2]	[14.3]	[0.0]	127 #7497

20852 Aaft	19	[100.0]	0	[0.0]	9	[47.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.3]	+++	++	./.	[100.0]	[52.6]	[5.3]	134 #9615		
23766 Acp53C14a	22	[100.0]	0	[0.0]	22	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	./.	[100.0]	[0.0]	[0.0]	239 #7546		
4274 twe	13	[100.0]	0	[0.0]	13	[65.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[10.0]	+++	+	(+)	[100.0]	[35.0]	[10.0]	173 #27353		
32746 pkaap	13	[100.0]	2	[45.4]	11	[84.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[84.6]	[0.0]	[0.0]	173 #27353		
15151 CG4896	17	[100.0]	10	[58.8]	7	[41.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	++(+)	./.	./.	[41.2]	[0.0]	[0.0]	100 #3084 + 101 #24118		
20379 jhl-1	20	[100.0]	0	[0.0]	4	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[40.0]	+++	++	+	[100.0]	[75.0]	[45.0]	209 #23666		
8551 dbr	14	[100.0]	1	[7.1]	5	[35.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	./.	[92.9]	[57.1]	[0.0]	93 #24626		
20873 CG9293	20	[100.0]	1	[5.0]	19	[95.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	./.	./.	[95.0]	[0.0]	[0.0]	162 #32256		
20971 PRL-1	17	[100.0]	1	[5.9]	13	[76.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[17.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	./.	./.	[94.1]	[17.6]	[0.0]	173 #27353		
7187 Nipped-A	13	[100.0]	4	[30.8]	8	[61.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[7.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[69.2]	[7.7]	[0.0]	192 #25705		
38163 CG30438	17	[100.0]	0	[0.0]	13	[76.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[23.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++(+)	./.	[100.0]	[23.5]	[0.0]	192 #25705		
19138 CG10465	14	[100.0]	12	[85.7]	2	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+	./.	./.	[14.3]	[0.0]	[0.0]	192 #25705		
55496 FIS1	16	[100.0]	1	[6.3]	15	[93.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	./.	[93.8]	[0.0]	[0.0]	192 #25705		
18638 CG9135	19	[100.0]	2	[10.5]	17	[89.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	./.	[89.5]	[0.0]	[0.0]	131 #9341		
25341 Oli	12	[100.0]	1	[8.3]	8	[66.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[91.7]	[25.0]	[0.0]	175 #3180		
9845 Galphao	19	[100.0]	0	[0.0]	19	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[100.0]	[0.0]	[0.0]	209 #23666		
25325 CG7742	18	[100.0]	2	[11.1]	10	[55.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	6	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[88.9]	[33.3]	[0.0]	127 #7497		
26908 CG5869	22	[100.0]	1	[4.5]	21	[95.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++(+)	./.	./.	[95.5]	[0.0]	[0.0]	173 #27353		
11489 Bub1	20	[100.0]	0	[0.0]	19	[95.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	(+)	./.	[100.0]	[5.0]	[0.0]	127 #7497		
41510 robb3	14	[100.0]	3	[21.4]	6	[42.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[35.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++(+)	./.	[78.6]	[35.7]	[0.0]	100 #3084 + 101 #24118		
24593 Cyp49a1	16	[100.0]	0	[0.0]	8	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[100.0]	[50.0]	[0.0]	209 #23666		
23433 CG6197	16	[100.0]	1	[6.3]	9	[56.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	6	[37.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	+	./.	[93.8]	[37.5]	[0.0]	209 #23666		
24436 pog	17	[100.0]	0	[0.0]	6	[35.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	9	[52.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	+++	++	[100.0]	[64.7]	[11.8]	123 #1164	
14715 Nhe3	12	[100.0]	0	[0.0]	12	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[100.0]	[0.0]	[0.0]	134 #9615	
20304 AHR	18	[100.0]	9	[50.0]	9	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	./.	./.	[50.0]	[0.0]	[0.0]	134 #9615		
44769 CG6191	9	[100.0]	0	[0.0]	9	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[100.0]	[25.0]	[0.0]	209 #23666		
13931 Sryalpha	12	[100.0]	4	[33.3]	8	[66.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[66.7]	[0.0]	[0.0]	175 #3180 9xL2 reduziert		
16541 Cyp51B	14	[100.0]	0	[0.0]	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	./.	[100.0]	[0.0]	[0.0]	100 #3084 + 101 #24118		
36458 CG30440	23	[100.0]	0	[0.0]	8	[34.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	12	[52.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[13.0]	+++	++(+)	[100.0]	[65.2]	[13.0]	192 #25705	
55217 Cyp28d	17	[100.0]	0	[0.0]	15	[88.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[100.0]	[11.8]	[0.0]	127 #7497
35133 Tsp	19	[100.0]	0	[0.0]	8	[42.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	11	[57.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	[100.0]	[57.9]	[0.0]	134 #9615	
53170 CG34345	27	[100.0]	0	[0.0]	4	[14.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[18.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	18	[66.7]	+++	++(+)	[100.0]	[85.2]	[66.7]	134 #9615	
23427 CG12943	15	[100.0]	5	[33.3]	8	[53.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	+	./.	[73.3]	[20.0]	[0.0]	209 #23666
25492 CG5565	18	[100.0]	4	[22.2]	12	[66.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	+	./.	[77.8]	[11.1]	[0.0]	100 #3084 + 101 #24118
3600 heix	17	[100.0]	0	[0.0]	12	[70.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[29.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++(+)	[100.0]	[29.4]	[0.0]	173 #27353	
17233 C(2)M	21	[100.0]	4	[19.0]	13	[61.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[19.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[81.0]	[19.0]	[0.0]	173 #27353
29906 Cyp4ac2 (tkv)	20	[100.0]	2	[10.0]	18	[90.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[90.0]	[0.0]	[0.0]	127 #7497	
8561 Liprins1pha	21	[100.0]	2	[9.5]	19	[90.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[90.5]	[0.0]	[0.0]	134 #9615	
55531 CG43071	11	[100.0]	0	[0.0]	8	[72.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[27.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[100.0]	[27.3]	[0.0]	249 #8918
43795 CG43795	25	[100.0]	3	[12.0]	19	[76.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[12.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[88.0]	[12.0]	[0.0]	270 #26513
27842 CG4935	20	[100.0]	0	[0.0]	8	[40.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	12	[60.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[100.0]	[60.0]	[0.0]	173 #27353
54502 CG43188 (luma)	13	[100.0]	1	[7.7]	12	[92.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[92.3]	[0.0]	[0.0]	209 #23666	
28114 CG12895	14	[100.0]	2	[14.3]	10	[71.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[85.7]	[14.3]	[0.0]	209 #23666	
23405 CG11320	20	[100.0]	0	[0.0]	14	[70.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[10.0]	+++	+	[100.0]	[30.0]	[10.0]	134 #9615	
22679 CG42666	14	[100.0]	0	[0.0]	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[100.0]	[0.0]	[0.0]	173 #27353	
19328 CG9812	19	[100.0]	2	[10.5]	17	[89.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	./.	[89.5]	[0.0]	[0.0]	270 #26513
26909 Taf5	16	[100.0]	0	[0.0]	12	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	./.	[100.0]	[25.0]	[0.0]	209 #23666
43614 unc-104	16	[100.0]	0	[0.0]	12	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++(+)	./.	[100.0]	[25.0]	[0.0]	239 #7546
13025 hclb	12	[100.0]	2	[16.7]	10	[83.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[83.3]	[0.0]	[0.0]	209 #23666	
28091 Bsg25D	21	[100.0]	0	[0.0]	21	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	./.	[100.0]	[0.0]	[0.0]	127 #7497	

11877 kmn1	17	[100.0]	1	[5.9]	14	[82.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[11.8]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
17816 onecut	12	[100.0]	0	[0.0]	2	[16.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	10	[83.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[83.3]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
55716 PGRP-SA	13	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	13	[100.0]	0	[0.0]	[100.0]	####	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
23371 ig (CG15465)	17	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	18 #8956 + 19 #944 + 21 #7708
22030 CG7536	19	[100.0]	0	[0.0]	16	[84.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[15.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	80 #29733 + 81 #24376 + 82 #25688
648 ey	12	[100.0]	0	[0.0]	3	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	9	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	457 #4005 + 458 #9433
55727 upd2	20	[100.0]	0	[0.0]	19	[95.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	80 #29733 + 81 #24376 + 82 #25688
26815 btd	13	[100.0]	0	[0.0]	3	[23.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	10	[76.9]	0	[0.0]	[100.0]	[76.9]	45 #26564
4281.crm	17	[100.0]	1	[7.1]	13	[92.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	10 #8031 + 11 #9348 + 12 #8948
10084.egh	20	[100.0]	0	[0.0]	20	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[92.9]	[0.0]	10 #8031 + 11 #9348 + 12 #8948
33473 wupA	22	[100.0]	0	[0.0]	20	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	80 #29733 + 81 #24376 + 82 #25688
53458.CG4422	22	[100.0]	0	[0.0]	20	[90.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[9.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[9.1]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
12734 CG4617	20	[100.0]	0	[0.0]	4	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	11	[55.0]	0	[0.0]	[100.0]	[55.0]	32 #3196 + 34 #8955
27890.comt	13	[100.0]	0	[0.0]	9	[69.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[30.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	57 #26864
30887.lip7	25	[100.0]	0	[0.0]	2	[18.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[12.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	15 #9169
34417.ppk8	18	[100.0]	2	[11.1]	10	[55.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	6	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[88.9]	[0.0]	15 #9169
21235.ta8	24	[100.0]	0	[0.0]	2	[8.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	20	[83.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[8.3]	[100.0]	[8.3]	80 #29733 + 81 #24376 + 82 #25688
11415.Tango13	13	[100.0]	0	[0.0]	12	[92.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[7.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[7.7]	57 #26864
11286.Ant2(SesB)	20	[100.0]	1	[5.0]	8	[40.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	11	[55.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[95.0]	[0.0]	46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
33513.CG2025	19	[100.0]	0	[0.0]	12	[63.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	7	[36.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
3904.P4k(Illalpa)	16	[100.0]	0	[0.0]	12	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[25.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[25.0]	10 #8031 + 11 #9348 + 12 #8948
12668.CG5004	18	[100.0]	0	[0.0]	10	[55.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	6	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.1]	[100.0]	[11.1]	76 #33829
6001.Gs2	14	[100.0]	0	[0.0]	14	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
18979.Brc2	25	[100.0]	0	[0.0]	5	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	18 #8956 + 19 #944 + 21 #7708
11300.Drak	20	[100.0]	0	[0.0]	4	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[40.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
3901.wds	17	[100.0]	0	[0.0]	13	[76.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[11.8]	46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
33117.CG15209 (shr,CG32669)	23	[100.0]	0	[0.0]	3	[13.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	59 #24146 + 60 #9352 + 61 #9218
59489.CG43088 (NetB)	14	[100.0]	0	[0.0]	18	[94.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[28.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	57 #26864
24730.Neto	19	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[5.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[5.3]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
18142.CG11695	22	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
17381.CG2186	17	[100.0]	0	[0.0]	13	[76.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	4	[23.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[23.5]	15 #9169
26639.CG2875	12	[100.0]	0	[0.0]	6	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	6	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[50.0]	46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
19217.CG2909	11	[100.0]	0	[0.0]	11	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
13793.CG10353	20	[100.0]	1	[5.0]	16	[80.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[15.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[95.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
16393.rhc-4	36	[100.0]	36	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
22930.Proc-R	17	[100.0]	1	[5.9]	14	[82.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[17.6]	18 #8956 + 19 #944 + 21 #7708
24576.CG32698	17	[100.0]	0	[0.0]	17	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[94.1]	[0.0]	45 #26564
33562.spr1	20	[100.0]	0	[0.0]	17	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	46 #9153 + 47 #26853 + 48 #25068
33328.CG2540	20	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	####	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
14774.CG1737	22	[100.0]	0	[0.0]	22	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
3729.nej	4	[100.0]	4	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	45 #26564; 4x knautsch, pupal letal
15368.CG9634	18	[100.0]	18	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954; 9xαO, 8xposterior schmaler
18686.CG4653	11	[100.0]	0	[0.0]	9	[81.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[18.2]	0	[0.0]	[100.0]	[18.2]	74 #1158 + 75 #8954
33340.CG9411	14	[100.0]	1	[7.1]	13	[92.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[92.9]	[0.0]	59 #24146 + 60 #9352 + 61 #9218
14990.mRp122	15	[100.0]	3	[20.0]	12	[80.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[80.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954
41800.inF-B	19	[100.0]	2	[10.5]	17	[89.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[89.5]	[0.0]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 51
18993.CG9132	16	[100.0]	0	[0.0]	9	[56.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[18.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	1	[6.3]	[100.0]	[25.0]	74 #1158 + 75 #8954
26624.CG9609	9	[100.0]	3	[33.3]	6	[66.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[66.7]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954
25095.Rala	5	[100.0]	0	[0.0]	5	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	15 #9169
12842.CG32767	9	[100.0]	0	[0.0]	9	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	[100.0]	[0.0]	18 #8956 + 19 #944 + 21 #7708

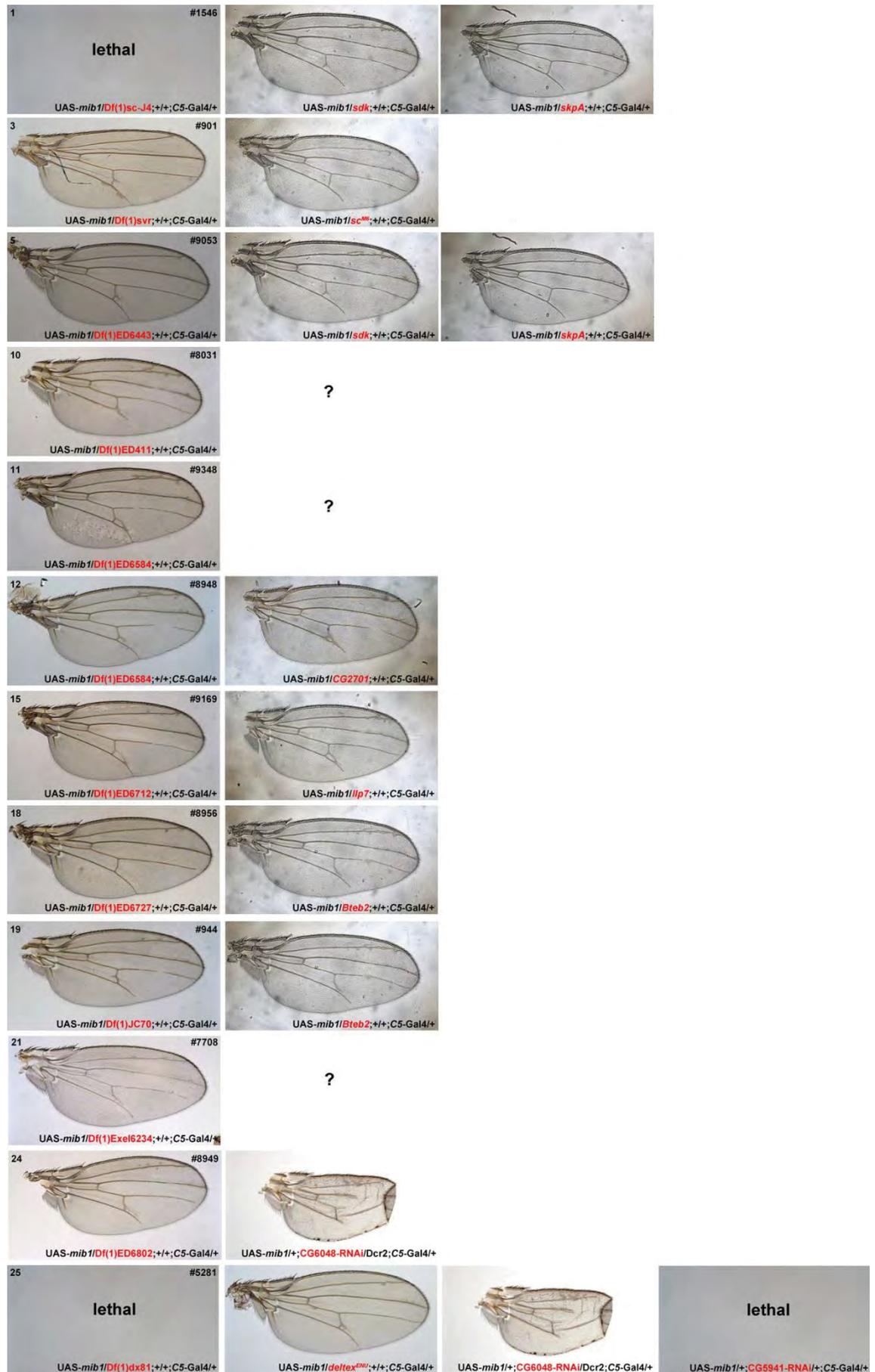
9.1.4 Die getesteten RNAi-Linien

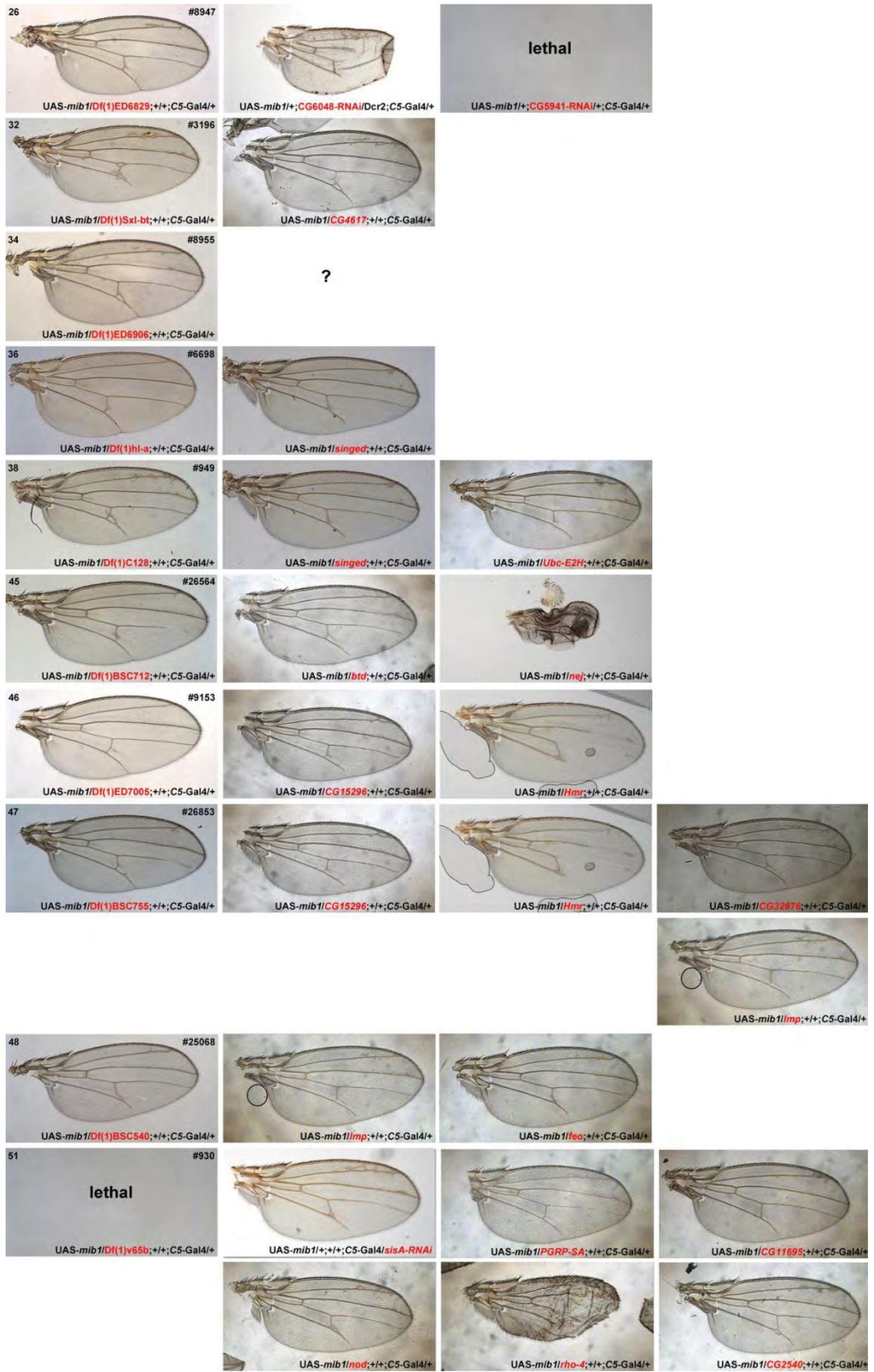
Tab. 9.4: statistische Analyse der Flügel der getesteten RNAi-Linien im Modifier-Hintergrund. Zur näheren Analyse der auffälligen Defizienzen wurden RNAi-Linien mit und ohne Dcr2 im Modifier-Hintergrund UAS-*mibl*;C5-Gal4 koexprimiert. Die erste Spalte zeigt die Stammnummer nach Bloomington an. Die zweite Spalte zeigt die Anzahl der ausgewerteten Flügel an. Die folgende Spalte zeigt an wieviele Flügel unverändert im Vergleich zum Modifier-Stamm sind. Die nächsten Spalten zeigen an wie oft je nur die L3, L4 oder L5 betroffen ist oder die L3 und L4, L3 und L5, L4 und L5 sowie L3, L4 und L5. Die Werte werden absolut und in Prozent angegeben. Die darauf folgenden Spalten zeigen an wie stark die jeweiligen Venen betroffen sind: / = nicht betroffen, + = leicht, ++ = mittel, +++ = stark. Die folgenden drei Spalten geben an wieviel Prozent der L3, L4 oder L5 insgesamt betroffen ist. Dies bezieht sich jeweils auf die Wiederherstellung von Venengewebe, da die Reduktion von Venengewebe sehr selten auftritt. Die letzte Spalte beinhaltet Bemerkungen. Der Farbcode entspricht den jeweiligen Kategorien, die in **Kap. 3.2.1** beschrieben wurden (**Abb. 3.16**). rosa = Reduziert, hellblau = Unverändert, blau = Abschwächungsgrad 1, orange = Abschwächungsgrad 2, gelb = Abschwächungsgrad 3, grün = Letal, lila = Knautsch, grau = Schmäler.

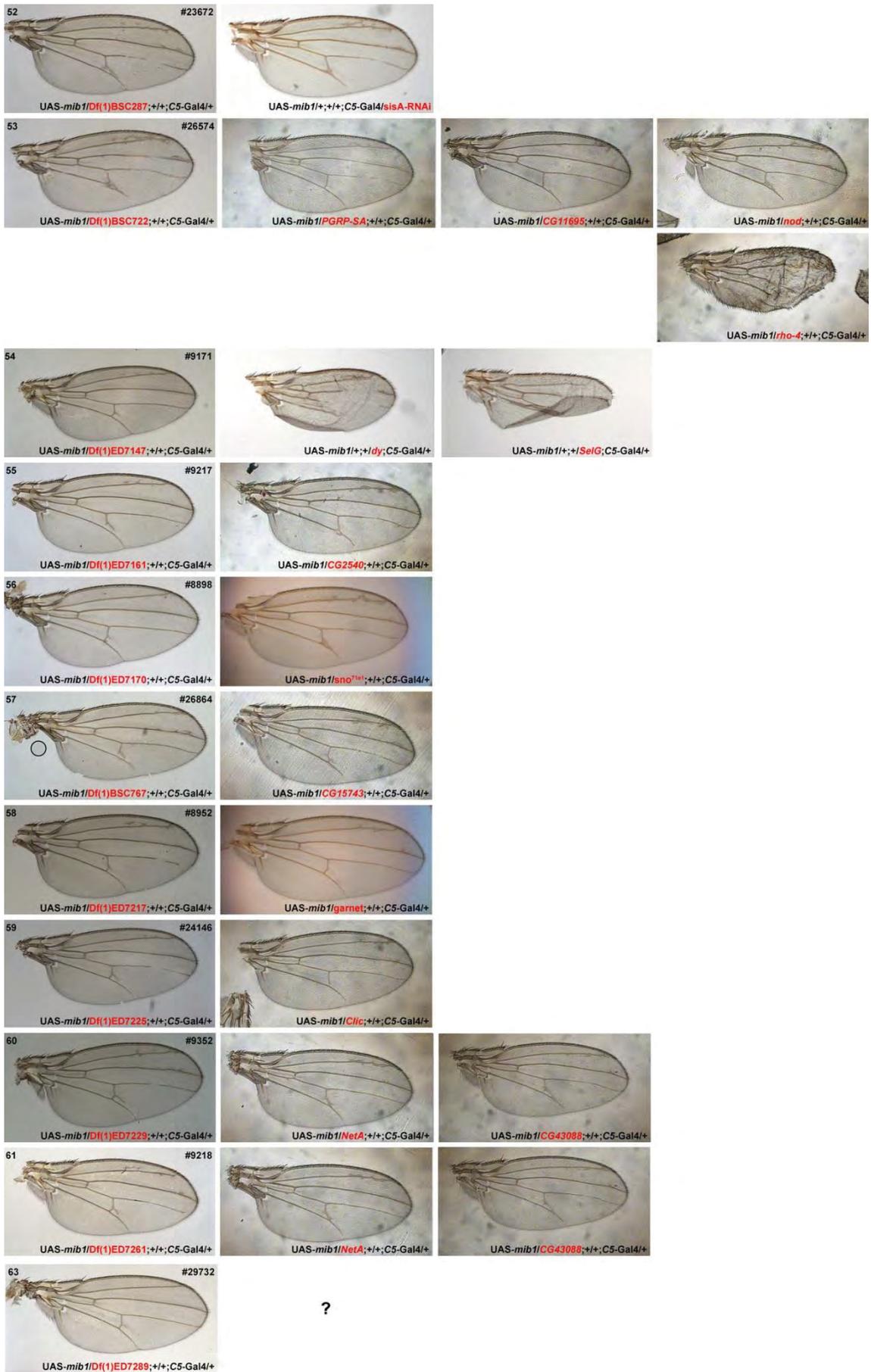
Stamm	Anzahl N [%]	unverändert	L3	L4	L5	L3+L4	L3+L5	L4+L5	L3+L4+L5	L3	L4	L5	L3	L4	L5	Bemerkungen
UASvps20-RNAi	12 [100.0]	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	263 #282, Allele lethal?
Vps4-RNAi KK	20 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	20 [100.0]	./	./	./	[100.0]	[100.0]	[100.0]	UAS-mim1;DerCS-Gal4 , geknauschte Flügel
7525-RNAi	12 [100.0]	4 [33.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	8 [66.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[100.0]	[66.7]	[0.0]	63 #29732; 2x knautsch
V110249 CG9072	16 [100.0]	16 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954
V110069+Der2 CG13002	12 [100.0]	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	86 #29994; Borsten!
V1005946 e[ly3]	17 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	2 [11.8]	0 [0.0]	0 [0.0]	15 [88.2]	./	./	./	[100.0]	[88.2]	[0.0]	273 #27352
V100785+Der2 slbp	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
V104325 CG1890	14 [100.0]	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	409 # 8964
V108771 CG31206	8 [100.0]	8 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
V105677+Der2 CG1607	7 [100.0]	7 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152
V10573 Ants-Ser	12 [100.0]	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	311 #7591
V101237+Der2 G666a	11 [100.0]	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	24 #8949 + 26 #8947; Borsten!
V108512 CG32755	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	24 #8949 + 26 #8947; Borsten!
V104615+Der2 CG6041	6 [100.0]	6 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954
V101535 CG4789	11 [100.0]	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152
V109659+Der2 ear	12 [100.0]	11 [91.7]	1 [8.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[8.3]	[0.0]	[0.0]	422 #24993
V1001393+Der2 CG10214	12 [100.0]	10 [83.3]	2 [16.7]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[16.7]	[0.0]	[0.0]	84 #7768
V105739 pcm	11 [100.0]	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
V133447 Act1	4 [100.0]	4 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	52 #23672; Borsten!
V104245 CG11006	13 [100.0]	13 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	209 #23666
V41147+Der2 CG42733	5 [100.0]	5 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	249 #8918; 5wing margin necrotisch
V104287+Der2 Dpt	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	273 #27352; semiletel. 1xL2, 1xaQ
V50454+Der2 CG13578	2 [100.0]	2 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152; 4knautsch
V107970 Tm2	14 [100.0]	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	316 #997
V107024 scramb1	13 [100.0]	13 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	444 #2352; 1Dx posterior schmaler
V102725 Rp528a	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	209 #23666
V102229 CG12902	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	12 [100.0]	./	./	./	[100.0]	[100.0]	[0.0]	440 #25005; 1xL2, 9x posterior schmaler
V17760 stg	9 [100.0]	9 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	444 #2352
V106335+Der2 Tace	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152; 4xaQ, Borsten!
V25756 CG42726	11 [100.0]	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152; 7xaQ weg
V104460 CG31301	13 [100.0]	13 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	84 #7768; 2xaQ
V105739+Der2 pcm	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954, 5x knautsch
V108491 CG9673	11 [100.0]	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234
V110398 CG2118	8 [100.0]	8 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	409 # 8964
V20406 CG17199	4 [100.0]	4 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	447 #2234; posterior wing margin necrotisch
V25101. gammaCOP	22 [100.0]	5 [22.7]	17 [77.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[77.3]	[0.0]	[0.0]	364 #26533
V105724 Osi9	12 [100.0]	11 [91.7]	1 [8.3]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[8.3]	[0.0]	[0.0]	409 # 8964
V102611 Gp92a	7 [100.0]	7 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152
V109421 CG6136	7 [100.0]	7 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	409 # 8964; 4x posterior schmaler
V110421 CG4973	8 [100.0]	8 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	409 # 8964; 4xaQ, 2xL2
V43162 CG4362	6 [100.0]	6 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	444 #2352; 4xL2
V106475 CG7903	12 [100.0]	12 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	392 #9152; 3knautsch
V109659 ear	10 [100.0]	10 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954, 1x knautsch
V110058 CG16700	9 [100.0]	9 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	52 #23672; 1xaQ
V106937 CG15200	11 [100.0]	11 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	24 #8949 + 26 #8947; 8x posterior schmaler, 1knautsch
V109398 Sep4	13 [100.0]	13 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	52 #23672
V106505 CG12728	15 [100.0]	15 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	59 #24146 + 60 #9352 + 61 #9218; 2x knautsch
V106956 CG34348	14 [100.0]	14 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	
V1059975 Cltc	8 [100.0]	8 [100.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	./	./	./	[0.0]	[0.0]	[0.0]	

Iv104783 prt	12	[100.0]	12	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	419 #6367 + 422 #24993
v1698+DcrZ CG5348	13	[100.0]	13	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	239 #7546; 3xaQ
v1001144+DcrZ CG14034	2	[100.0]	2	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	127 #7497; semilethal
v103249 Jheh1	10	[100.0]	10	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	249 #6918; 5xaQ
v104515+DcrZ CypAc1	6	[100.0]	4	[66.7]	2	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+	-	[33.3]	[0.0]	127 #7497
v4225 RH3	10	[100.0]	10	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	409 # 8964; notches im AG
v105778 App53c14b	7	[100.0]	7	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	239 #7546; 2xknautsch
v27649 TpmC25D	13	[100.0]	13	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	127 #7497; 4xL2, 4xp schmaler
v101407 mAcr-60c	9	[100.0]	9	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	273 #27352
v4225+DcrZ RH3	5	[100.0]	5	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	409 # 8964
v104516 App53c14c	15	[100.0]	15	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	239 #7546
v27649+DcrZ TpmC25D	8	[100.0]	8	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	127 #7497; 1xaQ, 1xL2
v104556+DcrZ CG15617	8	[100.0]	8	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	239 #7546
Iv102187 nyo	11	[100.0]	11	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	447 #2234; 2xp schmaler
v105365 CG5038	11	[100.0]	11	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	392 #9152
v1698 CG5348	11	[100.0]	11	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	239 #7546
v42347 CG13001	8	[100.0]	8	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954; 1x p schmaler, 2xknautsch
Iv42268+DcrZ	8	[100.0]	8	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	57 #26864; 4xp schmaler
Iv48159+DcrZ ned	17	[100.0]	0	[0.0]	7	[41.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	10	[58.8]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[58.8]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 55 #9217
v100465 CG13005	14	[100.0]	0	[0.0]	8	[57.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[21.4]	0	[0.0]	0	[0.0]	3	[21.4]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[42.9]	74 #1158 + 75 #8954
v106916 CG13367	8	[100.0]	0	[0.0]	2	[25.0]	0	[0.0]	6	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	-	[100.0]	[75.0]	3 #901
v10626+DcrZ Gr47a	11	[100.0]	11	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	209 #23666; 1xknautsch
v45526 CG4617	15	[100.0]	6	[40.0]	9	[60.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	++	-	[60.0]	[0.0]	32 #1936; 1xp schmaler
v106551 amdH	10	[100.0]	0	[0.0]	8	[80.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[20.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[20.0]	52 #23672
Iv100957+DcrZ Sytalpha	3	[100.0]	3	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	175 #3180; 1xknautsch, semilethal?
v109421+DcrZ CG6136	11	[100.0]	11	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	392 #9152; 8xknautsch, pharate adults, Melanome, doppeltes Auge
v102837+DcrZ CG33475	14	[100.0]	12	[85.7]	2	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[14.3]	[0.0]	209 #23666
v101843 Twid1alpha	7	[100.0]	0	[0.0]	6	[85.7]	0	[0.0]	1	[14.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[14.3]	74 #1158 + 75 #8954
Iv33447+DcrZ Act1	9	[100.0]	9	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	447 #2234
v49149+DcrZ CG13679	12	[100.0]	12	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	311 #7591; 8xp schmaler
v103549 Rtp45	12	[100.0]	0	[0.0]	12	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	-	[100.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954
v10589 CG13000	16	[100.0]	2	[12.5]	12	[75.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[12.5]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[187.5]	[12.5]	74 #1158 + 75 #8954
v107996 CG1394	9	[100.0]	0	[0.0]	9	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	-	[100.0]	[0.0]	52 #23672
v109489 CG15145	15	[100.0]	15	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	175 #3180; 10leicht knautsch
v107806+DcrZ CG1738	10	[100.0]	10	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	52 #23672
v104034 CG33252	10	[100.0]	10	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954; 2x knautsch
v12202 sing	10	[100.0]	10	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	74 #1158 + 75 #8954
v108675 CG1597	13	[100.0]	13	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	52 #23672
v109517 CG6106	12	[100.0]	12	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	82 #26568
v51073 Cyp28c1	4	[100.0]	4	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	54 #9171
v100603 Sec61gamma	8	[100.0]	8	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	-	-	[0.0]	[0.0]	86 #29994; 2xknautsch
Iv48159+DcrZ ned	14	[100.0]	0	[0.0]	2	[14.3]	0	[0.0]	8	[57.1]	0	[0.0]	4	[28.6]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++(+)	[100.0]	[85.7]	51 #930 + 52 #23672 + 53 #26574 + 54 #9171 # 55 #9217
v110579 Npr12	17	[100.0]	0	[0.0]	7	[41.2]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[47.1]	0	[0.0]	2	[11.8]	0	[0.0]	2	[11.8]	+++	++	[100.0]	[58.8]	74 #1158 + 75 #8954
v1106635 CG2701	14	[100.0]	0	[0.0]	7	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[35.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[14.3]	+++	++	[100.0]	[50.0]	12 #8948
v1101006+DcrZ TwidIX	10	[100.0]	0	[0.0]	3	[30.0]	0	[0.0]	1	[10.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	2	[20.0]	0	[0.0]	+++	++	[100.0]	[60.0]	74 #1158 + 75 #8954
v11797 bsa	21	[100.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[38.1]	0	[0.0]	13	[61.9]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+++	[100.0]	[100.0]	52 #23672
v31151 Gr40b	12	[100.0]	8	[66.7]	4	[33.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	-	[33.3]	[0.0]	52 #23672
v101665 CG9125	15	[100.0]	0	[0.0]	7	[46.7]	0	[0.0]	0	[0.0]	8	[53.3]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	+	[100.0]	[53.3]	74 #1158 + 75 #8954
v101030 CG4880	14	[100.0]	0	[0.0]	3	[21.4]	0	[0.0]	4	[28.6]	0	[0.0]	7	[50.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	0	[0.0]	+++	++	[100.0]	[78.6]	74 #1158 + 75 #8954
v100465+DcrZ CG13005	11	[100.0]	0	[0.0]	2	[18.2]	0	[0.0]	3	[27.3]	1	[9.1]	0	[0.0]	0	[0.0]	5	[45.5]	0	[0.0]	+++	++	[100.0]	[72.7]	74 #1158 + 75 #8954

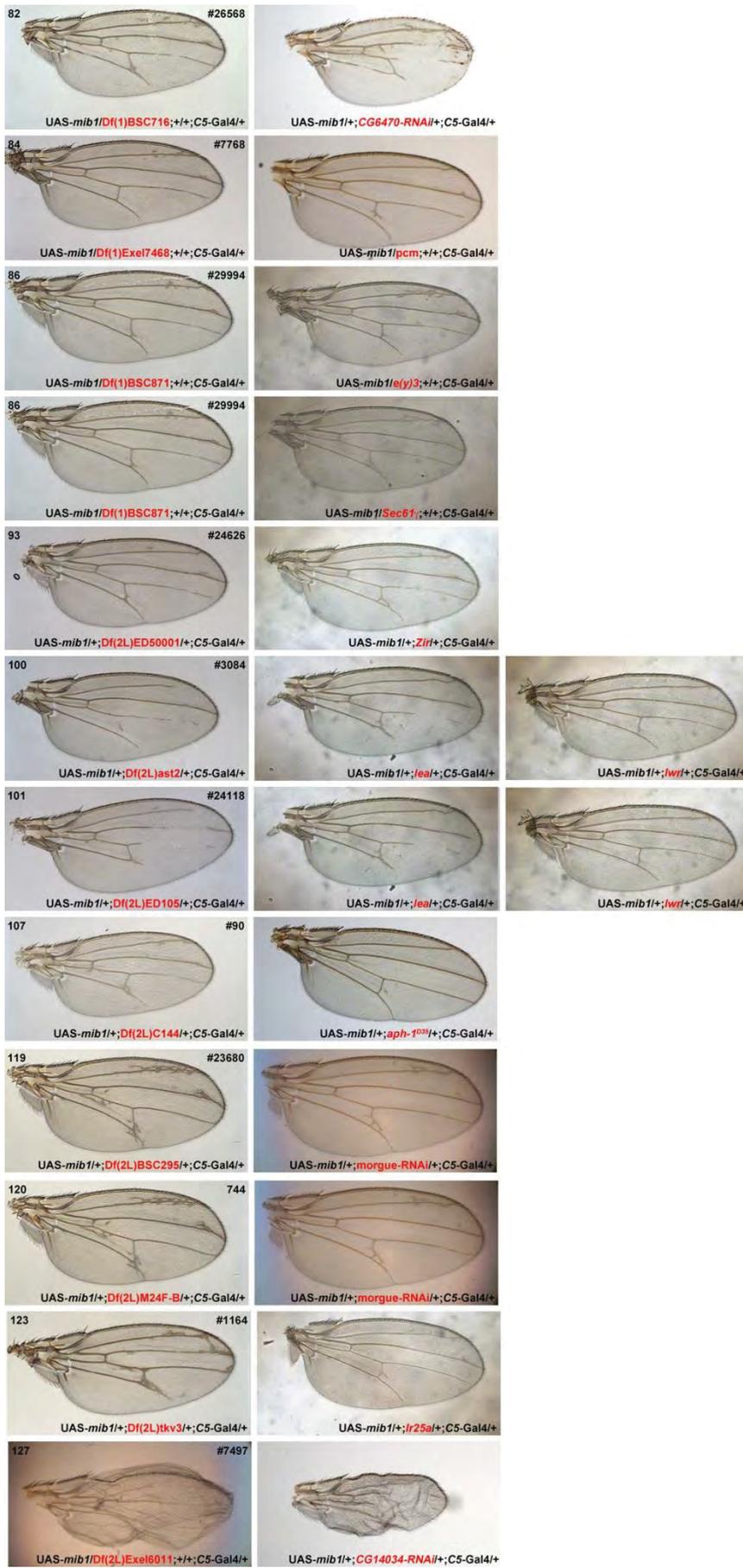
9.2 Flügel der auffälligen Defizienzen und entsprechenden Kandidatengene

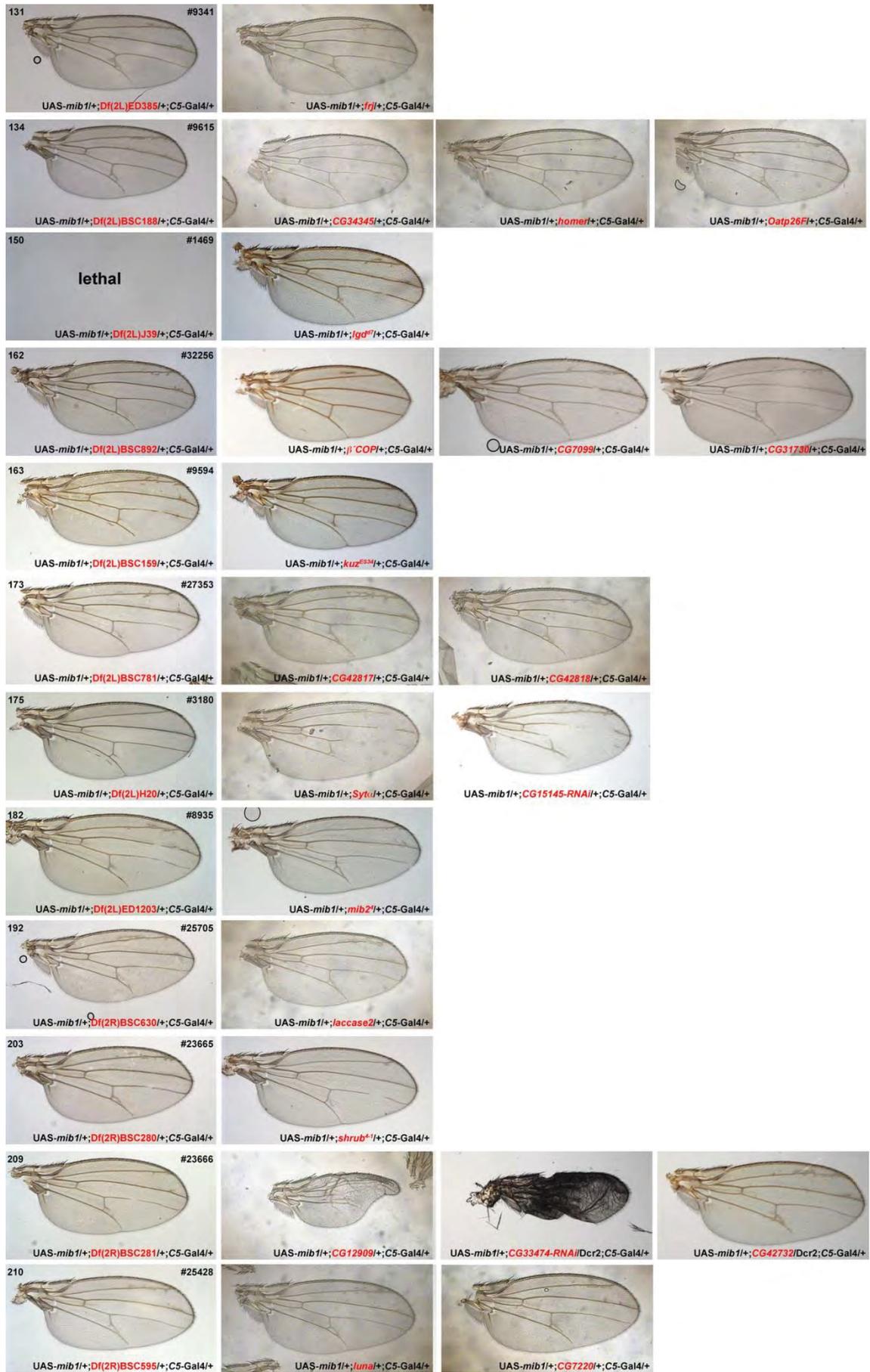


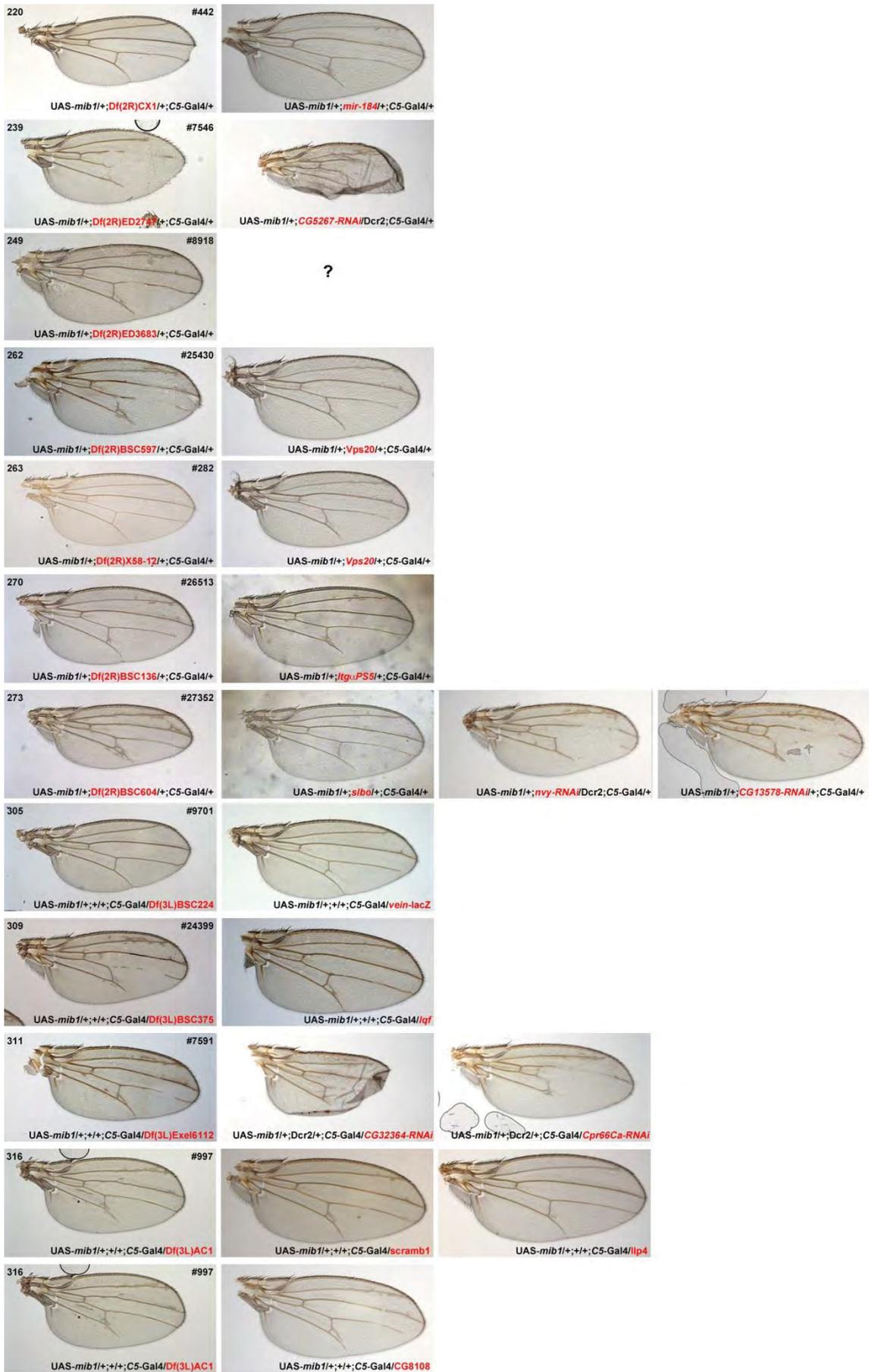


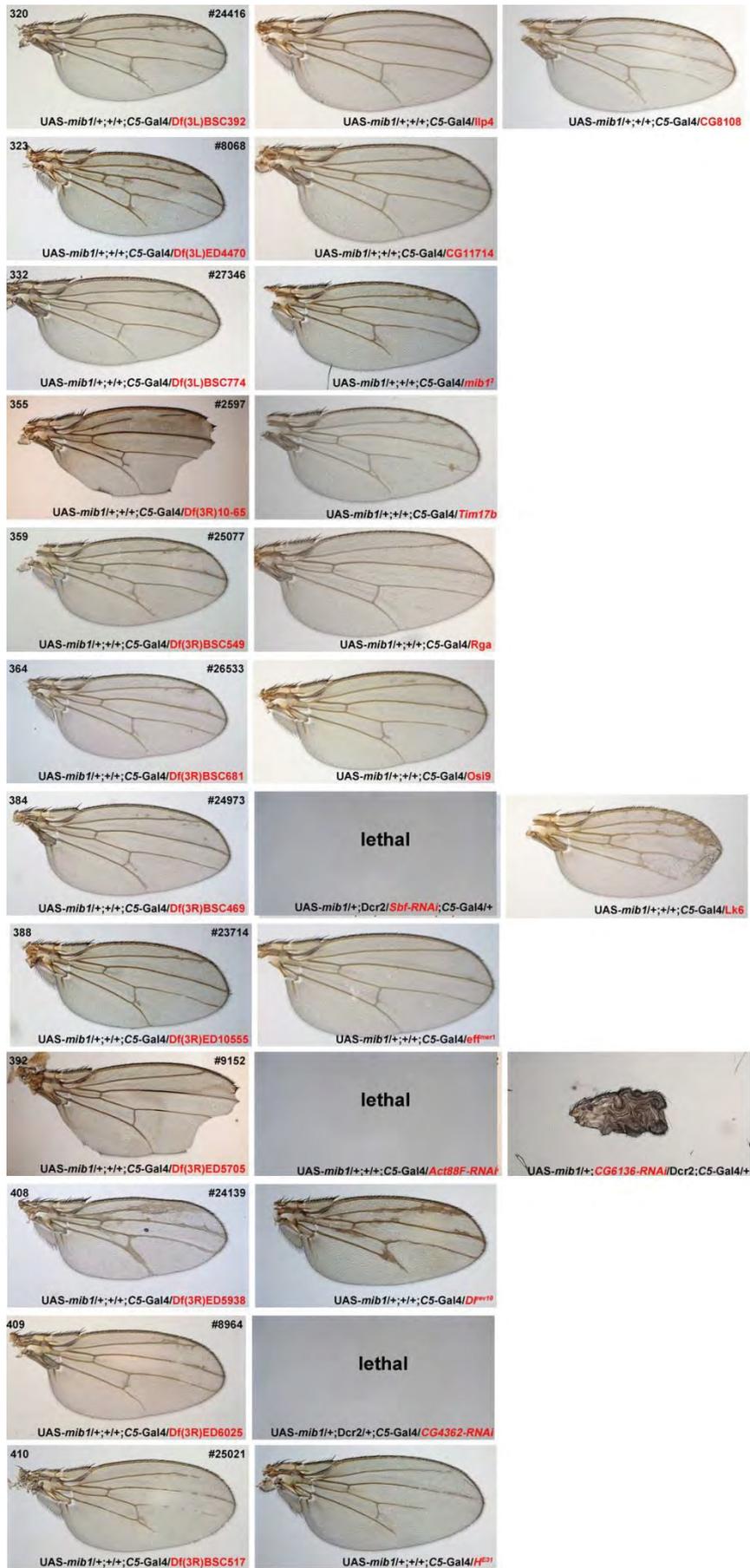














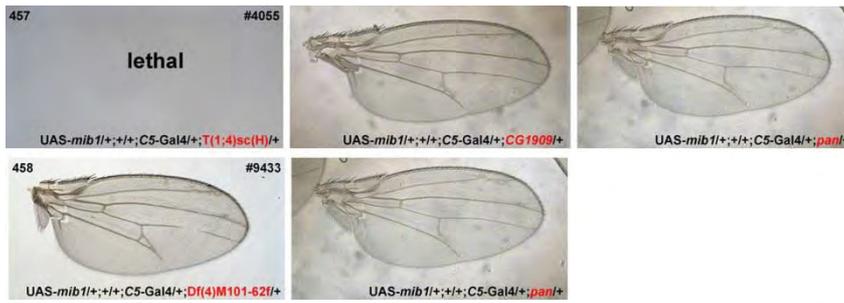


Abb. 9.2: Flügel der auffälligen Defizienzen und der entsprechenden Kandidatengene im Modifier-Hintergrund UAS-mib1; C5-Gal4. In der ersten Spalte befinden sich die auffälligen Defizienzen, die nach den Kreuzungen mit dem *Bloomington Deficiency Kit* mit dem Modifier-Stamm in die Kategorien „Abschwächungsgrad 3“, „Reduziert“, „Letal“, „Knautsch“ und „Schmaler“ fallen. In jeweils derselben Reihe befinden sich die entsprechenden Kandidatengene, die innerhalb der Defizienz ebenfalls in den bereits genannten Kategorien auffällig waren.

9.3 Vergleich der Kandidaten dieses Screens mit anderen Screens

Tab. 9.5: Vergleich dieses Modifier-Screens mit anderen Screens in Bezug auf den Notch-Signalweg oder die Venenbildung in *Drosophila*. Der Vergleich zeigt, dass die Screens selten die gleichen Kandidaten aufdeckten. Bei den gemeinsamen Kandidaten handelt es sich häufig um Kernkomponenten des Notch-Signalweges (Sturgeon et al. 2016; Berns et al. 2014; Tseng et al. 2014; Zhang et al. 1990; Mourikis et al. 2010; Cruz et al. 2009; Krejčí et al. 2009; Krupp et al. 2005; Kwon et al. 2013; Ibrahim et al. 2013; Molnar et al. 2006; Terriente-Félix et al. 2010; Pi et al. 2011; Zhang et al. 2012; Curtis et al. 2011).

Mein Screen	Molnar et al. (2006)	Terriente-Félix et al. (2010)	Krupp et al. (2005)	Kwon et al. (2013)	Ibrahim et al. (2013)	Krejci et al. (2009)	Cruz et al. (2009)	Mourikis et al. (2010)	Pi et al. (2011)	Curtis et al. (2011)	Zhang et al. (2012)	Tseng et al. (2014)	Berns et al. (2014)	Sturgeon et al. (2015)
SfpA														
sdk														
sc					X									
CG2701														
llp7														
Bteb2														
CG6048														
MCTST														
dk														
CG4617														
sn														
Ubc-E2H							X							
nej							X							
btd							X							
Hmr											X			
CG15296														
CG32676	X													
Imp							X						X	
feo	X													
sisA														
PGRP-SA														
CG11695														
nod														
rho-4	X													
dy														
SelG														
CG2540														
sno				X										
CG15743														
g														
Cilc														X
NetA														
NetB					X									
CG6340														
mei-41														
AmxB11							X							
rngo														
elf-2a														
para														
Axs														
spherioide														
TwdlZ														
CG4829														
RSg7														
CG4880														
CG8949														
CG4955														
xmas-1														
Vps4														

9.4 Interaktionsanalyse mittels Cytoscape der identifizierten Kandidatengene

Tab. 9.6: Interaktionstabelle aller im Screen identifizierten Kandidatengene. Die angegebenen Interaktionen basieren auf folgenden Datenbanken: BioGRID, DPiM, DroID, InterlogFinder, SignaLink, Esemble und Flybase. Die in grau hinterlegten Gene wurden nicht im Screen identifiziert. Allerdings wird durch sie das Interaktionsnetzwerk sinnvoll ergänzt.

Gen	Interaktionspartner	Experiment	Interaktionsart
SkpA	SkpA	2H, yeast, human	predicted
SkpA	nej	2H	predicted
SkpA	Med	TF	predicted
SkpA	stg	human	predicted
SkpA	DI	pp	predicted
SkpA	Imp	DPiM	predicted
SkpA	CycG	human	predicted
SkpA	CG2118	yeast	predicted
SkpA	morgue	DPiM, 2H, Co-IP, AC-MS	known
rpr	SkpA		Suppression
morgue	rpr		Suppression
SkpA	eIF-2 α	DPiM	predicted
SkpA	InR	DPiM, 2H, yeast, human	Enhancement
SkpA	InR		Suppression
Ilp4	InR	pp	known
Ilp7	InR	pp	known
Ilp4	Ilp7	pp	known
InR	N		Suppression
sdk	sdk	pp	predicted
sdk	Med	TF	predicted
sc	Imp	DPiM	predicted
sc	sc	2H, human	predicted
e(y)3	sc		Suppression
sc	Med	TF	predicted
sc	sisA		Suppression
nvy	sc		Suppression
sc	nej	human	predicted
sc	H		Suppression
CG2701			
Ilp7	Ilp7	pp	known
Bteb2	Med	TF	predicted
Vap-33A	CG6048		Suppression
Vap-33A	Med	TF	predicted
Vap-33A	DI	2H, pp	known
Vap-33A	mei-41	dosage rescue	predicted
Vap-33A	Axs	yeast	predicted
Vap-33A	cct2	AC-MS	known
Vap-33A	Imp	DPiM	predicted
Vap-33A	Vap-33A	human	predicted
Vap-33A	Ubc-E2H	pp	predicted
MCTS1	MCTS1	pp	predicted
MCTS1	Med	TF	predicted
dx	Med	TF	predicted
dx	N		Enhancement
dx	Frq1	2H, human	predicted
dx	nej	human, pp	predicted
dx	H		Suppression
dx	eff	human	predicted
dx	CG4617	2H	known
dx	CycG	2H	known
dx	dx	pp, 2H	predicted
dx	scramb1	2H	predicted
CG4617	Imp	DPiM	predicted
CG4617	homer	DPiM	predicted
CG4617	CG4617	2H	known
sn	sn	DPiM	predicted
sn	ph-p		Suppression
eff	ph-p		Enhancement
ph-p	eff		Enhancement
WASp	sn		Enhancement
H	WASp		Suppression
N	WASp		Suppression
N	WASp		Enhancement
sn	Med	TF	predicted
sc	sn		Enhancement
sn	sc		Suppression
sc	e(y)3		Enhancement
e(y)3	sc		Enhancement
lwr	sc		Suppression
Ubc-E2H	Med	TF	predicted
Ubc-E2H	Ubc-E2H	pp	predicted
nej	mei-41		Suppression
nej	Lk6	pp	predicted
nej	luna	human	predicted
nej	DI	AC-Western, pp, 2H	predicted
nej	slbo	pp	predicted
morgue	nej		Enhancement, predicted
nej	stg	human	predicted
eff	nej		Enhancement, predicted
nej	H		Enhancement
nej	H		Suppression
nej	N	human	predicted
nej	Med	TF, pp	predicted
nej	Sbf	WB, pull-down, massfingerprint	known
nej	lwr	human, pp	predicted
nej	scramb1	human	predicted
nej	pan	pp	known
nej	nej	human, pp, 2H, Dosage Rescue, Growth D	predicted
btd	Imp	indirect	predicted, directed
btd	Med	TF	predicted
btd	N	indirect	predicted, directed
btd	H	indirect	predicted, directed
btd	CG4617	indirect	predicted, directed
Hmr	Med	TF	predicted
Hmr	Su(var)205	Co-IP, WB, massfingerprint	known
Su(var)205	RpL15		Enhancement
RpL15	N		Enhancement
N	Su(var)205		Enhancement
Su(var)205	CG8108	Co-IP, massfingerprint	known

CG15296			
CG32676	Med	TF	predicted
CG32676	hrs	pp	Enhancement
Imp	H		Suppression
Imp	Med	TF	predicted
Imp	lwr	DPIM	predicted
Imp	AnxB11	DPIM	predicted
Imp	slbo	DPIM	predicted
Imp	CycG	DPIM	predicted
Imp	PGRP-SA	DPIM	predicted
Imp	CG1607	DPIM	predicted
Imp	CG2118	DPIM	predicted
Imp	CG12909	human	predicted
feo	Med	TF	predicted
nod	feo	Lethality	Enhancement, predicted
sisA	Med	TF	predicted
sisA	Vps20	2H	Enhancement
sisA	sisA	pp	known
PGRP-SA	PGRP-SA	DPIM	predicted
CG11695			
mei-41	nod		Enhancement, predicted
lwr	nod		Suppression
CG1890	nod		Enhancement, predicted
nod	Med	TF	predicted
nod	CG7220	Growth Defect	predicted
pcm	nod		Enhancement, predicted
feo	nod		Enhancement, predicted
nod	nod	AC-Western, 2H	predicted
rho-4	Su(var)205	2H	known
rho-4	Med	TF	predicted
rho-4	rho-4	DPIM	predicted
dy			
SeIG	Med	TF	predicted
CG2540	awd	DPIM	predicted
CG2540	CG2540	DPIM	predicted
CG2540	Uba1	2H	known
sno	Ser		Suppression
sno	DI		Suppression
DI	sno		Suppression
H	sno		Suppression
sno	H		Suppression
sno	N		Suppression
sno	N		Enhancement
N	sno		Enhancement
sno	Med	TF	predicted
CG15743	Med	TF	predicted
g	g	pp	predicted
Clic	Med	TF	predicted
Clic	Clic	DPIM	predicted
NetA	Med	TF	predicted
fra	NetA		Suppression
fra	N		Enhancement
NetA	hid		Suppression
morgue	hid		Suppression
Imp	hid		Suppression
NetB	hid		Suppression
NetB	hid		Enhancement
NetA	NetB		predicted
NetB	Med	TF	predicted
fra	NetB		Suppression
CG6340	Med	TF	predicted
CG6340	cct2	AC-MS	known
mei-41	CycG		Suppression
nod	mei-41		Enhancement, predicted
mei-41	shrb	yeast	predicted
mei-41	Lk6	yeast	predicted
mei-41	lwr	Dosage Rescue, Lethality	predicted
mei-41	mei-41	pp, human	predicted
AnxB11	scramb1	human	predicted
AnxB11	hrs	2H	known
AnxB11	Ef1 α 100E	human	predicted
AnxB11	Zir	human	predicted
AnxB11	Med	TF	predicted
AnxB11	AnxB11	DPIM	predicted
Egfr	AnxB11		Enhancement, predicted
eIF-2 α	Med	TF	predicted
eIF-2 α	eIF-2 α	pp	predicted
para	sesB		Suppression
awd	sesB		Enhancement
chn	para		Enhancement
chn	N		Enhancement
chn	sc		Suppression
para	Mhc		Suppression
Mhc	Act88F		Suppression
Axs	Axs	yeast	predicted
lwr	Axs		Suppression
TwdIZ			
CG4829			
RSG7	RSG7	DPIM	predicted
CG4880	CG4880	DPIM	predicted
CG4880	Med	TF	predicted
CG8949	Med	TF	predicted
CG4955	CG4955	DPIM	predicted
xmas-1			
Vps4	shrb	DPIM, AC-MS	known
Vps4	Vps20	yeast, 2H, reconstituted complex	predicted
Vps4	Vps4	yeast, human	predicted
Frq1	Frq1	yeast, pp	predicted
CG6470	CG6470	DPIM	predicted
pcm	lwr	yeast	predicted

pcm	Med	TF	predicted
pcm	CG1890		Enhancement, predicted
pcm	pcm	yeast, AC-MS	predicted
pcm	CG7220	Growth Defect	predicted
e(y)3	Med	TF	predicted
Sec61y	Med	TF	predicted
Zir	Zir	human	predicted
lwr	Med	2H	known
lwr	shrb	2H, human, DPiM	predicted
lwr	DI	2H	known
lwr	lwr	yeast, human, worm, pp, 2H	known
lwr	slbo	human, 2H	predicted
lea (robo2)	Med	TF	predicted
lea (robo2)	eIF-2 α	pp	predicted
lea (robo2)	lea (robo2)	pp	predicted
aph-1	Med	TF	predicted
N	aph-1		Suppression
aph-1	aph-1	human	predicted
DI	N		Enhancement
Ser	N		Enhancement
lgd	N		Enhancement
lgd	N		Suppression
N	lgd		Suppression
N	lgd		Enhancement
morgue	morgue	DPiM	predicted
morgue	Med	TF	predicted
morgue	hid		Suppression
CG7220	morgue		Enhancement, predicted
CG8108	morgue		Suppression, predicted
nej	morgue		Enhancement
Rga	morgue		Enhancement
eff	morgue	AC-MS, AC-Western, Groth Defect, Lethal	Enhancement
Ir25a			
CG14034	HIP-R	DPiM	known
HIP-R	Clic		known
HIP-R	pan		known
frj	Med	TF	predicted
CG34345			
Oatp26F			
homer	Med	TF	predicted
homer	slbo	pp	predicted
homer	nvj	human	predicted
homer	homer	pp	predicted
lgd	shrb	2H	Enhancement
lgd	shrb	2H	Suppression
lgd	Ser		Suppression
lgd	Med	TF	predicted
kuz	DI		Enhancement
kuz	Med	TF	predicted
robo1	lea (robo2)		Enhancement
robo1	lea (robo2)		Suppression
lea (robo2)	robo1		Enhancement
robo1	kuz		Enhancement
N	kuz		Enhancement
N	kuz		Suppression
kuz	N		Suppression
kuz	N		Enhancement
H	kuz		Suppression
kuz	H		Suppression
H	N		Suppression
H	N		Enhancement
N	H		Enhancement
N	H		Suppression
kuz	Ser		Enhancement
H	Ser		Suppression
Ser	H		Suppression
Ser	H		Enhancement
CG42817			
CG42818			
CG15145			
Syt α	shrb	2H	predicted
mib2	Ser	human	predicted
mib2	shrb	DPiM	predicted
mib2	DI	pp, 2H	known
mib2	InR	DPiM	predicted
mib2	Med	TF	predicted
mib2	mib2	DPiM	predicted
laccase2	laccase2	yeast	predicted
shrb	rho		Suppression
rho	H		Suppression
vn	rho		Suppression
vn	rho		Enhancement
rho	vn		Suppression
shrb	Vps20	yeast, human, 2H	known
Vps20	rho		Suppression
shrb	Syt α	2H	predicted
shrb	slbo	DPiM	predicted
InR	shrb		Enhancement, predicted
shrb	Med	TF	predicted
shrb	shrb	yeast, human, 2H	known
N	rho		Suppression
CG12909	eIF-2a	human	predicted
CG12909	Med	TF	predicted
CG12909	awd	DPiM	predicted
CG33474	Med	TF	predicted
CG7220	mib1	human	predicted
CG7220	awd	DPiM	predicted
eff	CG7220		Enhancement
CG7220	CG7220	AC-Western, human	predicted
luna	Med	TF	predicted

luna	ago	human	predicted
awd	ago		Enhancement
ago	N		known
CG5267			
Vps20	InR		Enhancement, predicted
Vps20	rho		Suppression
rho	H		Suppression
N	rho		Suppression
vn	rho		Suppression
vn	rho		Enhancement
rho	vn		Suppression
ItgaPS5	Med	TF	predicted
ItgaPS5	DI		Enhancement, predicted
ItgaPS5	Ser		Enhancement, predicted
ItgaPS5	ItgaPS5	pp, 2H	predicted
nvj	N		Enhancement
DI	N		Enhancement
DI	N		Suppression
N	DI		Suppression
nvj	Med	TF	predicted
nvj	nvj	AC-MS, AC-Western, human, pp	predicted
slbo	slbo	pp, 2H	predicted
slbo	DI	pp	predicted
slbo	Med	pp	predicted
AP-2 α	slbo		Suppression
CG13578			
vn	H		Suppression
vn	N		Suppression
vn	Med	TF	predicted
vn	Egfr		Enhancement
vn	Egfr		Suppression
Egfr	vn		Suppression
Egfr	vn		Enhancement
lqf	Med	TF	predicted
lqf	DI	human	Enhancement
DI	lqf	human	Enhancement
AP-2 α	lqf	human	Enhancement
lqf	N	human	Enhancement
N	lqf	human	Enhancement
eff	lqf		Suppression
Ser	lqf		Enhancement
lqf	lqf	yeast	predicted
eff	neur		Suppression
neur	lqf		Enhancement
N	AP-2 α		Suppression
DI	AP-2 α		Suppression
tut			
Cpr66Ca			
Ilp4	Ilp4	pp	known
Ilp4	Med	TF	predicted
CG8108	Su(var)205	DPiM	known
CG8108	eff		Suppression
CG8108	CG7220	Lethality	predicted
CG8108	Med	TF	predicted
scramb1	scramb1	2H	predicted
CG11714	SkpA	this Screen	predicted
mib1	Med	TF	predicted
mib1	eff	human	predicted
mib1	CG7220	human	predicted
mib1	Ser	human	Suppression
mib1	Ser	human	Enhancement
N	mib1	2H	Suppression
mib1	DI	human	Enhancement
mib1	mib1	human	predicted
Rga	Med	TF	predicted
Rga	H		Enhancement
Rga	eff		Enhancement, predicted
Rga	w		Suppression
nej	w		Enhancement
e(y)3	w		Enhancement
Su(var)205	w		Suppression
g	w		Suppression
g	w		Enhancement
Rga	Rga	2H, DPiM, worm	predicted
Osi9	Osi9	DPiM	predicted
Lk6	N		Suppression
Lk6	Lk6	yeast, pp, 2H, AC-MS	predicted
Lk6	eff	yeast	predicted
Lk6	Med	TF	predicted
Lk6	Act88F	yeast	predicted
Lk6	neur	directed	predicted
Lk6	Egfr	directed	predicted
Lk6	Su(dx)	directed	predicted
Sbf	Med	TF	predicted
Pi3K68D	N		Enhancement
Egfr	Pi3K68D		Enhancement
Pi3K68D	Sbf		Suppression
eff	neur		Suppression
eff	lqf		Suppression
eff	Rga		Enhancement, predicted
eff	Lk6	yeast	predicted
eff	CG7220		Enhancement, predicted
eff	Med	TF	predicted
eff	Mhc	Dosage Rescue	predicted
eff	Su(dx)		Enhancement, predicted
eff	CG8108		Suppression, predicted
eff	eff	yeast	predicted
CG42726			
CG6136	Med	TF	predicted
CG6136	CG2701	human, 2H	predicted

CG6136	CG6136	human, worm, 2H	predicted
Act88F	DI	pp	predicted
Act88F	neur	directed	known
Act88F	Egfr	directed	known
Act88F	Su(dx)	directed, AC-Western	known
Act88F	Lk6	yeast	predicted
Act88F	awd	yeast	predicted
Act88F	Ef1a100E	pp, Dosage Rescue	predicted
Act88F	para	2H	predicted
para	Mhc		Suppression
Act88F	Mhc	yeast, AC-MS	Suppression
Mhc	Act88F	yeast, AC-MS	Suppression
Act88F	Act88F	yeast, 2H	predicted
DI	Ser		Suppression
Ser	DI		Suppression
Ser	DI		Enhancement
DI	N	human	Suppression
DI	N	human	Enhancement
N	DI	human	Enhancement
N	DI	human	Suppression
DI	AP-2 α		Suppression
mib1	DI	human	Enhancement
neur	DI		Enhancement
DI	neur		Enhancement
Su(dx)	DI		Enhancement
Su(dx)	DI		Suppression
H	DI		Enhancement
DI	dx		Enhancement
DI	Igf		Enhancement
Igf	DI		Enhancement
nvy	DI		Enhancement
pan	DI		Enhancement, predicted
Egfr	DI		Suppression
DI	Egfr		Suppression
shrb	DI		Enhancement, predicted
DI	Med	TF	predicted
CG4362			
H	DI		Enhancement
H	DI		Suppression
kuz	H		Suppression
Rga	H		Enhancement
Sec61 α	H		Enhancement
vn	H		Suppression
H	Med	TF	predicted
Ser	H		Suppression
Ser	H		Enhancement
H	Ser		Suppression
N	H		Suppression
N	H		Enhancement
H	N		Enhancement
H	N		Suppression
CG7031			
prt			
CG10214	CG10214	DPiM	predicted
CG10214	Med	TF	predicted
SdhD (CG10214)	SdhD (CG10219)	pp	predicted
Med	Ser	TF, directed	predicted
rho	Ser		Suppression
Igf	Ser		Enhancement
neur	Ser	human	Enhancement
DI	Ser		Suppression
Ser	DI		Suppression
Ser	DI		Enhancement
neur	DI		Enhancement
DI	neur		Enhancement
Ser	H		Suppression
Ser	H		Enhancement
H	Ser		Suppression
N	Ser		Suppression
Ser	N		Enhancement
shrb	Ser		Enhancement, predicted
Itq α PS5	Ser		Enhancement, predicted
pan	Ser		Enhancement
stg	Ser		Enhancement
mib1	Ser	human	Suppression
mib1	Ser	human	Enhancement
Ser	Ser	pp	Enhancement, predicted
CG11842	CG11842	DPiM	predicted
Atg14	Atg14	human	predicted
Atg14	Ald	DPiM	known
Act88F	Ald	DPiM	known
awd	Ald	DPiM	known
Mhc	Ald	DPiM	known
Slbp	Slbp	pp	predicted
Slbp	Med	TF	predicted
stg	N		Suppression
stg	DI		Enhancement, predicted
stg	Ser		Enhancement, predicted
stg	InR		predicted
stg	mei-41	pp	predicted
stg	Ef1 α 100E	human	predicted
stg	Med	TF	predicted
stg	stg	pp	predicted
CG1607	CG1607	yeast	predicted
CG1890	CG1890	Co-crystal structure	predicted
nod	CG1890		Enhancement, predicted
CG1890	Med	TF	predicted
nyo			
γ COP	γ COP	pp	predicted
CycG	CycG	DPiM	predicted

CycG	pan	2H	known
CycG	neur	directed	predicted
CycG	Egfr	directed	predicted
CycG	Med	TF	predicted
Med	Med	TF	predicted
Cst-50	Cst-50	AC-MS, AC-Western, Co-IP, pp, 2H, recon	predicted
Cst-50	Med	TF	predicted
Cst-50	pcm	Co-purification	predicted
Cst-50	Ef1 α 100E	Co-purification, pp	predicted
CG2118	CG2118	yeast, pp	predicted
CG2118	Med	TF	predicted
Ef1 α 100E	Med	TF, AC-MS	predicted
Ef1 α 100E	DI	pp	predicted
Ef1 α 100E	stg	human	predicted
Ef1 α 100E	Act88F	Dosage Rescue, pp	predicted
Ef1 α 100E	lea (robo2)	pp	predicted
Ef1 α 100E	Cst-50	Co-purification, pp	predicted
Ef1 α 100E	Ef1 α 100E	pp, Lethality	predicted
Acf1	Acf1	DPiM	predicted
Acf1	Iswi	pp	Enhancement
eff	Iswi		Suppression
Acf1	Med	TF	predicted
Acf1	Su(dx)	pp	predicted
Acf1	CG8108	AC-MS, pp, 2H, reconstituted complex	Enhancement, predicted
awd	awd	yeast, human, worm, pp, 2H	predicted
awd	CG7220	DPiM	predicted
awd	Act88F	yeast	predicted
awd	Med	TF	predicted
awd	sesB		Enhancement
para	sesB		Suppression
awd	ago		Enhancement
awd	shi	human	Enhancement
shi	lqf		Enhancement
pan	Med	TF	predicted
pan	InR		Enhancement, predicted
pan	pan	DPiM	predicted
pan	CycG	2H	known
pan	Ser	TF	Enhancement, predicted
pan	DI		Enhancement, predicted
CG1909	CG1909	DPiM	predicted
CG1909	N	worm	predicted

10 Erklärung

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit – einschließlich Tabellen und Abbildungen –, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen wurde; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen – noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen der Promotionsordnung sind mir bekannt.

Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. Thomas Klein und Prof Dr. Hermann Aberle betreut worden.

Düsseldorf, Januar 2016

Kim Sara Morawa

Teilpublikationen im Rahmen dieser Arbeit:

Morawa KS, Schneider M , Klein T (2015): „*Lgd regulates the activity of the BMP/Dpp signalling pathway during Drosophila oogenesis.*” *Development*. Apr 2015 1;142(7):1325-35. doi: 10.1242/dev.112961.

11 Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Klein für die Chance meine Promotion im Institut für Genetik der Heinrich-Heine Universität durchzuführen, die Bereitstellung der Projekte, die Betreuung dieser Doktorarbeit und für seine Unterstützung in den letzten Jahren.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. Hermann Aberle für die Übernahme des Koreferats und die Mitbetreuung der Doktorarbeit.

Mein Dank gilt außerdem allen technischen Assistenten und Assistentinnen, die mich während meiner Arbeit unterstützt haben.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei allen Kollegen der Arbeitsgruppe Klein in Düsseldorf, ehemaligen Mitarbeitern und Praktikanten. Ganz besonders möchte ich mich bei Tobias Troost, Marc Sommsich und Soya Kim für die Korrektur meiner Abschlussarbeiten bedanken. Darüber hinaus gebührt allen Kollegen der Arbeitsgruppe Klein großer Dank für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre und Unterstützung in allen Labor- und Lebenslagen.

Darüber hinaus danke ich meiner Formatierungsgehilfin Nicole Berndt und den anderen Mitgliedern des Deutschen Roten Kreuzes Düsseldorf e. V. für die Unterstützung.

Außerdem danke ich meinen Eltern nicht nur für die finanzielle Absicherung während des Studiums, sondern auch für die mentale Unterstützung bei allen Entscheidungen. Auch den anderen Familienmitgliedern danke ich sehr für ihre Unterstützung.

Ich danke auch meinen Freunden für gelegentliche Ablenkungen, sowie geistige Anregungen.

Besonders großer Dank gilt meinem Freund Martin Doht, der mich mental unterstützt, immer wieder aufbaut und meinen nach außen chaotisch-wirkenden Arbeitsstil ausgehalten hat.

Ohne all diese Menschen wäre die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Danke!