

**Untersuchungen zur molekularen Grundlage  
der Segmentbildung im Saftkugler *Glomeris  
marginata* (Myriapoda: Diplopoda)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Ralf Janßen  
aus Kleve

Köln, 2004

1. Berichtstatter: Prof. Dr. Diethard Tautz
2. Berichtstatter: Prof. Dr. Siegfried Roth

Tag der mündlichen Prüfung: 14.01.2005

### *Inhaltsverzeichnis*

|   |           |
|---|-----------|
| Danksagung  | 1         |
| Abkürzungsverzeichnis   | 2         |
| Zusammenfassung   | 6         |
| Summary   | 7         |
| <br>  |           |
| <b>1. Einleitung</b>  | <b>8</b>  |
| <br>  |           |
| 1.1 Warum ein Myriapode?  | 11        |
| 1.2 Warum <i>Glomeris</i> ?   | 11        |
| 1.3 <i>Drosophila melanogaster</i> : Das Modellsystem bildet eine Ausnahme  | 12        |
| 1.4 Welche Ebenen bzw. Mechanismen der <i>Drosophila</i> Segmentierungskaskade sind ursprünglich für Arthropoden? | 14        |
| 1.5 Segmentierung in Onychophoren   | 15        |
| 1.6 Segmentierung in Anneliden  | 16        |
| 1.7 Segmentierung in Vertebraten  | 18        |
| 1.8 Ziele der Arbeit  | 19        |
| <br>  |           |
| <b>2. Material und Methoden</b>   | <b>21</b> |
| <br>  |           |
| 2.1 Bakterien und Plasmide  | 21        |
| 2.2 Primer  | 21        |
| 2.3 Die Versuchstiere: Beschaffung und Haltung  | 23        |
| 2.3.1 Der Saftkugler <i>Glomeris marginata</i> (Villers 1780)   | 23        |
| 2.3.2 Die Kammspinnne <i>Cupiennius salei</i> (Keyserling 1877)   | 24        |
| 2.3.3 Die Hausspinne <i>Tegenaria atrica</i> (Koch 1843)  | 24        |
| 2.4 Molekularbiologische Methoden   | 25        |
| 2.4.1 RNA-Isolation und cDNA-Synthese   | 25        |
| 2.4.2 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)  | 26        |
| 2.4.3 Kombinationssystem zur cDNA Synthese mit direkt anschließender PCR  | 26        |

## Inhaltsverzeichnis

---

|   |           |
|---|-----------|
| 2.4.4 Klonieren der DNA-Fragmente in <i>Escherichia</i> TOP10 Zellen  | 27        |
| 2.4.5 Enzymatische Sequenzierung  | 27        |
| 2.4.6 In vitro Transkription  | 28        |
| 2.5 Embryologische Methoden   | 29        |
| 2.5.1 Fixierung der Embryos   | 29        |
| 2.5.1.1 <i>Cupiennius salei</i> und <i>Tegenaria atrica</i>   | 29        |
| 2.5.1.2 <i>Glomeris marginata</i>   | 29        |
| 2.5.2 Fixierung von Ovarien aus <i>Glomeris marginata</i>   | 30        |
| 2.5.3 In situ Hybridisierung an ganzen Embryos und Ovarien  | 31        |
| 2.5.4 Interferenz durch Injektion von dsRNA in<br><i>Glomeris marginata</i> (RNAi)  | 32        |
| 2.6 Zellbiologische Methoden  | 33        |
| 2.6.1 BrdU Injektionen  | 33        |
| 2.7 Ergebnisdokumentation   | 34        |
| 2.8 Bioinformatik   | 34        |
| 2.8.1 Alignments  | 34        |
| 2.8.2 Phylogenetische Stammbäume  | 35        |
| <br>  |           |
| <b>3. Ergebnisse</b>  | <b>41</b> |
| <br>  |           |
| 3.1 Dokumentation der Embryonalentwicklung: Unterteilung von Entwicklungsstadien mittels der Morphologie und molekularer Merkmale | 41        |
| 3.2 Die Segmentpolaritätsgene   | 52        |
| 3.2.1 Das <i>Glomeris engrailed</i> Gen   | 52        |
| 3.2.2 Die Expression von <i>Glomeris engrailed</i> ( <i>en</i> )  | 53        |
| 3.2.3 Das <i>Glomeris hedgehog</i> Gen  | 54        |
| 3.2.4 Die Expression von <i>Glomeris hedgehog</i> ( <i>hh</i> )   | 55        |
| 3.2.5 Die <i>Glomeris Wnt</i> Gene  | 57        |
| 3.2.6 Die Expression der <i>Glomeris Wnt</i> Gene   | 58        |
| 3.2.7 Das <i>Glomeris cubitus interruptus</i> Gen   | 60        |
| 3.2.8 Die Expression von <i>Glomeris cubitus interruptus</i> ( <i>ci</i> )  | 61        |
| 3.3 Die Hox-Gene und das ParaHox-Gen <i>caudal</i>  | 74        |
| 3.3.1 Die Expression von <i>Glomeris labial</i> ( <i>lab</i> )  | 75        |
| 3.3.2 Die Expression von <i>Glomeris proboscipedia</i> ( <i>pb</i> )  | 76        |
| 3.3.3 Das <i>Glomeris Hox 3</i> Gen   | 77        |

|   |     |
|---|-----|
| 3.3.4 Die Expression von <i>Glomeris Hox3</i>                               | 77  |
| 3.3.5 Die Expression von <i>Glomeris Deformed (Dfd)</i>                     | 78  |
| 3.3.6 Die Expression von <i>Glomeris Sex combs reduced (Scr)</i>            | 78  |
| 3.3.7 Das <i>Glomeris fushi tarazu</i> Gen                                  | 79  |
| 3.3.8 Die Expression von <i>Glomeris fushi tarazu (ftz)</i>                 | 80  |
| 3.3.9 Das <i>Cupiennius fushi tarazu</i> Gen                                | 81  |
| 3.3.10 Die Expression von <i>Cupiennius fushi tarazu (ftz)</i>              | 81  |
| 3.3.11 Die Expression von <i>Glomeris Antennapedia (Antp)</i>               | 82  |
| 3.3.12 Die Expression von <i>Glomeris Ultrabithorax (Ubx)</i>               | 83  |
| 3.3.13 Die Expression von <i>Glomeris Abdominal-A (Abd-A)</i>               | 83  |
| 3.3.14 Die Expression von <i>Glomeris abdominal-B (abd-B)</i>               | 84  |
| 3.3.15 Das <i>Glomeris caudal</i> Gen                                       | 85  |
| 3.3.16 Die Expression von <i>Glomeris caudal (cad)</i>                      | 86  |
| 3.4 Die Paarregelgene   | 108 |
| 3.4.1 Das <i>Glomeris even-skipped</i> Gen                                  | 108 |
| 3.4.2 Die Expression von <i>Glomeris even-skipped (eve)</i>                 | 108 |
| 3.4.3 Die <i>Glomeris hairy</i> Gene  | 110 |
| 3.4.4 Die Expression von <i>Glomeris hairy-1 (h1)</i>                       | 111 |
| 3.4.5 Die Expression von <i>Glomeris hairy-2 (h2)</i>                       | 111 |
| 3.4.6 Die Expression von <i>Glomeris hairy-3 (h3)</i>                       | 112 |
| 3.4.7 Das <i>Glomeris runt</i> Gen  | 113 |
| 3.4.8 Die Expression von <i>Glomeris runt (run)</i>                         | 114 |
| 3.4.9 Das <i>Glomeris odd skipped</i> Gen                                   | 115 |
| 3.4.10 Die Expression von <i>Glomeris odd skipped (odd)</i>                 | 116 |
| 3.4.11 Das <i>Glomeris odd-paired</i> Gen                                   | 117 |
| 3.4.12 Die Expression von <i>odd-paired (opa)</i>                           | 118 |
| 3.4.13 Die <i>Glomeris pairberry</i> Gene                                   | 118 |
| 3.4.14 Die Expression von <i>Glomeris pairberry 1 (pby1)</i>                | 119 |
| 3.4.15 Die Expression von <i>Glomeris pairberry 2 (pby2)</i>                | 120 |
| 3.4.16 Das <i>Glomeris sloppy paired</i> Gen                                | 120 |
| 3.4.17 Die Expression von <i>Glomeris sloppy paired (slp)</i>               | 121 |
| 3.5 Die Lückengene  | 148 |
| 3.5.1 Das <i>Glomeris hunchback</i> Gen                                     | 148 |
| 3.5.2 Die Expression von <i>Glomeris hunchback (hb)</i>                     | 149 |
| 3.5.3 Nachweis maternaler <i>hunchback</i> Transkripte in jungen Oozyten    | 150 |
| 3.5.4 Nachweis der Transkription von <i>hunchback</i> in Embryos, die nicht |     |

|   |            |
|---|------------|
| für die in situ Technik zugänglich sind, mittels RT-PCR   | 151        |
| 3.5.5 Das <i>Glomeris Krüppel</i> Gen   | 151        |
| 3.5.6 Die Expression von <i>Glomeris Krüppel (Kr)</i>   | 152        |
| 3.5.7 Das <i>Glomeris orthodenticle</i> Gen   | 153        |
| 3.5.8 Die Expression von <i>Glomeris orthodenticle (otd)</i>  | 154        |
| 3.5.9 Nachweis maternaler <i>orthodenticle</i> Transkripte in jungen Oozyten  | 156        |
| 3.5.10 Nachweis der Transkription von <i>orthodenticle</i> in Embryos, die<br>nicht für die in situ Technik zugänglich sind, mittels RT-PCR | 156        |
| 3.5.11 Die <i>Glomeris</i> und <i>Cupiennius tailless</i> Gene  | 156        |
| 3.5.12 Die Expression von <i>Glomeris tailless (tll)</i>  | 157        |
| 3.5.13 Die Expression von <i>Cupiennius tailless (tll)</i>  | 158        |
| 3.5.14 Das <i>Glomeris cap'n'collar</i> Gen   | 158        |
| 3.5.15 Die Expression von <i>Glomeris cap'n'collar (cnc)</i>  | 159        |
| 3.5.16 Das <i>Glomeris collier</i> Gen  | 161        |
| 3.5.17 Die Expression von <i>Glomeris collier (col)</i>   | 162        |
| 3.5.18 Das <i>Glomeris crocodile</i> Gen  | 163        |
| 3.5.19 Die Expression von <i>Glomeris crocodile (croc)</i>  | 164        |
| 3.5.20 Das <i>Glomeris forkhead</i> Gen   | 165        |
| 3.5.21 Die Expression von <i>Glomeris forkhead (fkh)</i>  | 166        |
| 3.5.22 Das <i>Glomeris E4(ems)/E5</i> Gen   | 166        |
| 3.5.23 Die <i>Glomeris Gene CG1343 (Gm-Sp1)</i> und <i>CG5669</i>   | 168        |
| 3.6 Die <i>Glomeris</i> Gene <i>Notch</i> und <i>Delta</i>  | 202        |
| 3.6.1 Die Expression von <i>Glomeris Notch (N)</i>  | 202        |
| 3.6.2 Die Expression von <i>Glomeris Delta (Dl)</i>   | 203        |
| <b>4.0 Diskussion</b>   | <b>206</b> |
| 4.1 Die Rolle der Segmentpolaritätsgene in der Segmentierung:<br>ventral konserviert, dorsal entkoppelt                                     | 206        |
| 4.2 Untersuchungen zur Korrelation von Sterniten und Tergiten in <i>Glomeris marginata</i> und die Definition des Diplosegments             | 208        |
| 4.3 Die Ebene der Hox-Gene ist hochkonserviert  | 214        |
| 4.4 Die Ebene der Paarregelgene: Gibt es ein Paarregel-System in <i>Glomeris</i> ?  | 220        |
| 4.5 Die Ebene der Lückengene  | 230        |
| 4.6 Welche Rolle spielen die aus <i>Drosophila</i> bekannten maternalen   |            |

## **Inhaltsverzeichnis**

---

|  |            |
|--|------------|
| Faktoren in <i>Glomeris</i> ?  | 232        |
| 4.7 Stellt die Segmentierung der Regio Germinalis ein ursprüngliches System dar? | 235        |
| 4.8 Segmentierung: Homologie oder Analogie?                                      | 239        |
| <br>   |            |
| <b>5. Literaturverzeichnis</b>   | <b>241</b> |
| <br>   |            |
| <b>6. Anhang</b>   | <b>263</b> |
| 6.1 Einträge in die „GenBank“ Datenbank  | 263        |
| 6.2 Übrige Sequenzen   | 271        |
| <br>   |            |
| Erklärung  | 311        |
| Lebenslauf   | 312        |
| Vollständiges Publikationsverzeichnis  | 313        |



## *Danksagung*

Die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Arbeiten sind im Labor von Prof. Dr. Diethard Tautz durchgeführt worden. Daher gilt ihm mein Dank zum einen dafür, dass ich diese ausgezeichnet ausgestatteten Räumlichkeiten und das technische Equipment in vollem Umfang habe nutzen dürfen. Zum anderen wäre es mir sicherlich nicht möglich gewesen, die hier vorliegende Arbeit, ohne die Betreuung durch Prof. Dr. Diethard Tautz und Dr. Wim Damen zu verwirklichen. Dr. Wim Damen danke ich vor allem für das in mich gesetzte Vertrauen, nach der Diplomarbeit auch die Promotionsarbeit in seiner Arbeitsgruppe durchführen zu dürfen. Zu jeder Zeit gewährleistete er mir die freie Wahl meines Forschungsthemas und unterstützte meine Vorhaben mit Rat und Tat, wobei naturgemäß die kontrovers geführten Debatten zum größten Lernerfolg führten (wie ich hoffe für beide Parteien).

Ein großer Dank gilt natürlich auch allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Damen, deren Hilfsbereitschaft und “know how” oftmals unerlässlich für das Gelingen meiner Arbeit war. Hier wären an erster Stelle Dr. Michael Schoppmeier und Dr. Niko Prpic zu nennen. Während ersterer vor allem unerlässlich für die Beherrschung des “Mac-Computers” war, konnte ich bei Niko von seinem schier unermesslichen Fachwissen auf dem Gebiet der Zoologie und seinem nicht enden wollender Willen mir dieses zu vermitteln, profitieren. Ich hoffe, dass ich mich der mir zu Teil gewordenen Hilfeleistung als würdig erwiesen habe. Da der Raum für eine Danksagung begrenzt ist, möchte ich hier nochmals allen Mitgliedern der Tautz-Laboratorien für die angenehme Arbeitsatmosphäre und unzählige Hilfestellungen bedanken. Leider kann ich an dieser Stelle nicht alle Namen einzeln nennen.

Spezieller Dank aber gilt den Abteilungen “Sekretariat” (Eva Siegmund, Gerti Meyer zu Altenschildesche, Heidi Fusswinkel), “Spülküche” (Viktorija Ryzkin, Kathrin Schwertz) und “Technische Assistenz” (Karin Otto, Susanne Krächter, u.v.m.).

Dr. Wim Damen, Dr. Niko Prpic und Eva Siegmund danke ich zusätzlich für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Mein größter Dank aber gilt meiner Familie und hier allen voran meinen Eltern, die mich seit der Zeit, zu der ich das erste Mal mit Hosentaschen voller Krabbeltiere nach Hause gekommen bin, in meinem Vorhaben unterstützt haben, dies zu meinem Beruf zu machen.

Schlussendlich möchte ich meiner Freundin Zofia Urbaniak danken, die am meisten darunter gelitten haben dürfte, dass der Labortag nicht nur acht Stunden und die Laborwoche nicht nur fünf Tage zählt.

## ***Abkürzungsverzeichnis***

### **a) morphologische Strukturen**

|       |                                 |
|-------|---------------------------------|
| an    | Antennensegment /<br>Antenne    |
| av    | Analklappen                     |
| bd    | Blastoderm                      |
| ch    | Chelicere                       |
| cu    | Kumulus                         |
| D     | dorsales Gewebe                 |
| dv    | Dorsalgefäß                     |
| E     | extraembryonales<br>Gewebe      |
| ea    | Anlagen des Enddarms            |
| g     | intersegmentale Grube           |
| gz    | Wachstumszone                   |
| L1-L4 | Laufbeine 1-4                   |
| lb    | Labrum                          |
| md    | Mandibularsegment /<br>Mandibel |
| mt    | Malpighische Gefäße             |
| mx    | Maxillarsegment/Maxille         |
| O1-O5 | opisthosomale Segmente<br>1-5   |
| oc    | optische Loben                  |
| pc    | Prozäphalon                     |
| ped   | Pedipalpus                      |
| pmd   | Prämandibularsegment            |

|       |                     |
|-------|---------------------|
| pmx   | Postmaxillarsegment |
| pz    | Wachstumszone       |
| R     | Rektum              |
| rd    | Regio Dorsalis      |
| rg    | Regio Germinalis    |
| S     | Stomodäum           |
| t     | Telson              |
| T1-T8 | Rumpfsegmente 1-8   |
| V     | ventrales Gewebe    |

### **b) Abkürzungen von Gen- bezeichnungen**

|              |   |
|--------------|---|
| <i>abd-A</i> | <i>abdominal-A</i>                              |
| <i>Abd-b</i> | <i>Abdominal-b</i>                              |
| <i>al</i>    | <i>aristaless</i>                               |
| <i>Antp</i>  | <i>Antennapedia</i>                             |
| <i>bowl</i>  | <i>brother of odd with entrails<br/>limited</i> |
| <i>btd</i>   | <i>buttonhead</i>                               |
| <i>cad</i>   | <i>caudal</i>                                   |
| <i>ci</i>    | <i>cubitus interruptus</i>                      |
| <i>CG...</i> | <i>(Celera Genomics)</i>                        |
| <i>cnc</i>   | <i>cap'n collar</i>                             |

|               |                             |             |                               |
|---------------|-----------------------------|-------------|-------------------------------|
| <i>col</i>    | <i>collier</i>              | <i>hnf4</i> | hepatocyte nuclear factor 4   |
| <i>croc</i>   | <i>crocodile</i>            | <i>Kr</i>   | <i>Krüppel</i>                |
| <i>crol</i>   | <i>crooked legs</i>         | <i>lab</i>  | <i>Labial</i>                 |
| <i>Dfd</i>    | <i>Deformed</i>             | <i>lmd</i>  | <i>lame duck</i>              |
| <i>Dl</i>     | <i>Delta</i>                | <i>N</i>    | <i>Notch</i>                  |
| <i>drm</i>    | <i>drumstick</i>            | <i>odd</i>  | <i>odd skipped</i>            |
| <i>dpn</i>    | <i>deadpan</i>              | <i>OLF1</i> | <i>olfactory factor 1</i>     |
| <i>dsf</i>    | <i>dissatisfaction</i>      | <i>opa</i>  | <i>odd-paired</i>             |
| <i>EBF</i>    | <i>early B-cell factor</i>  | <i>otd</i>  | <i>orthodenticle</i>          |
| <i>ems</i>    | <i>empty spiracles</i>      | <i>otd</i>  | <i>orthopedia</i>             |
| <i>en</i>     | <i>engrailed</i>            | <i>pb</i>   | <i>Proboscipedia</i>          |
| <i>E(spl)</i> | <i>enhancer of split</i>    | <i>pby</i>  | <i>pairberry</i>              |
| <i>eve</i>    | <i>even-skipped</i>         | <i>prd</i>  | <i>paired</i>                 |
| <i>ey</i>     | <i>eyeless (Pax6)</i>       | <i>repo</i> | <i>reversed polarity</i>      |
| <i>exex</i>   | <i>extra-extra</i>          | <i>rn</i>   | <i>rotund</i>                 |
| <i>fd59a</i>  | <i>forkhead domain 59a</i>  | <i>run</i>  | <i>runt</i>                   |
| <i>fd64a</i>  | <i>forkhead domain 64a</i>  | <i>Scr</i>  | <i>Sex combs reduced</i>      |
| <i>fd65a</i>  | <i>forkhead domain 65a</i>  | <i>Side</i> | <i>similar to deadpan</i>     |
| <i>fd96ca</i> | <i>forkhead domain 96ca</i> | <i>slp</i>  | <i>sloppy paired</i>          |
| <i>fd96cb</i> | <i>forkhead domain 96cb</i> | <i>sob</i>  | <i>sister of odd and bowl</i> |
| <i>fkf</i>    | <i>forkhead</i>             | <i>svp</i>  | <i>seven up</i>               |
| <i>ftz</i>    | <i>fushi tarazu</i>         | <i>tll</i>  | <i>tailless</i>               |
| <i>gl</i>     | <i>glass</i>                | <i>toy</i>  | <i>twin of eyeless</i>        |
| <i>gsb</i>    | <i>gooseberry</i>           | <i>Ubx</i>  | <i>Ultrabithorax</i>          |
| <i>gsn</i>    | <i>gooseberry neuro</i>     | <i>wg</i>   | <i>wingless</i>               |
| <i>Gsc</i>    | <i>Goosecoid</i>            |             |                               |
| <i>h</i>      | <i>hairy</i>                |             |                               |
| <i>hb</i>     | <i>hunchback</i>            |             |                               |
| <i>hbn</i>    | <i>homeobrain</i>           |             |                               |
| <i>hh</i>     | <i>hedgehog</i>             |             |                               |

**c) Abkürzungen von Art und Gattungsnamen**

|           |                                  |
|-----------|----------------------------------|
| <i>Ag</i> | <i>Anopheles gambiae</i>         |
| <i>Am</i> | <i>Apis mellifera</i>            |
| <i>At</i> | <i>Achaeearanea tepidariorum</i> |
| <i>Bm</i> | <i>Bombyx mori</i>               |
| <i>Ce</i> | <i>Caenorhabditis elegans</i>    |
| <i>Cs</i> | <i>Cupiennius salei</i>          |
| <i>Dm</i> | <i>Drosophila melanogaster</i>   |
| <i>Gb</i> | <i>Gryllus bimaculatus</i>       |
| <i>Gg</i> | <i>Gallus gallus</i>             |
| <i>Gm</i> | <i>Glomeris marginata</i>        |
| <i>Ht</i> | <i>Helobdella triserialis</i>    |
| <i>Hs</i> | <i>Homo sapiens</i>              |
| <i>Jc</i> | <i>Junonia coenia</i>            |
| <i>La</i> | <i>Lithobius atkinsoni</i>       |
| <i>Lm</i> | <i>Locusta migratoria</i>        |
| <i>Ma</i> | <i>Megaselia abdita</i>          |
| <i>Mm</i> | <i>Mus musculus</i>              |
| <i>Of</i> | <i>Oncopeltus fasciatus</i>      |
| <i>Sa</i> | <i>Schistocerca americana</i>    |
| <i>Sg</i> | <i>Schistocerca gregaria</i>     |
| <i>Sm</i> | <i>Strigamia maritima</i>        |
| <i>Ta</i> | <i>Tegenaria atrica</i>          |
| <i>Tc</i> | <i>Tribolium castaneum</i>       |

**d) Übrige Abkürzungen**

|       |  |
|-------|--|
| AP    | alkaline Phosphatase                       |
| BB    | Buttonhead-Box                             |
| BCIP  | 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-phosphat        |
| bHLH  | basisches Helix Loop Helix Motiv           |
| bp    | Basenpaare                                 |
| BrdU  | 5-Bromo-2'-deoxy-uridin                    |
| bZIP  | basischer Leuzin-Zipper                    |
| °C    | Grad Celsius                               |
| cDNA  | copyDNA                                    |
| cm    | Zentimeter                                 |
| DAPI  | 4',6-Diamidin-2-phenylindol Dihydrochlorid |
| DNA   | Desoxyribonukleinsäure                     |
| dsRNA | doppelsträngige RNA                        |
| EH1-4 | Engrailed Domäne 1-4                       |
| FH    | Forkhead Domäne                            |
| Hex   | Hexapeptid                                 |
| kb    | Kilobasenpaare                             |
| µg    | Mikrogramm                                 |
| µl    | Mikroliter                                 |
| M     | Molar                                      |
| mat.  | maternal                                   |
| ml    | Mililiter                                  |
| mRNA  | Boten-RNA                                  |
| N     | Normal                                     |

|      |   |
|------|---|
| NBT  | Nitroblaute-<br>trazoliumchlorid          |
| Okt  | Oktapeptid                                |
| ORF  | offener Leserahmen                        |
| PBST | phosphatgepufferte Saline<br>mit Tween-20 |
| PCR  | Polymerase-<br>Kettenreaktion             |
| PNK  | Polynukleotid-Kinase                      |
| RACE | rapid amplification of<br>cDNA ends       |
| RNA  | Ribonukleinsäure                          |
| RT   | reverse Transkriptase                     |
| RV   | reliability value                         |
| st   | Stadium                                   |
| TD   | Transmembrandomäne                        |
| TE   | Tris-EDTA                                 |
| TEA  | Triethanolamin                            |
| U    | Enzymeinheit (Unit)                       |
| UTR  | untranslatierte Region                    |
| ZF   | Zinkfinger                                |
| zyg. | zygotisch                                 |

## Zusammenfassung

Die Evolution der Metazoa und die Mechanismen, die für die Entwicklung von der befruchteten Eizelle bis zum fertigen Lebewesen verantwortlich sind, stellen zwei wichtige Fragen/Fachrichtungen der Biologie dar. Einen Beitrag zur Beantwortung dieser Fragen zu leisten ist das Ziel der hier vorliegenden Dissertation.

Untersuchungen zur Segmentierung verschiedener Metazoen können dazu herangezogen werden, zu klären, ob diese Segmentierung ursprünglich für höhere Metazoen (Bilaterier) ist, und in unsegmentierten Phyla verloren gegangen ist, oder ob sie unabhängig voneinander als evolutive Neuerung in den verschiedenen segmentierten Gruppen (Arthropoda, Annelida, Vertebrata) entstanden ist. Letztendlich geht es in diesem Zusammenhang darum, herauszufinden, welche genetischen Faktoren (Gene) an der Segmentierung in den oben genannten verschiedenen Phyla beteiligt sind, und ob deren Funktionsweise bzw. Interaktion für die Homologie der Segmente spricht. Letzteres würde dann als Synapomorphie für einen gemeinsamen Ursprung der Segmentierung sprechen.

Für den Vergleich der Segmentierung in Vertebraten, Anneliden und Arthropoden ist es unerlässlich, zunächst für die einzelnen Phyla zu verstehen, wie die Segmente auf molekularer Ebene entstehen, und wie der ursprüngliche Segmentierungs-Typ in allen drei Gruppen ausgesehen haben muss. Da dies für die Arthropoden noch immer nicht klar ist, und weil Daten zur Segmentbildung der Myriapoda rar sind, sind die aus der Taufliege *Drosophila* relevanten Segmentierungsgene aus dem Diplopoden *Glomeris marginata* im Rahmen dieser Arbeit isoliert und deren Expression untersucht worden. Anschließend sind die erlangten Erkenntnisse aus *Glomeris* mit den Daten aus anderen Arthropoden verglichen worden.

Es zeigte sich, dass die Ebenen der Segmentpolaritäts- und Hox-Gene in allen Arthropoden hochkonserviert ist, wobei für *Glomeris* gezeigt werden konnte, dass die Bildung der Segmentgrenzen in ventralen und dorsalen Segmenten unterschiedlich reguliert ist.

Bezüglich eines Paarregel-Mechanismusses, wie er aus *Drosophila* und anderen höheren Insekten bekannt ist, kann auf Grund der Daten aus *Glomeris* das Vorhandensein eines Paarregel-Systems oder eines doppelsegmentalen Systems nicht ausgeschlossen werden.

Inwiefern die Lückengene in die Segmentierung von *Glomeris* involviert sind, bleibt weitgehend unklar, obwohl deren Expression z.T. auf eine ähnliche Funktion wie in *Drosophila* hindeuten. Allgemein lässt sich vermuten, dass der anteriore und der posteriore Teil des Embryos, die beide einen anderen entwicklungsbiologischen Ursprung haben, z.T. durch andere Faktoren bzw. deren Interaktionen segmentiert wird.

Abschließend konnte gezeigt werden, dass die Gene *Notch* und *Delta* in die Segmentierung involviert sein könnten. Dies unterstützt die kürzlich durch Daten aus der Spinne *Cupiennius* gewonnene Hypothese, dass *Notch* und *Delta* ursprüngliche Faktoren der Arthropoden-Segmentierung darstellen könnten.

## Summary

The evolution of the metazoans and the mechanisms, that underlie the developmental processes to transform a zygote to an adult individual are two main questions modern biologists are still confronted with. To contribute to an answer to these questions is the aim of the here present thesis.

Studies with regard to the process of segmentation in different metazoans can be used to clarify whether segmentation is ancestral for higher metazoans (bilateria) and is lost secondarily in unsegmented phyla, or segmentation in annelids, arthropods and vertebrates has been developed several times from unsegmented precursors. Finally in this context it is necessary to find out which genetic factors (genes) are involved in segmentation of the above mentioned phyla, and establish whether their function and interaction could point to the homology of segmentation. If this would be the case this would be a synapomorphy for a common origin of segmentation.

For a proper comparison of the different modes of segmentation in vertebrates, annelids and arthropods it is necessary to understand the molecular level of segment formation and to determine the ancestral type of segmentation for each phylum. Because this is still unclear in the case of arthropods and because segmentation data from myriapods are scarce, homologs of the known relevant *Drosophila* segmentation genes have been isolated from the diplopod *Glomeris marginata* and their expression has been studied. The obtained data from *Glomeris* have been compared to the known data from other arthropods.

One result was, that segmentation on the level of segment polarity- and Hox-genes seems to be highly conserved among all arthropods, although in the case of *Glomeris* it could be shown, that the formation of segmental borders in ventral and dorsal segments is most probably differently regulated.

With regard to a pair-rule mechanism, as known from *Drosophila* and other higher insects, the *Glomeris* data can not exclude the existence of a pair-rule system or a double-segmental system.

To what extend the gap genes are involved in *Glomeris* segmentation remains unresolved, although their expression patterns partially point to a similar function as in *Drosophila*. In summary, one can speculate, that the anterior and the posterior part of the embryo, which have a different developmental origin, are partially segmented by different factors or different regulation of the involved factors.

Finally it could be shown, that the genes *Notch* and *Delta* appear to be involved in *Glomeris* segmentation. This supports the recently established hypothesis, based on data from the spider *Cupiennius salei*, that *Notch* and *Delta* could be ancestral factors involved in arthropod segmentation.

### **1. Einleitung**

Die Arthropoden oder Gliederfüßer stellen eine der arten- und individuenreichsten Gruppen der Metazoen. Innerhalb der Arthropoden nehmen die Insekten die Vorherrschaft ein. Wegen ihrer Dominanz innerhalb der Gliederfüßer wird den weiteren Klassen neben den Insekten außerhalb der Fachwelt wenig Aufmerksamkeit gewidmet. Während die Myriapoden meist gänzlich ignoriert werden, werden die Crustaceen lediglich als schmackhafte Meeresfrüchte geschätzt und Cheliceraten (z.B. Spinnen) kennt man meist nur aus Gruselgeschichten, wo sie auf Grund ihres „unheimlichen“ Erscheinungsbildes entgegen jeglicher Realität als gefährlich und angsteinflößend dargestellt werden.

Vergessen wird dabei allzu oft, dass die Arthropoden eine äußerst erfolgreiche Tiergruppe repräsentieren, die sich in prinzipiell unveränderter Form bereits vor mehr als 500 Millionen Jahren auf der Erde etabliert hat. Worauf aber beruht dieser evolutionäre Erfolg, und warum ist die Formenvielfalt innerhalb der Arthropoden so gewaltig, dass neben „liebesswerten“ Tagfaltern auch „furchterregende“ Vogelspinnen entstehen konnten? Die Beantwortung beider Fragen könnte in einer einzigen Antwort bestehen: Segmentierung! So gibt es Theorien, die die Segmentierung, also die Gliederung des Körpers in wiederholte Einheiten, als Grundlage für die Vielfalt der Arthropoden ansehen. Die Differenzierung und damit einhergehende Spezialisierung solcher metamerer Einheiten ermöglichte eine rasche Anpassung der Ur-Arthropoden an unterschiedliche Umweltbedingungen und gewährleistete eine rasche Radiation, die zur Inbesitznahme aller nur denkbaren ökologischen Nischen führte.

Neben den Arthropoden ist das Prinzip des segmentierten Körpers aber auch in anderen Tiergruppen wie den Anneliden und den Vertebraten vertreten.

Wegen der augenscheinlichen Wichtigkeit der Segmentierung ist diese schon seit langem Objekt der Wissenschaft. Wobei die Frage nicht nur lautet, wie Segmentierung zu Stande kommt und wie Segmente im Einzelnen gebildet werden (Entwicklung), sondern auch ob diese gemeinsamen Ursprungs sind oder ob diese unabhängig voneinander in Arthropoden, Anneliden und Vertebraten entstanden sind (Evolution).

## **Kapitel 1: Einleitung**

---

Bis zur Etablierung molekularer Techniken und der heute vielfach gebräuchlichen DNA-Sequenzanalyse beruhte die Einteilung der Taxa größtenteils auf morphologischen Merkmalen (z.B. Snodgrass, 1938; Cisne, 1974; Weygoldt, 1986). Darauf fußte die Annahme, dass die Cheliceraten innerhalb der Arthropoden den ursprünglichsten Zustand repräsentieren sollten. Als Autapomorphie dieser galt, wie es der Name schon andeutet, das Vorhandensein von Cheliceren. Dieser Gruppe wurden die Mandibulaten, gekennzeichnet durch den Besitz von Mandibeln, gegenüber gestellt. Zu diesen sollten die Crustaceen, die Myriapoden und die Insekten gehören, wobei die Crustaceen an der Basis der Mandibulata stehen sollten. Namensgebend für die Gruppe aus Insekten und Myriapoden schließlich war das Fehlen der zweiten Antennen, weshalb sie als Monantennaten (auch Ateloceraten) bezeichnet worden sind (zusammengefasst in Westheide und Rieger, 1996).

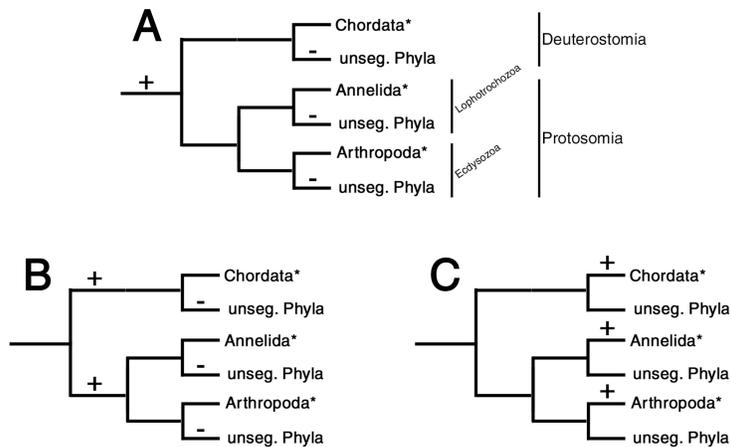
Moderne Analysemethoden, wie der Vergleich der Erbinformation (DNA), haben diese Einteilung in Frage gestellt. So wird heute vielfach angenommen, dass die Myriapoden und die Cheliceraten enger miteinander verwandt sind (Myriochelata), und dass die Insekten sowie die Crustaceen eine gemeinsame Gruppe bilden (Pancrustacea, Tetraconata) (Friedrich und Tautz, 1995; Boore et al., 1998; Shultz und Regier, 2000; Hwang et al., 2001; Giribet et al., 2001).

Es wird außerdem kontrovers diskutiert, welche Organismen die Schwestergruppe der Arthropoden darstellen. Während die Segmentierung als Synapomorphie der Anneliden und Arthropoden angesehen wurde, was maßgeblich Anteil daran hatte, die Anneliden und Arthropoden zu den Gliedertieren (Articulaten) zusammen zu fassen (z.B. Siewing, 1963; Weber, 1952), wird dies heute auf Grund von DNA-Sequenzanalysen widersprüchlich diskutiert. Die Articulata-Hypothese steht der Ecdysozoa-Hypothese (Aguinaldo et al., 1997) gegenüber. Diese sieht die unsegmentierten Nematoden als Schwestergruppe der Arthropoden. Neben der Tatsache, dass phylogenetische Analysen diese beiden Stämme als verwandt auszeichnen (Aguinaldo et al., 1997), ist beiden das namensgebende Hormon Ecdyson gemeinsam, das für die Häutung in Arthropoden wie Nematoden essentiell wichtig ist (zusammengefasst in Westheide und Rieger, 1996).

## Kapitel 1: Einleitung

Hinsichtlich der Segmentierung würde dies entweder bedeuten, dass diese in Nematoden verloren gegangen ist, oder dass die Segmentbildung der Anneliden und Arthropoden nicht auf einen gemeinsamen Ursprung zurückzuführen ist, also nicht homolog ist.

Lange ist angenommen worden, dass die Segmentierung in Vertebraten unabhängig von der in den Protostomiern ist. Ausschlaggebend für diese Annahme war unter anderem die Tatsache, dass die molekularen Mechanismen der Segmentbildung des Modell-Protostomiers *Drosophila melanogaster* (Segmentierungs-Kaskade) stark von der Segmentbildung der Vertebraten (Deuterostomier) abweicht (vgl. Kapitel 1.3 mit Kapitel 1.7). Erst durch den Vergleich weiterer molekularer Faktoren, die die Segmentierung sowohl in basaleren Arthropoden als auch in Vertebraten steuern, ist der Eindruck entstanden, dass eventuell doch ein gemeinsamer Ursprung der Segmentierung von Proto- und Deuterostomiern vorliegen könnte (Stollewerk et al., 2003). Das würde bedeuten, dass der ursprüngliche Bilaterier segmentiert gewesen sein müsste, und dass die Segmentierung in allen nicht segmentierten Bilateriern sekundär verloren gegangen sein müsste (Abb. 1.1).



**Abb. 1.1** Stark vereinfachte Phylogenie der Bilateria nach der Ecdysozoa Theorie. Möglichkeiten des Erwerbs bzw. des Verlusts von Segmentierung. **A** Segmentierung ist einmal an der Basis der Bilateria entstanden (+) und in den unsegmentierten Phyla verloren gegangen (-). **B** Segmentierung ist zweimal entstanden. Einmal an der Basis der Deuterostomia mit anschließendem Verlust in unsegmentierten Deuterostomia. **C** Segmentierung ist dreimal unabhängig voneinander in Chordaten, Anneliden und Arthropoden entstanden. (+), Erwerb der Segmentierung; (-) Verlust der Segmentierung. Nach Davis und Patel, 1999.

Um letztendlich aber Homologie von Konvergenz hinsichtlich der Segmentierung unterscheiden zu können, muss eine Vielzahl von Faktoren untersucht werden, denn erst das

Vorhandensein einer Fülle von Übereinstimmungen im Prozess der Segmentierung würde überzeugend für Homologie sprechen.

Aus diesen Gründen ist es interessant, sich mit der Entwicklung der Segmentierung zu beschäftigen, um neben Fragen zur Entwicklung auch Fragen zur Evolution beantworten zu können.

### 1.1 Warum ein Myriapode?

Der ursprüngliche Mechanismus der Segmentierung in Arthropoden ist bis heute nicht vollständig verstanden. Das Hauptwissen beruht auf Daten aus der Taufliege *Drosophila melanogaster*, die, wie später beschrieben, einen abgeleiteten Entwicklungsmodus entwickelt hat, und somit nicht als repräsentativ für die Arthropoden gelten kann. Da zu Beginn dieser Arbeit kaum Daten zur Expression der Segmentierungsgene aus Myriapoden vorlagen, hielt ich es für angebracht, die Segmentierung eines Vertreters der Myriapoden hinsichtlich der Segmententwicklung zu studieren. Außerdem rückte die Gruppe der Myriapoden durch die Umsortierung der Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Arthropoden in eine basalere Position (s.o.). Von Interesse könnte es in diesem Zusammenhang sein, Synapomorphien in Cheliceraten und Myriapoden zu finden, um die neue Systematik entweder zu unterstützen, oder zu widerlegen, und somit die alte Systematik zu unterstützen. Da sich mittlerweile eine Reihe anderer Forschungsgruppen mit den Myriapoden und speziell mit der Segmentierung dieser beschäftigen, scheint mir ein begründetes Interesse an der Segmentierung der Myriapoden zu bestehen.

### 1.2 Warum *Glomeris*?

Die Gruppe der Myriapoden umfasst die Chilopoden und die Progoneaten, zu denen die Symphylen, die Pauropoden und die Diplopoden gehören. Während die Chilopoden eine räuberische Lebensweise pflegen, handelt es sich bei den Progoneaten ausschließlich um

## Kapitel 1: Einleitung

---

Pflanzenfresser. Die Wahl des Studienobjekts fiel aus mehreren Gründen auf den heimischen Saftkugler *Glomeris marginata*. *Glomeris* besiedelt heimische Gefilde und kommt an günstigen Standorten in (für Myriapoden) relativ großer Zahl vor. Die Haltung eines Pflanzenfressers ist gegenüber der Haltung von Räubern vereinfacht, da mehr Individuen auf engem Raum (im Labor) gehalten werden können, ohne dass es zu Verlusten durch Kannibalismus kommt. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass *Glomeris* außerdem wenig Ansprüche an die Haltungsbedingungen stellt und Futter leicht verfügbar ist (siehe Material und Methoden).

Für Untersuchungen der Embryonalentwicklung ist es dringend erforderlich, dass genügend Embryos regelmäßig zur Verfügung stehen. *Glomeris* legt über einen relativ langen Zeitraum hinweg gleichmäßig viele leicht zu findende Eier. Viele Myriapoden bauen nur einmal im Jahr ein Gelege und/oder tarnen und verstecken ihre Eier. Ein weiterer nicht zu unterschätzender Vorteil von *Glomeris* als Versuchstier ist, dass die Embryonalentwicklung bereits ausführlich auf morphologischer Basis untersucht worden ist (Dohle, 1964 und 1974). Dies ermöglichte einen leichteren Einstieg in die Materie.

### 1.3 *Drosophila melanogaster*: Das Modellsystem bildet eine Ausnahme

Als Modellsystem für die Untersuchung der Segmentierung in Arthropoden dient die sukzessive Untergliederung des Blastoderms der Taufliege *Drosophila melanogaster* in immer kleiner werdende Abschnitte während der Embryonalentwicklung. Diese Unterteilung unterliegt dem Wirken einer hierarchisch regulierten Genkaskade.

Obwohl die grundlegenden Fakten in diesem Zusammenhang weitgehendst bekannt sein dürften, möchte ich die sogenannte Segmentierungskaskade hier in aller Kürze zusammenfassen:

Zu Beginn der Entwicklung wird die antero-posteriore Achse über die Lokalisation maternaler Faktoren (mRNA) im anterioren bzw. im posterioren Bereich des Embryos bestimmt. Translation und anschließende Diffusion der Proteine führen zur Bildung von Proteingradienten entlang der Längsachse. Auf Grund verschiedener Konzentrations-

## Kapitel 1: Einleitung

---

Schwellenwerte dieser Faktoren wird die zygotische Expression der sog. Lückengene (engl. Gap Genes) initiiert. Die Diffusion der resultierenden Proteine ist nicht sonderlich weitreichend, und da sich die Lückengene gegenseitig reprimieren, werden jeweils räumlich relativ eng begrenzte Gradienten gebildet, die den Embryo weiter unterteilen. Die Lückengene regulieren im nächsten Schritt die Expression der Paarregelgene. Diese lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen. Die Gruppe der primären Paarregelgene wird ausschließlich von Genen der übergeordneten Ebene, also den Lückengenen, reguliert. Die Expression der sekundären Paarregelgene wird auch von den primären Paarregelgenen kontrolliert (z.B. Ingham, 1988; zusammengefasst in Bate und Martinez Arias, 1993). Mit Ausnahme des sekundären Paarregelgens *odd-paired (opa)* werden diese Gene in *Drosophila* in sieben doppelsegmental angelegten transversalen Streifen exprimiert. Die doppelsegmentale Expression der Paarregelgene ist das erste Anzeichen einer segmentalen Einteilung des Embryos. Sowohl bei den Lücken- als auch bei den Paarregelgenen handelt es sich ausschließlich um Transkriptionsfaktoren, die frei durch Diffusion im synzyalen Blastoderm wirken können. Mit der Zellularisierung des Blastoderms obliegt es den Segmentpolaritätsgenen, die durch die Paarregelgene festgelegten Parasegmentgrenzen zu konservieren. Zusätzlich sorgen sie für die Festlegung des Zellschicksals in verschiedenen Bereichen eines jeden Segments. Schlussendlich legen die Hox-Gene das zukünftige Entwicklungsschicksal der unterschiedlichen Segmente fest. Segmentpolaritäts- und Hox-Gene werden von den Paarregel- und Lückengenen reguliert.

Intensive Studien der Segmentierungsgene in einer Reihe anderer Arthropoden haben gezeigt, dass der Modellorganismus *Drosophila melanogaster* in vielerlei Hinsicht einen Sonderfall darstellt. Dies geht mit dem generellen Modus der Unterteilung des Embryos einher. In den meisten bisher untersuchten Arthropoden, seien es nun basalere Insekten, Crustaceen, Cheliceraten oder Myriapoden, werden lediglich die anterioren Segmente nahezu zeitgleich angelegt. Die Bildung weiterer Segmente wird innerhalb einer sogenannten Wachstums- oder Proliferationszone vollzogen. Sukzessive werden von dort ausgehend neue Segmente dem Keimstreifen hinzugefügt. Arthropoden, in denen diese Form der Ontogenese verwirklicht ist, werden als „Kurzkeimer“ bezeichnet, da ihr initialer

Keimstreifen im Gegensatz zu dem der sogenannten „Langkeimer“, zu denen *Drosophila* gehört, noch nicht alle späteren Segmente repräsentiert. Die „Langkeimer“ hingegen bilden Segmente des Kopfs so wie des Rumpfs nahezu gleichzeitig ohne späteres Hinzufügen neuer Segmente. Schon wegen dieses Umstands ist es verständlich, dass auch innerhalb der molekularen Systeme, die die Segmentierung steuern, Unterschiede zwischen „Kurz-,“ und „Langkeimern“ auftreten.

### 1.4 Welche Ebenen bzw. Mechanismen der *Drosophila* Segmentierungskaskade sind ursprünglich für Arthropoden?

Weitreichende Untersuchungen hinsichtlich der Expression der Hox-Gen Orthologe in anderen Arthropoden haben gezeigt, dass diese unterste Ebene der *Drosophila* Segmentierungskaskade weitgehend konserviert zu sein scheint. Die Aufgabe dieser Gene ist es, Segmentschicksale zu bestimmen (zusammengefasst in Hughes und Kaufman, 2002c). Untersuchungen der Segmentpolaritätsgene haben gezeigt, dass ihre Expression und damit einhergehende Funktion bzw. Regulation innerhalb der verschiedenen Mitglieder der Arthropoden ebenfalls stark konserviert ist (Rogers und Kaufman, 1996; Schmidt-Ott et al., 1996; Patel et al., 1989a; Patel, 1994; Patel et al., 1989b; Patel, 1994; Scholtz et al., 1994; Damen, 2002; Hughes and Kaufman, 2002b; Chipman et al., 2004a).

Weniger konserviert scheint die Ebene der aus *Drosophila* bekannten Paarregelgene zu sein. Untersuchungen der Paarregelgen Orthologen in höheren Insekten hat gezeigt, dass auch hier vielfach ein doppelsegmentales Expressionsmuster dieser Gene zu finden ist (Rohr et al., 1999; Sommer und Tautz, 1991; Bullock et al., 2004; Xu et al., 1997). In basaleren Insekten wie *Schistocerca* findet man Expressionsprofile mancher Paarregelgene, die den Schluss zulassen, dass ein dem Paarregelgen-System verwandter Mechanismus vorhanden ist (Davis et al., 2001). Im Fall des Mehlkäfers *Tribolium castaneum* sind mutante Phänotypen gefunden worden, in denen Defekte in alternierenden Segmenten vorliegen (Sulston und Anderson, 1996; Maderspacher et al., 1998). Daher gilt hier das Vorhandensein

## Kapitel 1: Einleitung

---

eines doppelsegmentalen Mechanismus, ähnlich dem Paarregelmechanismus in *Drosophila*, als gesichert.

Eindeutige Hinweise auf einen Paarregelmechanismus konnten außerhalb der Insekten nicht nachgewiesen werden. Lediglich in der Milbe *Tetranychus urticae* und dem Centipeden *Strigamia maritima* konnte Genexpression gezeigt werden, die unter Umständen auf ein Paarregel-System hindeuten könnte (Dearden et al., 2002; Chipman et al., 2004b).

In wie weit die Ebene der Lückengene konserviert ist, ist ebenfalls noch nicht geklärt. Während Daten aus Insekten belegen, dass ein Lücken-System ähnlich dem in *Drosophila* Bestandteil des Segmentierungsmechanismus ist (Liu und Kaufman, 2004a und b; Bucher und Klingler, 2004 ; Li et al., 1996; Schröder et al., 2000; Sommer und Tautz, 1993; Wolff et al., 1995), ist dies für Crustaceen, Cheliceraten und Myriapoden noch weitgehend unklar. Da die Lückengene in *Drosophila* von den maternalen Effektor-Genen reguliert werden, ist es auch interessant zu erfahren, in wie weit die Funktion dieser Faktoren konserviert ist. Hierzu liegen bisher kaum Daten vor. Studien der Gene *orthodenticle-1* und *hunchback* in *Tribolium* geben aber Anlass zu der Vermutung, dass diese Gene die Funktion des aus *Drosophila* bekannten maternalen Faktors *bicoid* inne haben (Schröder 2003).

Nach diesem kurzen Überblick über den Wissensstand bezüglich der Aufgabe der Orthologen der sog. *Drosophila* Segmentierungsgene in primitiveren Insekten und anderen Arthropoden soll in den nachfolgenden Kapiteln eine kurze Übersicht über die Segmentierung in Nicht-Arthropoden gegeben werden. Hierbei sollen sowohl die morphologischen Eigenheiten der Segmentbildung als auch die Rolle der aus *Drosophila* bekannten „Segmentierungsgene“, soweit bekannt, beschrieben werden.

### 1.5 Segmentierung in Onychophoren

Die Onychophoren sind insofern interessant, als dass sie ein Bindeglied zwischen den Anneliden und den Arthropoden (nach der Articulata-Theorie) darstellen könnten. Der Bauplan der Onychophoren vereinigt Merkmale der Anneliden und der Arthropoden.

## **Kapitel 1: Einleitung**

---

Merkmale, die sie mit den Anneliden teilen, sind z.B. die homonome Körpersegmentierung und die segmentalen Nephridien. Mit den Arthropoden haben sie u.a. das offene Kreislaufsystem und die häutungsfähige Chitin-Protein-Cuticula gemeinsam (Westheide und Rieger, 1996).

Leider existieren nur sehr wenige Arbeiten, die sich mit der Ausprägung der Segmentierungsgene in Onychophoren beschäftigen, und diese beschränken sich auf die Segmentpolaritäts- und Hox-Gene (Wedeen et al., 1997; Grenier et al., 1997). Ob diese eine homologe Funktion während der Segmentierung spielen ist weitgehend unklar.

### 1.6 Segmentierung in Anneliden

Die Anneliden, zu denen neben den ursprünglicheren Polychaeten auch die abgeleiteten Clitellaten gehören, bilden eine weitere Gruppe segmentierter Organismen. Während die Embryonalentwicklung der Polychaeten meist über die typische Trochophora-Larve geschieht, vollziehen die Clitellaten eine direkte Embryonalentwicklung (z.B. Irvine und Martindale; 1996, Westheide und Rieger, 1996). Beiden gemeinsam ist, dass sowohl Mesoderm als auch Ektoderm parallel segmentiert werden. Dies geschieht ausgehend von sogenannten Teloblasten (Mesoteloblasten und Ektoteloblasten). Diese entwickeln sich zum segmentierten Bereich der Adulti (z.B. Irvine und Martindale, 1996).

Hierin ist ein grundsätzlicher Unterschied zu den Arthropoden zu sehen, wo weder Spiralfurchung noch Teloblasten vorhanden sind. Es lassen sich folglich deutliche Unterschiede in der Embryonalentwicklung und besonders in der Art der Segmentbildung zwischen Anneliden und Arthropoden feststellen. Während die Segmente in Arthropoden durch Neudetermination gebildet werden, geschieht dies in Anneliden durch Knospung. Im Fall der Anneliden werden zusätzliche Segmente nach posterior abgeschnürt (vgl. Somitogenese in Vertebraten im nächsten Kapitel der Einleitung).

Es bleibt die Frage, ob die Segmentierung der sogenannten Articulata (Gliedertiere: Annelida und Arthropoda) auf einem gemeinsamen Ursprung beruht. Um diese Frage beantworten zu können wurden die molekularen Faktoren der Segmentierung, so wie sie aus

## Kapitel 1: Einleitung

---

*Drosophila* bekannt waren, in verschiedenen Anneliden untersucht. Zwar sprechen Daten hinsichtlich der zeitlichen und örtlichen Expression von *engrailed* in *Chaetopterus* gegen eine Konserviertheit des *engrailed* Orthologs (Seaver et al., 2001), Untersuchungen der Orthologen *engrailed* und *wingless* aus *Platynereis* werden jedoch so ausgelegt, dass ein hohes Maß an Konserviertheit vorliegt (Prud'homme et al., 2003).

Und auch Daten aus Clitellaten sind widersprüchlich. Wurde zunächst angenommen, dass die Expression von *engrailed* im Blutegel auf eine Funktion in Neurogenese und Segmentierung hindeutet (Wedeen und Weisblat, 1991; Lans et al., 1993), wird dies in neueren Veröffentlichungen bezweifelt (Shain et al., 1998; Seaver und Shankland, 2001).

In Anneliden sind ebenfalls Orthologe der Hox-Gene untersucht worden (Kourakis et al., 1997; Irvine und Martindale, 2000). In *Chaetopterus* gehorchen diese weitgehend der räumlichen Kolinearität, was ein Charakteristikum für Hox-Gene darstellt (Irvine und Martindale, 2000). Frühe Expression der Hox-Gene in der „Wachstumszone“ von *Chaetopterus* gibt Grund zu der Annahme, dass die Hox-Gene eine Rolle bei der Differenzierung der Teloblasten spielen könnten (Irvine und Martindale, 2000). Das Fehlen eines solchen Expressionsprofils im Blutegel *Helobdella* widerspricht aber dieser Annahme (Kourakis et al., 1997). Zumindest die Rolle der Hox-Gen Orthologen scheint aber zwischen Arthropoden und Anneliden grundsätzlich konserviert zu sein, auch wenn funktionelle Studien zur Untermauerung dieser Annahme fehlen.

Untersuchungen zu den Orthologen der Paarregelgene und der Lückengene in Anneliden sind rar, sodass von den Lückengenen lediglich *hunchback* untersucht worden ist. In Anneliden scheint es keine Rolle während der Segmentierung zu spielen, ist aber in die Entwicklung des ZNS involviert (Werbrock et al., 2001; Iwasa et al., 2000). Untersuchungen zum Paarregelgen *even-skipped* in *Helobdella* haben gezeigt, dass dieses eine Funktion in Segmentierung und Neurogenese spielt (Song et al., 2002). Die Funktion während der Segmentbildung liegt aber in der allgemeinen Regulation der ersten Zellteilungen. Ein Expressionsmuster in Streifen oder in alternierenden Zellen liegt nicht vor (Song et al., 2002). Ähnlich verhält es sich für ein *hairy/enhancer of split (hes)* Ortholog in *Helobdella*. Auch dieses könnte insofern in die Segmentierung involviert sein als dass es eine Funktion während der Zellteilung inne zu haben scheint (Song et al., 2004).

Alles in Allem zeigen sich nur wenige Übereinstimmungen zwischen den Arthropoden und den Anneliden. Lediglich die Funktion der Hox-Gene scheint konserviert zu sein, aber dies ist sie auch im Fall der dritten Gruppe segmentierter Organismen, nämlich der Vertebraten.

### 1.7 Segmentierung in Vertebraten

Die sich wiederholenden metameren Einheiten (Segmente) der Vertebraten werden als Somiten bezeichnet. Diese unterscheiden sich dadurch von den Segmenten der Arthropoden, dass lediglich das Mesoderm segmentiert wird. Im Gegensatz zur Abschnürung von mesodermalen (und ektodermalen) Einheiten in Anneliden, werden die Somiten der Vertebraten nicht nach hinten, sondern nach vorne abgegeben. Dies geschieht aus einem unsegmentierten, posterior im Embryo gelegenen mesodermalen Gewebe, das als „präsomitisches Mesoderm“ (PSM) bezeichnet wird. Aus den primär gebildeten mesodermalen Somiten entwickeln sich später die eigentlichen Mesodermderivate wie das Skelett, die Muskulatur und manche Organe wie z.B. die Nieren (zusammengefasst in Wolpert, 1998).

Die Faktoren, welche die Segmentierung in Arthropoden steuern, scheinen in Vertebraten nur bedingt eine Rolle in der Somitogenese zu spielen. So konnten lediglich Mitglieder der *hes/her/hey* Gruppe als Bestandteil molekularer Mechanismen, die zur Ausbildung der Somiten führen, identifiziert werden (z.B. Pourquiè 2001a und b; Bessho und Kageyama, 2003). Daten zu einem möglichen Homolog des Segmentpolaritätsgens *engrailed* aus dem Cephalochordaten *Amphioxus* könnten auf eine Verknüpfung der *Drosophila* Segmentierungsgene mit der Somitenbildung in Chordaten hindeuten. In *Amphioxus* ist *engrailed* in die Formation der ersten anterioren Somiten involviert. In diesen zeigt sich eine *engrailed* Expression in den jeweils posterioren Teilen der ersten acht Somiten, die anderen Ursprungs sind (enterozoelisch) als die restlichen, die aus einem Schizozoel entstehen (Jefferies, 1986; Holland et al., 1997).

## Kapitel 1: Einleitung

---

Während also der Großteil der *Drosophila* Segmentierungsgene keine Rolle bei der Somitogenese spielt, sind jedoch auch in Vertebraten die Hox-Gene für die spätere Differenzierung der Somiten verantwortlich (z.B. Burke et al., 1995).

Die Bildung der Somiten obliegt der *Notch*-Signalkaskade (z.B. Pourquiè, 1999; Saga und Takeda 2001). Dieses System wird in Metazoen oft eingesetzt, wenn Zell-zu-Zell Kontakte erforderlich sind, und auch in *Drosophila* spielt es bei einer Reihe von Entwicklungsprozessen eine Rolle (z.B. Baron et al., 2002). Erst durch kürzlich veröffentlichte Studien in der Kammspinne *Cupiennius salei* konnte nachgewiesen werden, dass die *Notch*-Signalkaskade auch eine Funktion während der Segmentbildung in Arthropoden hat (Stollewerk et al., 2003). Unterstützt wird die Vorstellung, dass die *Notch*-Signalkaskade Bestandteil des ursprünglichen Segmentierungsmodus der Arthropoden sein könnte, durch die jüngste Veröffentlichung der Expressionsmuster von *Delta* im Centipeden *Lithobius atkinsoni* (Kadner und Stollewerk, 2004).

### 1.8 Ziele der Arbeit

Wie bereits zuvor angedeutet, lagen zu Beginn dieser Arbeit kaum Daten zur Expression und Funktion von Segmentierungsgenen in einem Myriapoden vor. Daher lag es nahe, die Segmentierung eines solchen mittels der Expressionsprofile verschiedener relevanter Gen-Orthologe zu untersuchen. Neben diesen Expressionsanalysen sollten nach Möglichkeit auch funktionelle Studien (z.B. RNA-Interferenz) durchgeführt werden. Wenngleich ersteres möglich gemacht werden konnte, gestaltete es sich im Fall der funktionellen Studien weniger einfach (siehe Material/Methoden).

Die Ergebnisse sollten in erster Linie darlegen, in wie weit Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen der Segmentierung von Insekten und hier insbesondere von *Drosophila melanogaster*, und der von *Glomeris* als Vertreter der Myriapoden, bestehen.

Dies sollte dazu beitragen, den ursprünglichen Segmentierungs-Mechanismus der Arthropoden aufzuklären, was nur möglich ist, wenn Informationen aus vielen

## **Kapitel 1: Einleitung**

---

unterschiedlichen Vertretern der Arthropoden zur Verfügung stehen. Eine gesicherte Datenlage hinsichtlich der Segmentierung aber ist unerlässlich, denn so lange nicht klar ist, wie der ursprüngliche Segmentierungsmodus der Arthropoden ausgesehen hat, ist es auch nicht möglich, einen umfassenden Vergleich zu den Segmentierungsprozessen in anderen Organismen außerhalb der Arthropoden durchzuführen. Der Vergleich der Segmentierungsmechanismen in Vertebraten, Anneliden und Arthropoden aber kann eventuell Aufschluss darüber geben, ob die Segmentierung auf einem gemeinsamen ursprünglichen Prinzip beruht oder unabhängig voneinander entstanden ist.

Um einen möglichst umfassenden Eindruck zu erlangen sollten genetische Faktoren aller Ebenen der aus *Drosophila* bekannten Segmentierungskaskade untersucht werden.

Dabei sollte das Augenmerk nicht allein auf der Segmentierung des Rumpfs liegen, sondern auch die besondere Stellung des Arthropodenkopfs berücksichtigt werden, der vielfach einen anderen morphologischen Ursprung hat als der Rumpf bzw. durch andere molekulare Faktoren segmentiert wird (Davis und Patel, 2002).

Durch die Entdeckung der *Notch*-Signalkaskade als Bestandteil des ursprünglichen Segmentierungssystems in Arthropoden (Stollewerk et al., 2003) war es außerdem nötig, zu überprüfen, ob dieses auf die basale Gruppe der Cheliceraten beschränkt ist, oder ob die *Notch*-Signalkaskade auch in den Myriapoden in die Segmentbildung involviert ist.

Letztendlich galt es zu überprüfen, ob die Bildung der für Diplopoden namensgebenden Diplosegmente mit Hilfe molekularer Daten zu erklären ist und ob diese mit dem aus *Drosophila* bekannten Paarregelmechanismus in Verbindung stehen könnten.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Bakterien und Plasmide

Zur Klonierung wurden elektro-kompetente *Escherichia coli* TOP 10 Zellen von Invitrogen benutzt. Die Plasmide pPCR-Script Amp SK(+) und pBlue-Script-KS von Stratagene wurde als Klonierungsvektoren verwendet.

### 2.2 Primer

| Name      | Nukleotid-Sequenz               | Protein-Sequenz |
|-----------|---------------------------------|-----------------|
| 82 (tll)  | TGN ACN GCR TCY TTR TTC AT      | MNKDAVQ         |
| 83 (tll)  | GGN CCN CKY TCR TGY TG          | QHERGP          |
| 84 (tll)  | GAY ATH CCY TGY AAR GTN TG      | DIPCKVC         |
| 132 (eve) | GCN TTY ACN MGN GAR CA          | AFTREQ          |
| 133 (eve) | YTG NCK YTT RTC YTT CAT         | MKDKRQ          |
| 134 (eve) | TTY TGR AAC CAN ACY TTD AT      | IKVWFQ          |
| 142 (hh)  | TGY GGN CCN GGN MGN GG          | CGPGRG          |
| 143 (hh)  | ACC CAR TCR AAN CCN GCY TC      | EAGFDWV         |
| 144 (hh)  | GCN ARN CKN GCN ARC ATN CC      | GMLARLA         |
| 150 (ci)  | GAR ACN AAY TGY CAY TGG         | ETNCHW          |
| 172 (Kr)  | GGN TAY AAR CAY GTN YTN CA      | GYKHLQ          |
| 173 (Kr)  | CAR AAY CAY GAR MGN ACN CA      | QNHERTH         |
| 175 (Kr)  | GCY TTN ARY TGR TTN SWR TC      | DSNQLKA         |
| 190 (prd) | CCA NAC YTG RTA NCK NGC YTC NGT | TEARIQVW        |
| 191 (hh)  | GTN ATG AAY SAR TGG CCN GG      | VMN (E/Q)WPG    |
| 203 (h)   | TGN AAR TGY TTN ACN GTC ATY TC  | EMTVKHLQ        |
| 204 (h)   | AAR CCN ATH ATG GAR AAR MGN MG  | KPIMEKRR        |
| 228 (otd) | AAR CAR MGN MGN GAR MGN ACN AC  | KQRRERTT        |

## Kapitel 2: Material und Methoden

|             |                                    |               |
|-------------|------------------------------------|---------------|
| 229 (otd)   | TTY ACN MGN GCN CAR YTN GAY GT     | F'TRAQLDV     |
| 230 (otd)   | TTN GCN CKN CKR TTY TTR AAC CA     | WFKNRRAK      |
| 231 (cad)   | WSN CCN TAY GAR TGG ATN AA         | SPYEW(I/M)K   |
| 232 (cad)   | AAR ACN MGN ACN AAR GAY AAR TA     | KTRTKDKY      |
| 268 (lab)   | YTN NGT YTC RTT XAR YTG            | QLNETQ        |
| 269 (lab)   | GGN MGN ACN AAY TTY AC             | GRTNFT        |
| 279 (Scr)   | GTN AAY GCN AAY GGN GAR ACN AA     | VNANGETK      |
| 280 (Scr)   | GAR ACN AAR MGN CAR MGN AC         | ETKRQRT       |
| 281 (Scr)   | ATY TTR TGY TCY TTY TTC CA         | WKKEHK(M/I)   |
| 293 (ftz)   | GGN CCN AAR MGN ACN MGN CA         | GPKRTRQ       |
| 301 (ems)   | YTN GAR CAY GCN TTY GA             | LEHAFE        |
| 302 (ems)   | CCA NAC YTT NAC YTG NGT            | TQVKVW        |
| 303 (btd)   | TGY ACN TGY CCN AAY TG             | CTCPNC        |
| 304 (btd)   | AAR CAR CAY ATH TGY CAY AT         | KQHICHI       |
| 305 (btd)   | TGN GTY TTN RTR TGY TT             | KH(K/I)KTH    |
| 310 (col)   | GCN CAY TTY GAR AAR CAR CC         | AHFEKQP       |
| 311 (col)   | TTR TTR TGN ACR AAC ATR TTR TC     | DNMFVHNN      |
| 312 (col)   | GAT RTC NCK NGG RTT NCC NGC        | AGNPRDM       |
| 373 (col)   | GCN GGN CAR CCN RTN GAR ATH GA     | AGQP(I/V)EIE  |
| 1282 (abdA) | GCY TGY TCR TTD ATY TCY TTN AC     | VKEINEQA      |
| 1347 (h)    | GTY WTY TCN ARD ATR TCN GCY TTY TC | EKADILE(M/K)T |
| 1481 (hb)   | AAR CAY CAY YTN GAR TAY CA         | KHHLEYH       |
| 1482 (hb)   | AAV CAY TTY GGN WSN AAR CC         | NHFGSKP       |
| 1483 (hb)   | RTG RCA RTA YTT NGT NGC RTA        | YATKYCH       |
| 1519 (HOX)  | GAR YTI GAR AAR GAR TT             | ELEKEF        |
| 1520 (HOX)  | CAT ICK ICK RTT YTG RAA CCA        | WFQNR RM      |
| 1521 (HOX)  | GGA TTC TAY CCI TGG ATG            | GFYPWM        |
| 1522 (HOX)  | RTT YTG RAA CCA IAY YTT            | KIWFQ N       |
| 1567 (ci)   | CCR TGN ACN GTY TTN ACR TG         | HVKTVHG       |
| 1605 (wg)   | CAY AAY AAY GAR GCN GG             | HNNEAG        |
| 1606 (wg)   | GAR TGY AAR TGY CAY GG             | ECKCHG        |

## Kapitel 2: Material und Methoden

---

|            |                                     |                   |
|------------|-------------------------------------|-------------------|
| 1607 (wg)  | CAT NAR RTC RCA NCC RTC             | DGCDLM            |
| odd-fw     | AAR AAR SAR TTY ATH TGY AAR TWY TGY | KK(E/Q)FICK(Y/F)C |
| odd-bw     | TGN GTY TTN ARR TTN GMN CKY TGR TTR | FNQR(S/A)NLKTH    |
| run-fw     | TGY WSN GYN YTN CCN AMN CAY TGG MG  | CS(V/A)LP(T/N)HWR |
| run-bw-ext | CKN GGY TCN CKN GGN CCR TCN AC      | VDGPREPR          |
| run-bw-int | GNC CRT CNA CNG TNA YRT TDA TNG C   | AIK(I/V)TVDGP     |
| opa-fw     | GTN GAR CAY GTN GGN GGN CCN GA      | VEHVGPE           |
| opa-bw-ext | GGR TGN GTR TAN SWY TTR TCR CA      | CDKSYTHP          |
| opa-bw-int | TAN GGY TTR TCN SWN GTR TGN AC      | VHTSDKPY          |
| slp-fw     | AAR CCN CCN TWY WSN TAY AAY GC      | KPP(Y/F)SYNA      |
| slp-bw     | TTN CCN GTN GTN CCN CCD ATR AA      | FIGGTTGK          |
| pby-fw-1   | CAR YTN GGN GGN GTN TTY ATH AAY GG  | QLGGVFING         |
| pby-bw1    | ACC ANA CTY GDA TNC KNG CYT TCN GT  | TEARIQVW          |
| pby-bw2    | YTC NCK NGT RTA DAT RTC NGG RTA     | YPDIYTRE          |

### 2.3 Die Versuchstiere: Beschaffung und Haltung

#### 2.31 Der Saftkugler *Glomeris marginata* (Villers 1780); (Abb. 2.1A)

Adulte Saftkugler wurden in den Monaten Februar bis Juli der Jahre 2002-2004 in einem Buchenwald nahe der deutsch-niederländischen Grenze in Kleve und im Kölner Stadtwald gesammelt. Unter geeigneten Bedingungen ist die Individuendichte von *Glomeris* recht groß, sodass etwa 50 Tiere pro Quadratmeter gefunden werden konnten. Allerdings ist die Suche auf Grund der geringen Grösse und der Tarnung recht beschwerlich. Adulte Exemplare erreichen eine Körpergrösse von bis zu 2 cm. Die Weibchen sind deutlich größer als die Männchen, die nur etwa halb so groß werden (Abb. 2.1A). Die Eiablagezeit von *Glomeris* ist witterungsbedingt. Mit steigenden Temperaturen beginnt sie meist im März und endet im Juli. Die Legeperiode konnte künstlich verlängert werden, indem bereits im Februar adulte Exemplare gesammelt und bei Raumtemperatur gehalten wurden. Die erhöhte Temperatur führte dazu, dass sich die Tiere paarten und wenig später mit der Eiablage begannen. Ebenso konnten im Juli trotz hoher Außentemperaturen noch frisch

## Kapitel 2: Material und Methoden

---

gelegte Eier erhalten werden, wenn man zuvor gefangene Tiere im Kühlraum (bei 4 °C) hielt. Bei diesen Temperaturen zeigten sie wenig Aktivität und legten kaum Eier, was sich sofort änderte, wenn man sie in eine Umgebung höherer Temperatur brachte. Leider ließ sich die Periode der Eiablage aber nicht beliebig lange hinauszögern, da die Tiere in Gefangenschaft schnell „lethargisch“ wurden und schliesslich eingingen. Daher wurden die gefangenen Tiere nach spätestens einem Monat der Gefangenschaft wieder in ihren natürlichen Lebensraum entlassen.

Die Eier werden einzeln in Kämmerchen abgelegt, die die Weibchen aus verdaulichem Erdreich und Sekreten herstellen. Mehrere solcher Erdkämmerchen können dabei zu grösseren „Erdklumpchen“ verbunden werden. Bei der Haltung ist deshalb darauf zu achten, dass neben ausreichender Nahrung auch Erdreich für den Bau der Eikammern zur Verfügung steht. Im Mangelfall behelfen sich die Weibchen mit verdaulichem Laub an Stelle von Erde. Das Futter der Saftkugler stellt ausschliesslich vermoderndes Laub dar. Bevorzugt wird Laub von Kastanien und Buchen.

### 2.3.2 Die Kammspinne *Cupiennius salei* (Keyserling 1877); (Abb. 2.1B)

Auf Grund ihrer räuberischen und kannibalischen Lebensweise werden Spinnen einzeln in Glas- oder Plastikbehältern (Volumen richtet sich nach Größe der Spinne) gehalten. Gefüttert werden sie mit Hausgrillen (*Acheta domesticus*). An die Wände der Behälter wurde in regelmäßigen Abständen Wasser gespritzt, das die Tiere aufnahmen. Der Boden der Gefäße war mit Erde belegt, die andauernd feucht gehalten wurde, um eine für diese Spinnen angenehme Luftfeuchtigkeit von etwa 80 % zu gewährleisten. Die in dieser Arbeit verwendeten Embryos von *Cupiennius salei* entstammen alle der von Wim Damen in Köln etablierten Zucht.

### 2.3.3 Die Hausspinne *Tegenaria atrica* (Koch 1843); (Abb. 2.1C)

Spinnen dieser Art wurden von mir im Garten- und Kellerbereich des Instituts für Genetik an der Universität zu Köln als Jungtiere gefangen und einzeln in Gläsern (Volumen etwa

500 ml) gehalten. Zur Stabilisierung des Mikroklimas in den Aufbewahrungsbehältern wurde dessen Grund mit ungedüngter Blumenerde bedeckt und von Zeit zu Zeit befeuchtet. Gefüttert wurde *Tegenaria* mit jungen Hausgrillen (*Acheta domesticus*). Regelmäßig wurde Wasser in das Netz gegeben, welches die Spinnen aufnahmen.

### 2.4 Molekularbiologische Methoden

Sofern nicht ausdrücklich erwähnt, wurden molekularbiologische Arbeiten nach den geläufigen Standardprotokollen durchgeführt (Sambrook et al., 1989; Sambrook und Russell, 2001). Ebenso verhält es sich für die Herstellung und Nutzung von Puffern und Lösungen (Sambrook et al., 1989; Sambrook und Russell, 2001).

#### 2.4.1 RNA-Isolation und cDNA-Synthese

Im Fall des Saftkuglers *Glomeris marginata*, der Kammspinne *Cupiennius salei* und der Hausspinne *Tegenaria atrica* wurden ganze Embryos verschiedener Entwicklungsstadien zur Isolation von Gesamt-RNA herangezogen. Dies geschah unter Zuhilfenahme von Trizol Reagent (Invitrogen) nach den Angaben des Herstellers.

Um spezifisch cDNA aus der Gesamt-RNA zu isolieren und den Reinheitsgehalt der RNA zu erhöhen, wurde im Fall des Saftkuglers Poly-A RNA von der Gesamt-RNA getrennt. Dies geschah mittels magnetischer Poly-T Sonden. Die Durchführung dieses Schrittes erfolgte nach den Angaben des Herstellers. Verwendet wurde das PolyAtract mRNA Isolation Systems III (Promega). Mittels einer Reversen Transkriptase (Invitrogen; SuperScript II Synthesis Kit) wurde die RNA bzw. mRNA anschließend nach den Angaben des Herstellers in cDNA umgeschrieben.

Adaptorligierte cDNA zur Durchführung der RACE PCR wurde im Fall des Saftkuglers von Hilary Dove zur Verfügung gestellt. Die bei Experimenten mit *Cupiennius* verwendete RACE cDNA wurde von Wim Damen zur Verfügung gestellt.

## **Kapitel 2: Material und Methoden**

---

### 2.4.1 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Durchführung erfolgte weitgehend nach den Standardmethoden (Sambrook und Russell, 2001) unter Verwendung vollautomatischer Thermocycler (Eppendorf).

Ein Standardzyklus umfaßte ein zweiminütiges Schmelzen der cDNA bei 94 °C, sowie eine Annealing-Phase bei einer an die verwendeten Primer angepassten Temperatur. Diese errechnete sich nach der 2+4 -Methode, wobei für jedes Adenin bzw. Thymin in der Primer-Sequenz 2 °C und für jedes Guanin bzw. Cytidin 4 °C berechnet werden. Bemessensgrundlage für die Kalkulation der Annealing-Temperatur war dabei der Primer mit der niedrigsten Schmelztemperatur. Das Annealing wurde bei einer Temperatur durchgeführt, die standardmäßig 2 °C unter der ermittelten Schmelztemperatur lag. In Fällen, in denen die Annealing-Temperatur des 5'-Primers sehr viel höher lag als die des 3'-Primers wurden zunächst einige Zyklen (3-6) durchgeführt, die allein das spezifische Binden des 5'-Primers ermöglichten. Das sollte die Amplifikation spezifischer DNA-Abschnitte vor der eigentlichen PCR fördern. Um mögliche unspezifische Effekte des 3'-Primers zu vermeiden, wurde dieser erst nach dieser Prä-Amplifikation zugegeben. Danach erfolgte die PCR nach den Parametern für den Primer mit niedrigerer Annealing-Temperatur. Die Elongationszeit richtete sich nach der Länge des zu amplifizierenden Fragments. Als Faustregel galt hierbei: Eine Minute Elongation pro 1000 Basen (1kb). Insgesamt wurden 30-35 Zyklen durchlaufen.

Die RACE PCR wurde nach den Angaben des Herstellers (Clontech) durchgeführt. Für die Wahl geeigneter genspezifischer Primer wurde das Programm Oligo 4.05 Primer Analysis Software benutzt.

### 2.4.3 Kombinationssystem zur cDNA Synthese mit direkt daran anschließender PCR

Zum Nachweis der Transkription eines Gens wird häufig die RT-PCR angewendet. Das Titan One Tube RT-PCR System (Roche) ermöglicht es, die cDNA Synthese und die nachfolgende PCR in einem Schritt ablaufen zu lassen. Als Matritze für die PCR dient hierbei RNA oder mRNA, die in einem ersten, der eigentlichen PCR Reaktion

## **Kapitel 2: Material und Methoden**

---

vorangehenden Schritt durch die Tätigkeit einer Reversen Transkriptase in cDNA umgeschrieben wird. Die Durchführung dieses Versuchs erfolgte nach den Angaben des Herstellers (Roche).

### 2.4.4 Klonieren der DNA-Fragmente in *Escherichia* TOP 10 Zellen

Vor der Ligation der DNA-Fragmente aus vorangegangenen PCR Experimenten mussten diese von durch die Polymerase angehängten Adenin-Überhängen befreit und phosphoryliert werden. Dies geschah mittels der T4 DNA Polymerase (Roche) und der Polynukleotidkinase (Roche). Dazu wurde der PCR-Ansatz mit 1:10 dNTPs (jeweils 2 mM; Pharmacia) und 1:10 5 x T4 DNA Polymerase Puffer (Roche) sowie 0,5 U T4 DNA Polymerase versetzt und 20 Minuten bei 12 °C inkubiert. Anschließend wurden PNK Puffer (Roche) im Verhältnis 1:10 und ATP (10 mM; Roche) im Verhältnis 1:50, sowie 0.5 U Polynukleotidkinase zugegeben. Dieser Ansatz inkubierte 30 Minuten bei 16 °C. Um die DNA Fragmente dann von Enzymen und Puffern zu befreien, wurden sie mittels eines Agarosegels (1%) aufgetrennt und die Bande des Interesses wurde ausgeschnitten. Die Eluation der DNA aus dem Agarosegel erfolgte mittels des MinElute Gel Extraction Kits (Qiagen). 9 µl des Eluats wurden mit 1 µl Vektor, 2 µl 10 x Ligationspuffer (Roche), 7 µl destilliertem Wasser und 1U T4 DNA Ligase (Roche) bei 12 °C inkubiert. Die Inkubationszeit betrug mindestens 4 Stunden. *E. coli* Top 10 Zellen wurden mit 1 µl des Ligationsansatzes mittels eines Elektroporators (BioRad) transformiert und nach einstündiger Inkubationsphase in einem angereicherten Nährmedium auf selektive Agarplatten aufgetragen. Positive Kolonien wurden in flüssiges Medium überführt und über Nacht inkubiert. Aus diesen wurden anschließend die Plasmide mittels des TELT Protokolls isoliert. Abschließend wurden die isolierten Plasmide über Sephadex-G50-Säulchen (Amersham) gereinigt.

### 2.4.5 Enzymatische Sequenzierung

Zur Bestimmung der Basenfolge der klonierten DNA Fragmente wurden automatisierte Sequenzer (ABI 377XL und ABI 3100) benutzt. Zuvor musste ein „Cycle-Sequencing“

durchgeführt werden. Diese Reaktion erfolgte mittels des BigDye Mixes weitgehend nach den Angaben des Herstellers (Perkin Elmer). Verwendete Primer waren M13 oder M13rev. Die Annealingtemperatur war an diese angepasst und betrug 40 °C. Es stellte sich heraus, dass 1  $\mu$ l Big Dye Mix für die Reaktion ausreichend war.

### 2.4.6 In-vitro Transkription

Über in-vitro Transkription wurden RNA Sonden (anti-sense) für die in situ Hybridisierung hergestellt. Dies geschah mittels geeigneter RNA Polymerasen (T3- oder T7-RNA Polymerase; Roche). Unabhängig von der Konzentration des entsprechenden PCR-Produkts, das als Matritze diente, wurden 6  $\mu$ l davon für die Reaktion eingesetzt. Das Gesamtvolumen von 10  $\mu$ l erreicht man durch Zugabe von 1  $\mu$ l 10 x Transkriptionspuffer (Roche), 1  $\mu$ l Labeling Mix (Roche; Digoxigenin oder Fluorescin), 1  $\mu$ l RNase Inhibitor (Roche) und 1  $\mu$ l RNA Polymerase. Die transkribierte RNA wurde mit Ammoniumacetat in Ethanol. Anschließend wurde sie in Wasser oder TE-Puffer aufgenommen.

Ebenfalls mittels der in-vitro Transkription wurde doppelsträngige RNA für RNA-Interferenzversuche hergestellt. Dazu wurden im Gegensatz zur Sondenherstellung beide Polymerasen gleichzeitig eingesetzt. Dadurch kam es zu einer zeitgleichen Transkription von „sense“ und „anti-sense“ RNA. Nach erfolgter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch auf 65 °C erhitzt und bei Raumtemperatur abgekühlt. Dabei hybridisierten „sense“ und „anti-sense“ Einzelstrang RNA zu doppelsträngiger RNA. Wie einzelsträngige RNA wurde auch die doppelsträngige RNA mit Ammoniumacetat in Ethanol gefällt und mit Phenol/Chloroform gereinigt.

### 2.5 Embryologische Methoden

#### 2.5.1 Fixierung der Embryos

##### 2.5.1.1 *Cupiennius salei* und *Tegenaria atrica*

Die Embryos der Spinne *Cupiennius salei* waren leicht zu erhalten. Die weiblichen Spinnen produzieren etwa 10 Tage nach der Begattung einen Kokon, der bis zu 1000 Eier beinhalten kann. Nach kurzzeitiger Betäubung des Muttertiers mit CO<sub>2</sub> konnte man diesem den Kokon wegnehmen und die Eier entnehmen. Wurden nicht alle Eier gebraucht, oder stellte sich heraus, dass das gewünschte Entwicklungsstadium noch nicht erreicht war, konnte man die Eier sich weiter entwickeln lassen. Dies geschah entweder in geeigneten Gefäßen, oder der Kokon wurde mit Klebeband verschlossen und wieder der Obhut der Mutterspinne anvertraut. Da sich die Eier eines Kokons fast gleichmäßig schnell entwickeln, war es kein Problem, große Mengen der gleichen Embryonalstadien zu erlangen. Zur Entfernung des Chorions wurden die Eier 4 Minuten mit 50% DanKlorix (Colgate/Palmolive) behandelt. Anschließend konnten sie fixiert werden. Dies geschah über Nacht in 10 ml Heptan und 200 µl Formaldehyd (37%). Nach der Fixierung wurden die Embryos mit Methanol behandelt, was vielfach zum Aufplatzen der Vitellinmembran führte. Letztendlich musste diese dann mit Pinzetten entfernt werden.

Im Fall der Hausspinne *Tegenaria atrica* wurde genauso verfahren, bis auf den Unterschied, dass man hier die Muttertiere auf Grund ihrer geringeren Größe nicht betäuben musste, um an den Kokon zu gelangen. Der Kokon wird in das Gespinst eingebaut und von der Mutter bewacht. Er enthält in der Regel etwa 30 Eier.

##### 2.5.1.2 *Glomeris marginata*

Weibliche Saftkugler (*Glomeris marginata*) legen ihre Eier einzeln in selber angefertigten Erdkammerchen ab. Diese mussten täglich abgesammelt und getrennt von den Weibchen aufbewahrt werden, um Eier verschiedener Stadien (verschiedenen Alters) getrennt von einander zu erhalten. Wie sich heraus stellte, konnten Eier bis zu einem Alter von etwa sechs

## Kapitel 2: Material und Methoden

---

Tagen (Entwicklung bei Raumtemperatur, 22-24 °C) nicht dechorionisiert werden, ohne sie vollständig zu zerstören. Ohne Entfernung des Chorions aber ist ein Fixieren mit Formaldehyd/Heptan nicht möglich. Erst mit Bildung der Embryonalmembran (Vitellinmembran) kann das Chorion entfernt werden. Da diese Membran erst im Blastodermstadium gebildet wird, entspricht das jüngste für die in situ Hybridisierung zur Verfügung stehende Entwicklungsstadium dem Blastodermstadium. Versuche, jüngere Embryos mittels Hitzebehandlung zu fixieren, schlugen genauso fehl, wie eine Reihe hier nicht aufgezählter Versuche, das Chorion schonender zu entfernen. Im Gegensatz zur Spinne erfolgte das Entfernen des Chorions in Embryos mit funktionsfähiger Vitellinmembran in 100% statt in 50% DanKlorix für 3-4 Minuten. Fixiert wurde in einem 1:10 Formaldehyd/Heptangemisch für etwa 4 Stunden. Zu langes Fixieren führt zur Anlagerung von Formaldehydkügelchen an die Embryos, was eine spätere in situ behindern kann. Nach dem Fixieren wurden die Embryos in Methanol geschockt. Wie bei den Spinnen führte dies vielfach zum Aufreißen der Vitellinmembran.

### 2.5.2 Fixierung von Ovarien aus *Glomeris marginata*

Im Ovar von *Glomeris marginata* finden sich Oozyten aller Entwicklungsstadien sowie reife Oozyten. Im Gegensatz zu ersteren, die mit dem Ovar in Kontakt stehen, liegen letztere frei im Ovar. Bevor den weiblichen Saftkuglern das Ovar entnommen wurde, wurden diese in CO<sub>2</sub> oder auf Eis betäubt. Um einen schnellen Tod zu gewährleisten wurde ihnen nach erfolgter Betäubung der Kopf abgetrennt. Zu beiden Seiten der Tergite wurde dann das Gewebe mit einer kleinen Schere eingeschnitten und der gesamte Bauchraum umgeklappt, sodass das längliche Ovar (Abb. 2.2) frei lag. Dies wurde dann entnommen, in 1:10 Formaldehyd/Heptan für 4-8 Stunden fixiert und in Methanol überführt. Ein Entfernen des Chorions ist in diesem Fall nicht nötig gewesen, da dieses noch nicht vollkommen ausgebildet ist.

### 2.5.3 In situ Hybridisierung an ganzen Embryos und Ovarien

Die in situ Hybridisierung an ganzen Embryos (whole mount) von *Cupiennius salei* erfolgte nach dem etablierten Protokoll (Damen und Tautz, 1998 und 1999). Nach eben diesem Protokoll wurden auch die in situ Experimente an der Hausspinne *Tegenaria* erfolgreich durchgeführt (nicht gezeigt).

Embryos von *Glomeris marginata* wurden schrittweise von Methanol in PBST überführt und anschließend 20 Minuten in 4% Formaldehyd nachfixiert und wieder mit PBST gewaschen. Statt einer Behandlung mit Proteinase K, wie es gewöhnlich für Spinnen der Fall ist, wurden die *Glomeris* Embryos mit Essigsäure-Anhydrid behandelt. Dazu wurden sie zunächst schrittweise in destilliertes Wasser überführt und anschließend in 1ml 0.1 M TEA-Puffer pH=8.0 (Sigma) und 2,5  $\mu$ l Essigsäure-Anhydrid für 20 Minuten inkubiert. Nach mehrmaligem Waschen in PBST wurden die Embryos in Hyb-B pH=6,5 (50% Formamid, 5 x SSC pH=5,2, 0,1% Tween-20 in Wasser) für mindestens 3 Stunden bei 64 °C im Wasserbad vorhybridisiert. Anschließend wurden sie in Hyb-A pH=6,5 (50% Formamid, 5 x SSC, 200  $\mu$ g/ml Lachs-DNA (Sigma), 5  $\mu$ g/ml tRNA (Sigma), 50  $\mu$ g/ml Heparin (vom Schwein; Sigma), 0.1% Tween-20 in Wasser) über Nacht inkubiert. Dann wurden sie schrittweise bei 65 °C (im Wasserbad) in 2 x SSC pH=5 überführt und in 0,2 x SSC pH=5 gewaschen. Anschließend wurden sie schrittweise bei Raumtemperatur in PBST überführt und in Blocklösung (2 % Schafserum in PBST) für mindestens 2 Stunden inkubiert. Die Antikörperbehandlung mit Schaf-anti-Digoxigenin (Roche) erfolgte über Nacht im Verhältnis 1:2000 (in 2% Schafserum in PBST). Abschließend folgten mehrere Waschschrte in PBST für insgesamt mindestens 4 Stunden. Dann erfolgte die Farbreaktion mit NBT/BCIP (Roche) als Substrat zur Detektion der eingesetzten Sonden.

Wie hier beschrieben, wurde auch die in situ für die Ovarien von *Glomeris* durchgeführt. Dazu wurden die Ovarien allerdings vorher mit Hilfe von Pinzetten „geöffnet“, sodass die Oozyten für die Lösungen besser zugänglich waren (Abb. 2.2).

Alle verwendeten in situ Protokolle basieren auf dem Protokoll von Tautz und Pfeifle (1989).

### 2.5.4 Interferenz durch Injektion von dsRNA in *Glomeris marginata* (RNAi)

Die Injektion doppelsträngiger RNA bietet eine elegante Möglichkeit, gezielt die Aktivität bestimmter Gene auszuschalten, oder wenigstens zu reduzieren. Nach Injektion doppelsträngiger RNA reagiert ein endogenes antivirales System mit dem Abbau der dsRNA (z.B. Hannon, 2002; Tijsterman und Plasterk, 2004). Gleichzeitig wird von diesem System aber auch entsprechende einzelsträngige RNA als viral erkannt und abgebaut. Dadurch kommt es zu einem Herabsetzen der Konzentration betroffener Transkripte. Wie sich in den letzten Jahren herausstellte, funktioniert diese Methode bei so unterschiedlichen Organismen wie den Arthropoden *Drosophila*, *Tribolium*, *Cupiennius* oder wie dem Nematoden *Caenorhabditis* (z.B. Hannon, 2002; Schröder, 2003; Schoppmeier und Damen, 2001; Fire et al., 1998). Interessanterweise funktioniert diese Methode aber nicht immer. Dies mag am System selber liegen oder an der Applikationsfähigkeit der dsRNA. Mittlerweile wird in manchen Organismen dsRNA nicht allein in das befruchtete Ei oder den Embryo eingebracht, sondern auch in Adulti oder Larven. Dies bezeichnet man dann als parentale RNAi (RNA Interferenz) (z.B. Bucher et al., 2002).

Versuche in *Glomeris* verliefen äußerst entmutigend. Jüngste Entwicklungsstadien (1-6 Tage) konnten zwar injiziert werden, entwickelten sich jedoch nicht weiter. Junge Stadien mit intakter Vitellinmembran konnten ebenfalls injiziert werden. Der Innendruck im Ei ist jedoch so hoch, dass bei Penetration der Vitellinmembran ein Teil des Dotters/Embryos austritt. So beschädigte Embryos entwickelten sich nicht weiter. Ein weiteres Problem ist, dass es keinen Perivitellinraum zwischen Embryo und Vitellinmembran gibt. Daher führt jede Penetration der Vitellinmembran zu einer Beschädigung des Dotters. Ein geeigneter „Injektionsraum“ im Ei zeigt sich erst nach Auswachsen der Extremitäten (ab etwa 8-9 Tage Entwicklung bei RT). Aber selbst dann kommt es noch zu Beschädigungen der Embryos, wenn man die dsRNA mit Druck in die Embryos spritzt. Die Nadel für die Injektion muss folglich so gewählt werden, dass die dsRNA ohne zusätzlichen Druck nach der Penetration aus der Nadel läuft. Effekte der dsRNA in so behandelten älteren Embryos waren nicht festzustellen. Dies mag daran liegen, dass keine dsRNA zu diesem späten Entwicklungszeitpunkt von den embryonalen Zellen aufgenommen wird.

## **Kapitel 2: Material und Methoden**

---

Versuche, die dsRNA über Diffusion passiv in die Eier eindringen zu lassen, schlugen auch fehl, da die Vitellinmembran höchst wahrscheinlich undurchlässig für dsRNA ist. Versuche mit BrdU zeigten, dass auch dieses nicht passiv durch die Membran dringen kann.

Die Injektion von dsRNA in adulte Weibchen wurde ebenfalls versucht. Eier, die diese Weibchen daraufhin legten, entwickelten sich ohne Effekte. Eine Injektion in Larven hat wegen der langen Generationszeit von mindestens einem Jahr keine Aussicht auf Erfolg, und wurde deshalb nicht versucht.

### 2.6 Zellbiologische Methoden

#### 2.6.1 BrdU Injektionen

Zum Nachweis von Zellteilungen wurde das modifizierte Nukleotid Brom-Uracil (BrdU) eingesetzt. Dieses wird an Stelle eines normalen Thymins während der Replikation in die DNA replizierender Zellen eingebaut. Durch einen Antikörper gegen BrdU lassen sich dann solche Zellen detektieren, die sich während einer bestimmten Inkubationszeit nach BrdU Injektion geteilt haben. Zum Einsatz kam das BrdU Labeling Kit von Roche.

Wie dsRNA muss auch BrdU-Reagenz in lebende Embryos injiziert werden. Da es nicht möglich war, jüngste und junge Embryos nach der Injektion am Leben zu erhalten (siehe Kap. 2.5.4.), konnten nur Embryos späterer Entwicklungsstadien mit BrdU behandelt werden. Die BrdU-Lösung wurde in den Raum zwischen Extremitäten und Vitellinmembran in Embryos der Stadien 3-5 injiziert, wobei die Nadel so gewählt war, dass die Lösung ohne zusätzlichen Druck in die Embryos ausfließen konnte. Die Injektionen fanden unter Wasser statt, um ein Austrocknen der von den Erdkammerchen befreiten Eier zu verhindern. Die Inkubationszeit betrug 30 Minuten bis eine Stunde bei Raumtemperatur. Danach wurden die Embryos fixiert, in Methanol aufgenommen und von der Vitellinmembran befreit. Anschließend wurden sie in PBS-Triton überführt, für eine Stunde mit 2 N HCl behandelt, wieder mehrfach mit PBS-Triton gewaschen, und in Incubation Buffer (Roche) aufgenommen. Anschließend folgte eine einstündige Inkubation in 1:10 Anti-BrdU-Solution (Roche) in Incubation Buffer. Danach wurde mehrfach gewaschen (über Nacht). Der Sekundärantikörper (anti-Maus-AP; Roche) wurde ebenfalls in einer Konzentration von 1:10

## **Kapitel 2: Material und Methoden**

---

eingesetzt. Es folgten intensive Waschschritte mit PBS-Triton, um überschüssigen Sekundärantikörper zu entfernen. Schlussendlich wurde die Farbreaktion mit NBT/BCIP durchgeführt.

### 2.7 Ergebnisdokumentation

Alle in dieser Arbeit gezeigten ganzen Embryos von *Glomeris marginata* und *Cupiennius salei* wurden in Blockschälchen überführt und unter einem Binokular (Leica) mittels einer Präpariernadel so orientiert, dass sie fotografiert werden konnten (Axio Cam; Zeiss). Im Fall der Beinpräparate von *Cupiennius* wurden diese in Glycerin (100%) überführt, mit feinen Präpariernadeln orientiert und mit Splittern von Deckgläschen abgedeckt.

Die Fotos wurden unter Zuhilfenahme des Bildverarbeitungsprogramms Photoshop 5.5 von Adobe bearbeitet. Die Bearbeitung bestand im Retuschieren von Bildhintergründen, der Korrektur der Farb- und Helligkeitswerte und der Zusammenstellung der Einzelbilder zu Bildtafeln. Veränderungen an den Embryos oder der Färbung in Embryos wurden nicht vorgenommen.

### 2.8 Bioinformatik

#### 2.8.1 Alignments

Alignments von Aminosäuresequenzen wurden zur Untersuchung der Sequenzähnlichkeit auf der Basis der BLOSUM 62 Matrix (Henikoff und Henikoff, 1992) mit dem Programm BLAST (Altschul et al., 1997) durchgeführt (Parameter: gap opening penalty = 1; gap extension penalty = 1).

Alignments mehrerer Sequenzen wurden mit dem Programm CLUSTAL\_X (Thompson et al., 1997) auf der Grundlage der GONNET Matrix durchgeführt (Gonnet et al., 1992) (Parameter: gap opening penalty = 1; gap extension penalty = 0,2). Die so erstellten Alignments bildeten die Grundlage für die phylogenetischen Analysen.

## **Kapitel 2: Material und Methoden**

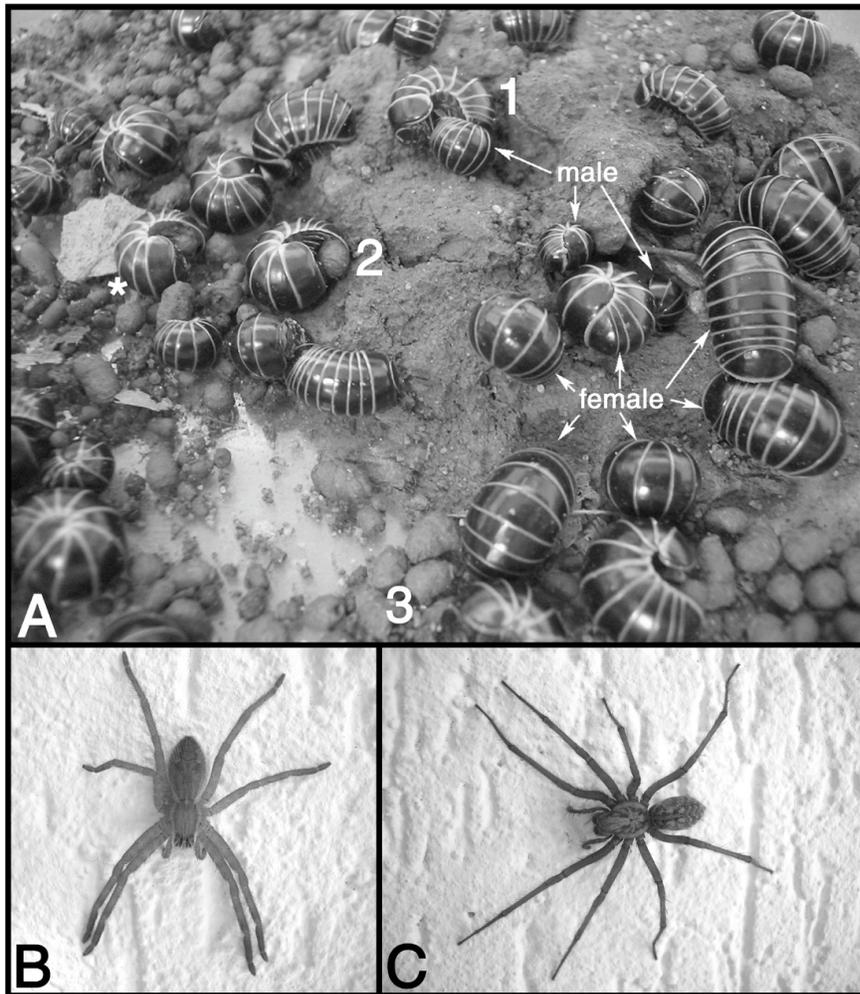
---

Ähnliche Alignments wurden mit dem Programm GENEJOCKEY II auf der Grundlage der PAM250 Matrix (gap penalty = 10) erstellt. Diese Alignments dienten als Datengrundlage für die Synthese von degenerierten Primern.

### 2.8.2 Phylogenetische Stammbäume

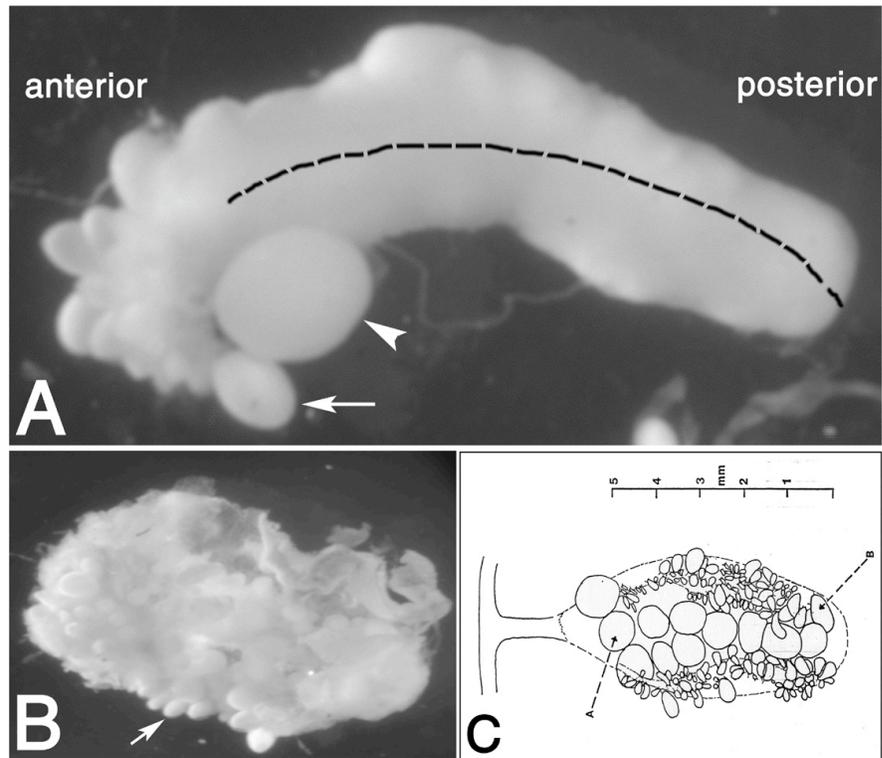
Um Sequenzen hinsichtlich ihres Verwandtschaftsgrades miteinander zu vergleichen wurden Maximum Likelihood Analysen nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) durchgeführt. Das Programm-Paket PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002) fand dabei Anwendung. Die errechneten Stammbäume, die in dieser Arbeit gezeigt werden, geben in allen Fällen ungewurzelte Konsensusphylogramme wieder, die aus 1000 Zwischenbäumen ermittelt wurden.

**Abb. 2.1 A** Adulti von *Glomeris marginata*. Das Foto zeigt Tiere bei der Paarung (1) und der Eiablage (2). Zwischen den Tieren liegen in Erdreich eingekapselte Eier (3). Der Stern markiert eine natürliche Farbmutante (braunes Weibchen) **B** Jungtier von *Cupiennius salei*. **C** Adultes Weibchen von *Tegenaria atrica*.



**Abb. 2.1**

**Abb. 2.2** Ovarien geschlechtsreifer Weibchen von *Glomeris marginata*. **A** Weitgehend komplettes Ovar. Am anterioren Teil ist das Ovidukt abgetrennt und das Ovar geöffnet. Reife Oozyten befinden sich im Inneren des Ovars. Diese sind nicht mehr mit dem Ovar verbunden (Pfeilkopf). Der Pfeil deutet auf eine unreife Oozyte, die noch mit dem Ovar verbunden ist. Entlang der antero-posterioren Achse wurden die Ovarien vor der in situ geöffnet (gestrichelte Linie). **B** Geöffnetes Ovar. Der Pfeil deutet auf eine unreife Oozyte, die mit dem Ovar verbunden ist. **C** Schematische Darstellung eines Ovars mit Ovidukt (links). Aus Heath et al., 1974. Reife Oozyten befinden sich im Inneren des Ovars (Pfeil (A)). Unreife Oozyten sind mit dem Gewebe des Ovars verbunden (Pfeil (B)).



**Abb. 2.2**



### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Dokumentation der Embryonalentwicklung: Unterteilung von Entwicklungsstadien mittels der Morphologie und molekularer Merkmale

Wenn man die Ontogenese eines Tieres molekularbiologisch untersuchen möchte, sollte der erste Schritt darin bestehen, sich einen Überblick über die verschiedenen zu unterscheidenden Entwicklungsstadien zu verschaffen. Die Embryonalentwicklung von *Glomeris* ist, wie bereits angedeutet, ausführlich auf der Basis rein morphologischer Methoden untersucht und beschrieben worden (Dohle, 1964; Dohle, 1974; Dohle, 1996). Trotzdem scheint mir eine Über- und Weiterbearbeitung hinsichtlich der Unterteilung ontogenetischer Stadien unter Zuhilfenahme molekularer Marker als sinnvoll, da wie sich herausstellen sollte, gerade bei der Unterscheidung junger Embryos die Einteilung nach Dohle doch recht grob ist. So werden hier lediglich zwei sehr junge Blastodermstadien beschrieben. Ersteres ist durch das Erscheinen der Keimstelle (Kumulus, cu) gekennzeichnet, die den posterioren Teil des Keimstreifens einnimmt. Im zweiten wird auf die morphologische Andeutung beginnender Segmentierung, was mit dem Erscheinen dichteren Gewebes einhergeht verwiesen. Ferner unterscheidet Dohle die embryonalen Gewebe in diesem Stadium: die Regio Germinalis, die Regio Dorsalis und die Wachstums- oder Proliferationszone. Die nachfolgende Entwicklung von der beginnenden Einschnürung der Segmente bis zur Bildung des letzten embryonalen Rumpfsegments und der allmählichen Einrollung des Embryos unterteilt Dohle in sechs Stadien (Stadium 1 – Stadium 6).

In Anlehnung an diese von Dohle beschriebenen Stadien habe ich eine weitere Untergliederung der Embryonalentwicklung vorgenommen, wobei die Stadien mit ganzzahliger Bezeichnung (1-6) weitgehend den von Dohle beschriebenen Stadien 1-6 entsprechen. Die hier vorgestellte Einteilung in verschiedene Stadien und die Beschreibung der damit einhergehenden morphologischen Charakteristika ist Grundlage aller in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen. Dabei sei darauf hingewiesen, dass die Betrachtung morphologischer Merkmale allein zu falschen Rückschlüssen hinsichtlich der Festlegung des Entwicklungsstadiums führen kann. Es kommt beispielsweise vor, dass zwei Embryos

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

zwar die gleiche Anzahl von Segmenten aufweisen, die links-rechts Kontraktion des Keimstreifens jedoch unterschiedlich weit vorangegangen ist. Ähnliche Entwicklungsunterschiede können sich beim Zeitpunkt der Invagination des End- und Vorderdarms erweisen. Es kann vorkommen, dass die Invagination z.B. des Enddarms in Embryos mit mehr Segmenten weniger weit fortgeschritten ist, als in solchen mit weniger Segmenten. Eine solche Asynchronität der embryonalen Entwicklung in *Glomeris* ist auch von Dohle (1964) erwähnt worden, der unter anderem berichtet, dass die Bildung der Gehirngruben und der Mundgrube meist, keinesfalls jedoch immer, zeitgleich verläuft.

Die gleichzeitige Beobachtung morphologischer Merkmale mittels der DAPI Kernfärbung und der Expression von *engrailed* als segmentalem Marker im Keimstreifen ermöglichte es, die Embryonalentwicklung von *Glomeris marginata* in 16 Stadien zu untergliedern. Es sei ausdrücklich erwähnt, dass es sich bei den präsentierten Stadien ausschließlich um solche handelt, die für die in situ Hybridisierung zugänglich gemacht werden konnten (siehe Kap. 2.5.1.2), und somit nicht die gesamte Ontogenese von *Glomeris marginata* umfassen.

Das früheste Entwicklungsstadium entspricht dem Stadium, das laut Dohle mit dem Erscheinen des Kumulus (cu) einhergeht. Dieser ist als Anhäufung von Zellen/Zellkernen zu erkennen und bildet den späteren posterioren Bereich des Keimstreifens. Die verbleibenden Kerne des Blastoderms liegen gleichmäßig verteilt. Dieses Stadium soll in der Folgezeit als „Blastodermstadium“ oder „Stadium 0“ bezeichnet werden. Zu diesem Zeitpunkt kann keine Expression von *engrailed* festgestellt werden (Abb. 3.1A). Im nachfolgenden Stadium 0.1 unterteilt sich das Blastoderm, sodass zwischen einer dorsalen „Regio Dorsalis“ (rd) und einer ventralen „Regio Germinalis“ (rg) unterschieden werden kann. Die Regio Germinalis weist eine höhere Dichte an Zellkernen auf und exprimiert *engrailed* im Gewebe des späteren Mandibularsegments (md) sowie des ersten Rumpfssegments (T1) (Abb. 3.1B). Die Regio Germinalis entwickelt sich zum Kopf und dem ersten Rumpfssegment (T1). Am anterioren Ende weist die Regio Germinalis dichteres Gewebe auf, welches die sich entwickelnden Kopflappen repräsentiert (Abb. 3.1B, Pfeil).

Die Regio Dorsalis ist durch ein weniger dichtes Zellaufkommen gekennzeichnet. Die Zellen dieses Gewebes exprimieren kein *engrailed* (Abb. 3.1B) und werden nicht Teil des späteren Embryos werden, sondern bilden während der Embryonalentwicklung die sogenannte Dorsalmembran. Diese umgibt den Dotter, der sich im Inneren des sich entwickelnden Eies befindet. Die frühe Unterteilung des Blastoderms in verschiedene

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Bereiche, die Regio Germinalis, die Regio Dorsalis, und die Wachstumszone (gz) ist in Abb. 3.2 veranschaulicht. Im Stadium 0.2 erscheinen zusätzliche *engrailed*-Streifen im Antennensegment (an) und im Maxillarsegment (mx). Zusätzlich liegt ein Streifen im Kumulus (Abb. 3.1C, Pfeil), der von nun an als Wachstumszone (gz) bezeichnet wird. Während der weiteren Entwicklung werden neue Segmente aus dieser Wachstumszone nach anterior abgesondert.

Hinter der Wachstumszone befindet sich ein Bereich weniger dichten Gewebes. Dieser wird zu einem späteren Zeitpunkt invaginieren und Bereiche des Enddarms bilden. Im anterioren Bereich des Keimstreifens ist es ähnlich. Die *engrailed* Expression im Antennensegment ist nicht durchgehend; die Expression in lateralen Bereichen des Keimstreifens ist stärker als ventral (Abb. 3.1C). Besser erkennbar wird dies in lichtmikroskopischen Aufnahmen (Abb. 3.3). Das legt nahe, dass sich im ventralen Bereich zwischen den Anlagen des Antennensegments Gewebe befindet, welches sich zu anderen Strukturen als dem Antennensegment differenziert. Wie sich herausstellen wird, ist dies der Bereich, der später invaginieren und zu Teilen des Vorderdarms werden wird.

Das Stadium 0.3 ist durch zusätzliche Expression von *engrailed* im Primordium des Postmaxillarsegments (pmx) gekennzeichnet. Außerdem beginnt zu diesem Zeitpunkt die rechts-links Kontraktion des Keimstreifens (Abb. 3.1D). Außer der unterschiedlichen Anzahl *engrailed* positiver Segmentprimordien können die Stadien 0.1-0.3 kaum durch morphologische Unterschiede voneinander abgegrenzt werden. Im Stadium 0.4 ist die Untergliederung des Embryos in Regio Germinalis, Regio Dorsalis und Wachstumszone besonders gut zu erkennen, und auch die Bildung der anterioren Kopflappen ist weiter vorangeschritten (Abb. 3.1E). Ausserdem befindet sich jetzt ein zweiter *engrailed*-Streifen in der Wachstumszone (Abb. 3.1E, Pfeile). Im Stadium 0.5 erscheint die *engrailed* Expression zwischen dem Mandibularsegment und dem Antennensegment; am posterioren Ende des Embryos beginnt die Invagination des Enddarms (Proktodäum; P) (Abb. 3.1F). Mit Hilfe der *engrailed* Expression lassen sich nun sieben Segmente unterscheiden. Von anterior nach posterior sind dies das Antennensegment, das Prämandibularsegment, das Mandibularsegment, das Postmaxillarsegment und die beiden ersten Rumpfsegmente. Das zweite Rumpfsegment (T2) ist aus der Wachstumszone entstanden und unterscheidet sich deshalb hinsichtlich seines Ursprungs von den übrigen sechs Segmenten, die sich alle aus der Regio Germinalis entwickelt haben. Es fällt auf, dass das Erscheinen der *engrailed* Expression in

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

den Segmenten der Regio Germinalis weder gleichzeitig geschieht, noch in einer anterior-posterioren Reihenfolge. Dennoch ist die Sequenz des Erscheinens der Expression in der Regio Germinalis immer dasselbe. In Abb. 3.3 ist dieses stereotype Expressionsprofil von *engrailed* zusammengefasst. Während der Stadien 1 bis 1.2 nimmt die rechts-links Kontraktion des Keimstreifens weiter zu (Abb. 3.1G-I). Das Stadium 1 ist dadurch gekennzeichnet, dass sich die intersegmentalen Furchen bilden (Abb. 3.1G). Im Stadium 1.1 erscheint allmählich der *engrailed*-Streifen des vierten Rumpfsegments in der Wachstumszone (hier nicht zu erkennen) (Abb. 3.1H). Erst im Stadium 1.2 ist dieser gegen die DAPI Färbung sichtbar (Abb. 3.1I). Im Stadium 2 schließlich ist die rechts-links Kontraktion des Keimstreifens weitgehend abgeschlossen (Abb. 3.1J). Eine flächige Expression von *engrailed* ist in der Wachstumszone erkennbar. Diese ist dem zukünftigen fünften Rumpfsegment (T5) zu rechnen. Des Weiteren ist jetzt das Auswachsen der Kopfextremitäten sowie die Invagination des Vorderdarms (Stomodäum; S) zu beobachten (Abb. 3.1J). Im Stadium 3 beginnt auch das Längenwachstum der ersten drei Laufbeinpaare. Auffallend ist, dass nun dorsales Gewebe gebildet wird (Abb. 3.1K, Pfeilköpfe und Pfeile). Bis hierhin bestanden sowohl der Keimstreifen als auch die Wachstumszone lediglich aus ventralem Gewebe. Die Rumpfsegmente 1-4 bilden separate dorsale Auswüchse, während das Maxillar- und das Mandibularsegment nur anfänglich separates dorsales Gewebe entwickeln (Abb. 3.1K, Pfeile). Dieses fusioniert später jedoch zu einer gemeinsamen Einheit (Abb. 3.1L, Pfeil). Die dorsalen Auswüchse werden als Lateralplatten bezeichnet (Dohle, 1964). Während der späteren Embryonalentwicklung werden diese sich weiter nach dorsal ausweiten und schließlich in der dorsalen Mittellinie im Zuge des Rückenschlusses zusammenwachsen. Dieses Wachstum kommt in erster Linie durch Teilung solcher Zellen zustande, die sich im ventralen Bereich der Lateralplatten befinden (Abb. 3.4). Im dorsalen Bereich der Lateralplatten teilen sich nur die Zellen, die die Tergitgrenzen bilden, und die Zellen des Dorsalgefäßes (Herz) (Abb. 3.4). Durch das Auswachsen der Lateralplatten verringert sich die Fläche der Dorsalmembran, die aus der Regio Dorsalis hervorgegangen ist. Der Abbau der Dorsalmembran wird wahrscheinlich durch Apoptose bewerkstelligt, ähnlich wie das in der Spinne der Fall zu sein scheint (Nikola-Michael Prpic, persönliche Mitteilung). Der Nachweis apoptotischer Zellen mittels der TUNEL-Methode ist in *Glomeris* leider bisher aus technischen Gründen nicht möglich. Trotz der irreführenden Bezeichnung handelt es sich bei den Lateralplatten um echtes dorsales Gewebe. Auf Grund

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

der Feststellung, dass auch die Wachstumszone dorsales Gewebe absondert (Abb. 3.1K, Stern) unterscheiden sich die von nun an gebildeten posterioren Segmente (T5-T8) grundsätzlich von den vorher aus der Wachstumszone stammenden Segmenten (T2-T4). Erstgenannte besitzen von vorne herein dorsales Gewebe. Das Auswachsen der Lateralplatten im Bereich der anterioren Kopfsegmente (Antennen-, Prämandibular- und Mandibularsegment) wird erst in einem späteren Stadium deutlich (Abb. 3.1N). Im Stadium 4 wachsen die Lateralplatten weiter aus (Abb. 3.1L) und der *engrailed*-Streifen des sechsten Rumpfsegments (T6) erscheint in der Wachstumszone (Abb.3.1L). Das Stadium 4.1 ist durch einen weiteren *engrailed*-Streifen (T 7) in der Wachstumszone charakterisiert (Abb. M). Zum Zeitpunkt des Stadiums 5 knickt der Keimstreifen ein. Hierdurch bewegen sich das Labrum und die Analklappen des Embryos aufeinander zu (Abb. 3.1N). Es wird ersichtlich, dass die Rumpfsegmente fünf und sechs (T5 und T6) sowie die Rumpfsegmente sieben und acht (T7 und T8) jeweils einen gemeinsamen dorsalen Teil entwickeln (Abb. 3.1N, Klammern). Diese dorsalen Bereiche ähneln trotz ihrer unterschiedlichen Herkunft und Entwicklung den Lateralplatten der ersten vier Rumpfsegmente (T1-T4). Die Bildung der Segmente und ihrer dorsalen Auswüchse sowie die Lage der *engrailed* Expression ist in Abb. 3.5 schematisch zusammengefasst.

Im Stadium 6 hat sich das achte, und somit letzte embryonale Rumpfsegment (T8) gebildet und der Embryo beginnt mit der vollständigen Einrollung (Abb. 3.1O). An der dorsalen Seite erscheinen Einschnürungen des Keimstreifens, die in der Position entstehen, in der *engrailed* exprimiert wird (Abb. 3.1O, Pfeilköpfe). Diese Einschnürungen markieren die Grenzen der sich entwickelnden Tergite. Im letzten dokumentierten Stadium, dem Stadium 6.1, ist die Einrollung des Embryos so weit fortgeschritten, dass der Kopf und der Analbereich in direkten Kontakt zueinander treten. Die Tergite sind nun deutlich erkennbar und die Bildung der Kutikula wird eingeleitet (Abb. 3.1P).

Nach der Embryonalentwicklung verbleibt *Glomeris* im ersten larvalen Stadium in der Eikammer. Erst nach erneuter Häutung ist *Glomeris* befähigt Nahrung aufzunehmen und verlässt die Eikammer (Dohle, 1964).

**Abb. 3.1** Bildung des Keimstreifens und Segmentierung in *Glomeris marginata* Embryos. Die Embryos sind mit dem segmentalen Marker *engrailed* gefärbt (in situ Hybridisierung; dunkle Streifen), und mit der DNA detektierenden Chemikalie DAPI gegengefärbt (helle Färbung). **A** Stadium 0 oder Blastodermstadium. Anhäufung von Zellen am posterioren Pol bildet den Kumulus (cu). **B** Stadium 0.1. Segmentale Expression in md und T1. Pfeil deutet auf den Kopflappen. Beginnende Unterteilung des Blastoderms in Regio Germinalis, Regio Dorsalis und Wachstumszone. **C** Stadium 0.2. Zusätzliche Expression in an und mx. Der zu T2 gehörende *engrailed*-Streifen erscheint in der Wachstumszone (Pfeil). **D** Stadium 0.3. Expression von *engrailed* erscheint erstmals im pmx. **E** Stadium 0.4. *engrailed* Expression von T2 und T3 in der Wachstumszone (Pfeile). **F** Stadium 0.5. *engrailed* erscheint im Primordium des pmd. Das Proktodäum (P) bildet sich. **G** Stadium 1. Links-rechts Kontraktion des Keimstreifens beginnt. T2 sprosst aus der Wachstumszone. **H** Stadium 1.1. Links-rechts Kontraktion setzt sich fort. **I** Stadium 1.2. **J** Stadium 2. Stomodäum bildet sich. **K** Stadium 3. Lateralplatten wachsen deutlich sichtbar aus. Pfeile deuten auf separat auswachsende Lateralplatten des mx und pmx. Pfeilköpfe deuten auf separat auswachsende Lateralplatten von T1 bis T4. Stern deutet durchgängige *engrailed* Expression (von T5) im ventralen und dorsalen Bereich der Wachstumszone an. **L** Stadium 4. Lateralplatten von mx und pmx sind nun miteinander verbunden (Pfeil). Stern deutet auf T5. **M** Stadium 4.1. **N** Stadium 5. Rumpfsegmente T5 und T6, sowie T7 und T8 teilen sich ein gemeinsames dorsales Gewebe (Klammern). **O** Stadium 6. *engrailed*-Streifen des achten embryonalen Rumpfsegments sichtbar (Pfeil). Grenzen der Tergite stimmen mit der dorsalen Expression von *engrailed* überein (Pfeilköpfe). **P** Stadium 6.1. Pfeilkopf deutet auf einen zusätzlichen *engrailed*-Streifen dorsal zum Proktodäum. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.2** Unterteilung des Blastoderms bzw. des frühen Keimstreifens. **A** Stadium 0 oder Blastodermstadium. **B** Schematische Darstellung des Embryos aus A. **C** Stadium 0.4. **D** Schematische Darstellung des Embryos aus B. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

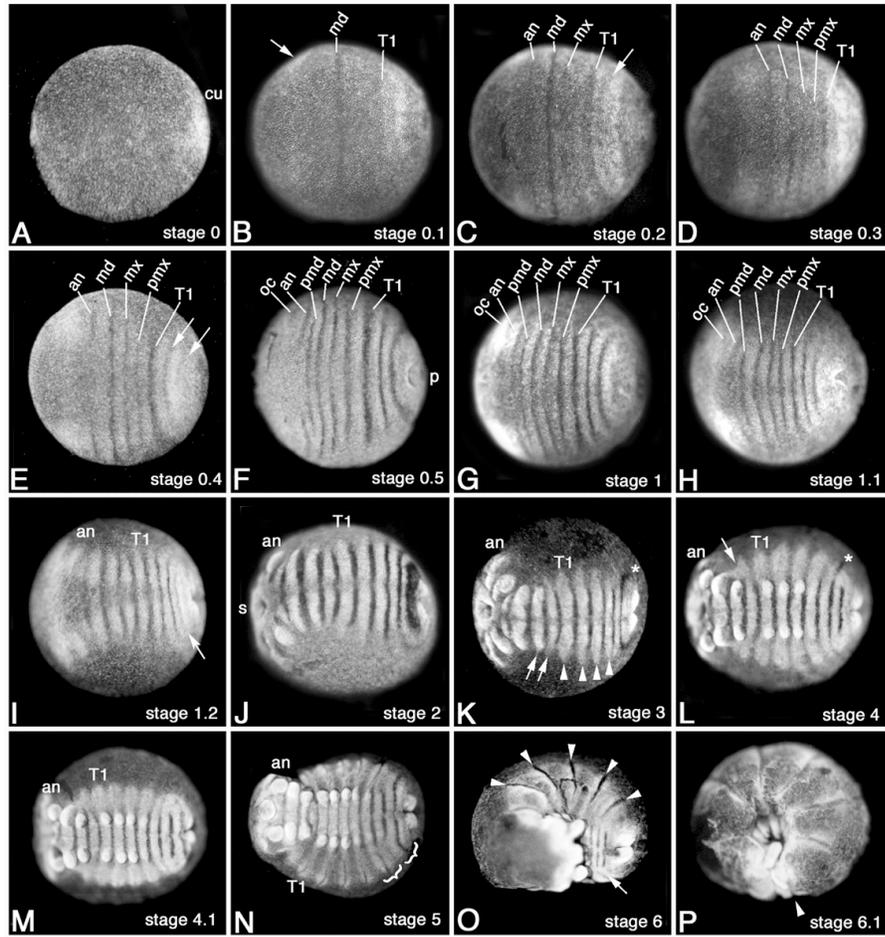


Abb. 3.1

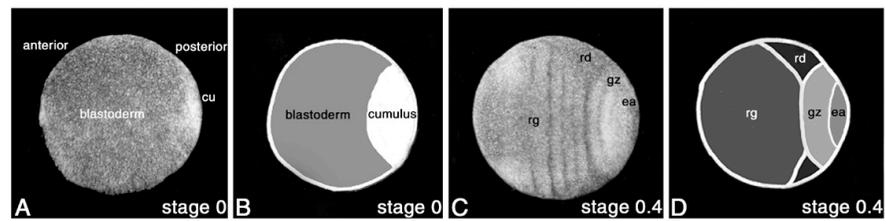


Abb. 3.2

**Abb. 3.3 A-C** Vordere segmentale *engrailed* Expression erscheint in einer komplexen stereotypen Abfolge. **D** Schematische Zusammenfassung des Erscheinens der *engrailed* Expression in der Regio Germinalis. Punkte markieren Vorhandensein von *engrailed* Expression im gegebenen Segment (Segmentprimordium). Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.4** BrdU Inkorporation in *Glomeris* Embryos. Inkorporationszeit: 1 Stunde. **A** Stadium 3. Pfeilköpfe deuten auf auswachsende Lateralplatten. Entlang der ventralen Mittellinie findet keine Zellteilung statt (Pfeil). **B** Stadium 6.1. Sterne deuten Zellteilung (BrdU Inkorporation) an den Grenzen der Tergite an. Der große Pfeil deutet auf das Dorsalgefäß (dorsale Begrenzung des Keimstreifens). Kleine Pfeile deuten auf verstärkte Zellteilungsaktivität im lateralen Bereich des Embryos entlang der Tergitgrenzen. **b** Stadium 6.1. Gezeigt ist ein Ausschnitt aus dem Embryo aus B. Pfeil wie in B. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf den Seiten 2-5.

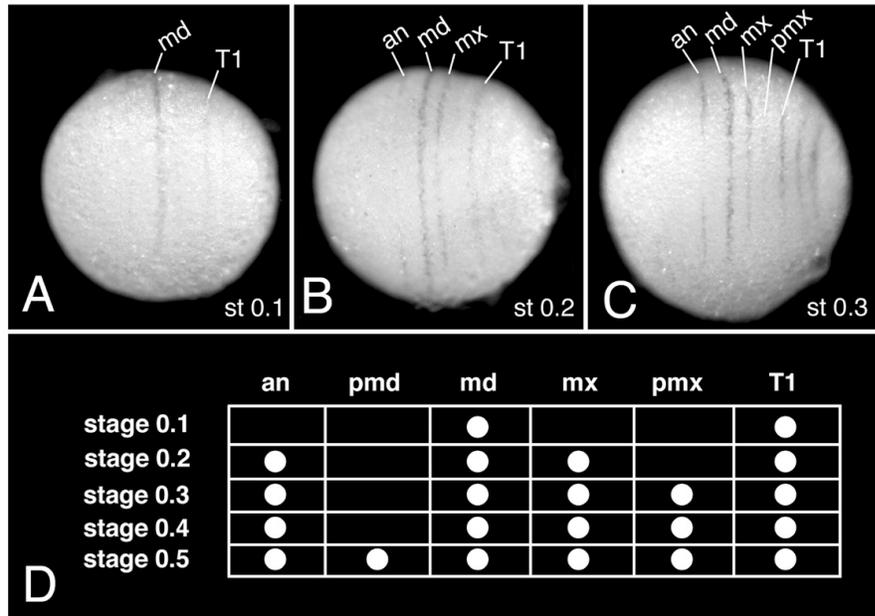


Abb. 3.3

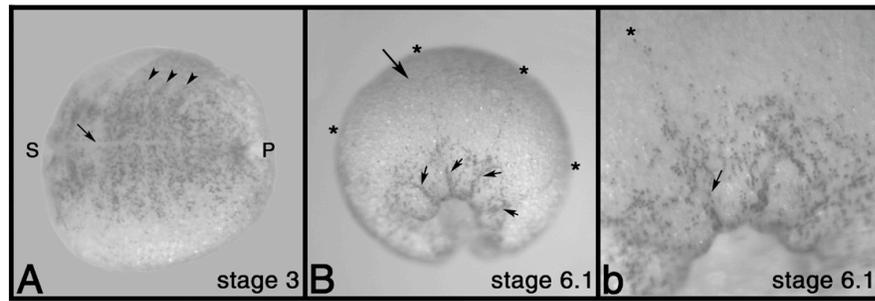
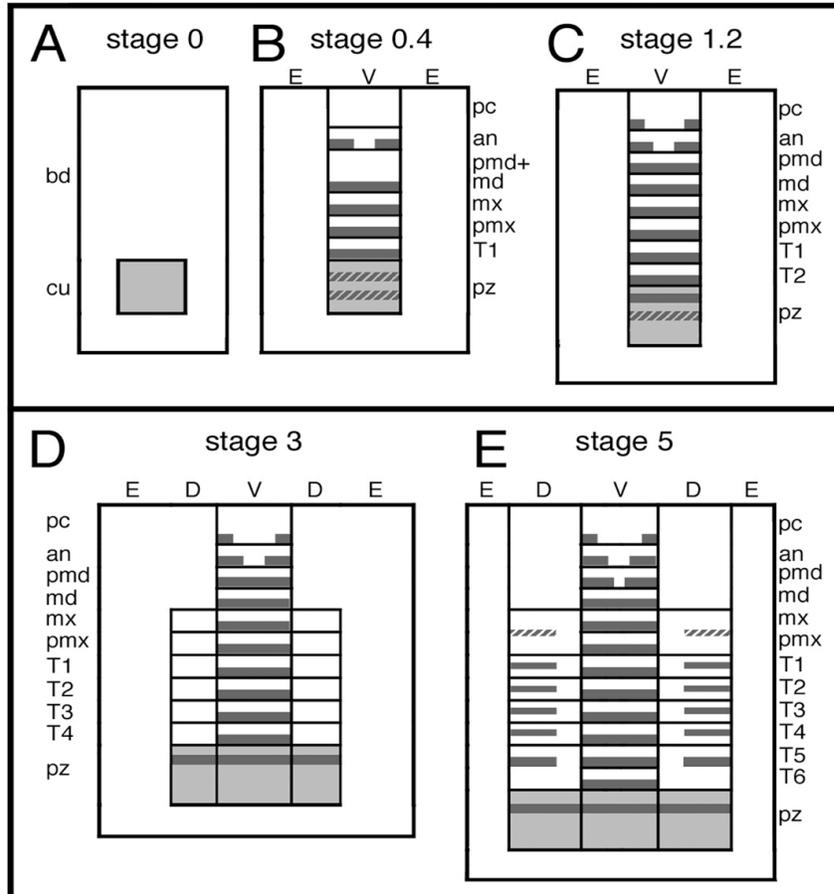


Abb. 3.4

**Abb. 3.5** Schematische Zusammenfassung der Segmentierung des Keimstreifens in *Glomeris marginata*. Die Vierecke repräsentieren ventrale Ansicht. Anterior ist oben. Expression von *engrailed* ist mit grauen Balken dargestellt. Gestrichelte graue Balken stellen schwächere Färbung dar. **A** Im Blastodermstadium (Stadium 0) besteht der Embryo aus Kumulus und undifferenziertem Blastoderm. **B** Stadium 0.4. Das Blastoderm differenziert sich in einen ventralen („V“) Bereich (Regio Germinalis) und einen extra-embryonalen („E“) Bereich (Regio Dorsalis). Der Kumulus bildet sich zur Wachstumszone um und produziert zusätzliche Segmente. **C** Stadium 1.2. Die Wachstumszone gibt weitere Segmente ab. **D** Stadium 3. Wachstumszone und anterior anschließendes Gewebe des Blastoderms, mit Ausnahme des Prozephalons und der vorderen drei Segmente, bilden echtes dorsales Gewebe („D“) aus. **E** Stadium 5. Dorsales Gewebe ist jetzt über die gesamte Länge des Keimstreifens vorhanden. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.5**

### 3.2 Die Segmentpolaritätsgene

#### 3.2.1 Das *Glomeris engrailed* Gen

Das Gen *engrailed* gehört zu den bestuntersuchten Segmentpolaritätsgenen. Es handelt sich hierbei um einen Transkriptionsfaktor mit einer Homöodomäne (Poole et al., 1985; Jaynes and O'Farrell, 1991). *engrailed* gehört zur Familie der EHG-Box Gene (Pollard und Holland, 2000). In Übereinstimmung mit der Funktion als SPG ist es in *Drosophila* in einem transversalen Streifen in der posterioren Region der Segmente exprimiert (DiNardo et al., 1985; Fjose et al., 1985; Kornberg et al., 1985). Ein Sequenzvergleich der bekannten *engrailed* Orthologe hat ergeben, dass neben der Homöodomäne noch vier weitere konservierte Bereiche zu finden sind. Diese werden EH-Domänen genannt (Abb. 3.6). Eine phylogenetische Untersuchung ist im Fall des aus *Glomeris* isolierten *engrailed* Gens nicht nötig, da eine Verwechslung mit einem anderen Gen auszuschließen ist. Zu beachten ist, dass jedoch zwei unterschiedliche Splicevarianten von *engrailed* in *Glomeris* zu unterscheiden sind, die sich im Fehlen bzw. Vorhandensein eines Dipeptids bestehend aus einem Arginin (R) und einem Serin (S) (siehe Anhang) unterscheiden. In diesem Zusammenhang ist es interessant zu erwähnen, dass in vielen der Fälle, in denen zwei Paraloge des Gens *engrailed* vorliegen, eins dieser Paraloge das RS-Dipeptid besitzt, eines jedoch nicht (zusammengefasst in Peterson et al., 1998). Wegen der Konserviertheit dieser kurzen Proteinsequenz, die auf Arthropoden beschränkt ist, nimmt man an, dass sie eine wichtige Funktion spielt (Peterson et al., 1998). Die hier vorliegenden Ergebnisse aus dem Tausendfüßer *Glomeris marginata* unterstützen die Hypothese, dass das RS-Dipeptid durch ein Mini-Exon kodiert wird. Eine Duplikation eines ursprünglichen *engrailed* Orthologs mit nachfolgendem Verlust dieses Mini-Exons in einem Paralog würde das Vorkommen eines Paralogs mit und eines ohne RS-Dipeptid in vielen Arthropoden erklären. In *Glomeris* scheint dies durch die zwei Splicevarianten bewerkstelligt zu werden, was vermutlich einen ursprünglichen Zustand darstellt. Des Weiteren existieren in *Glomeris* zwei unterschiedliche 3'UTRs, die wohl Folge einer alternativen Polyadenylierung sind (siehe Anhang). Eine Korrelation zwischen den beiden unterschiedlichen Transkripten und dem Fehlen oder Vorhandensein des RS-Dipeptids ist nicht untersucht worden.

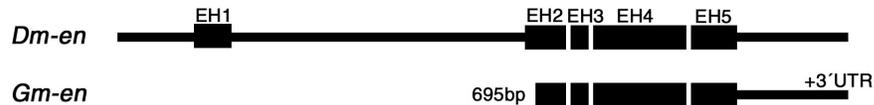


Abb.3.6 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *engrailed* in *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

### 3.2.2 Die Expression von *Glomeris engrailed* (*en*)

Außer der im Zusammenhang mit der Einteilung der Entwicklungsstadien bereits beschriebenen segmentalen Expression von *engrailed* (siehe Kap. 3.1) seien noch einige bisher nicht erwähnte Aspekte erläutert. Diese beziehen sich in erster Linie auf die Unterschiede der *engrailed* Expression in den ventralen bzw. den dorsalen Segmenten. Mit Beginn des Erscheinens der intersegmentalen Gruben im Stadium 1 (Abb. 3.1G) wird ersichtlich, dass sich die *engrailed* Expression im posterioren Bereich der Segmente befindet (Abb. 3.1; Abb. 3.7). Zu diesem Zeitpunkt gibt es noch keine dorsalen Auswüchse (Lateralplatten). Kurze Zeit nach der beginnenden Entwicklung der Lateralplatten lässt sich Expression von *engrailed* in den dorsalen Auswüchsen der ersten vier Rumpfssegmente (T1-T4) feststellen (Abb. 3.1L-P; Abb. 3.7B/C). Diese Expression erscheint de novo. Etwas später erscheint dann auch Expression im gemeinsamen dorsalen Auswuchs des Maxillar- und Postmaxillarsegments (Abb. 3.7C, schwarze Pfeilköpfe). Im Gegensatz zu der Situation in den ersten vier Rumpfssegmenten, exprimiert das dorsale Gewebe der Wachstumszone mit Beginn des Erscheinens dorsalen Gewebes *engrailed* (Stadium 3) (Abb. 3.1K, Stern; Abb. 3.7A, Pfeil). Dieser dorsale *engrailed*-Streifen geht übergangslos in den Streifen des ventralen Rumpfssegments fünf über (Abb. 3.7A). Im weiteren Verlauf der Entwicklung spaltet sich dieser Streifen in einen ventralen und einen dorsalen Teil auf (Abb. 3.7c, Pfeilkopf). Der nächste *engrailed*-Streifen, der zum sechsten Rumpfssegment gehört, besitzt keine dorsale Entsprechung (Abb. 3.7B/C, Pfeil in C). Der folgende *engrailed*-Streifen (T7) erstreckt sich über den ventralen wie auch den dorsalen Teil, ähnlich wie es für den Streifen in Rumpfssegment fünf der Fall ist (Abb. 3.7C, Pfeilkopf), während die *engrailed*-Expression im achten Rumpfssegment wiederum auf den ventralen Bereich beschränkt ist (Abb. 3.1O, Pfeil). Vom ventralen Rumpfssegment fünf an ist *engrailed* also im dorsalen Anteil alternierender Segmente exprimiert. Während es im posterioren Teil der ventralen Segmente

exprimiert wird, liegt die dorsale Expression von *engrailed* in der Mitte der morphologisch erkennbaren Einheiten (dorsale Segmente) (Abb. 3.7C/c).

Im Stadium 6 wird die morphologische Bildung der Tergitgrenzen durch Einschnürungen des dorsalen Gewebes ersichtlich. Dabei fällt auf, dass der Ort der Grenzbildung (Einschnürung) mit dem Ort der Expression von *engrailed* zusammen fällt (Abb. 3.10, Pfeilköpfe; Abb. 3.8A, Sterne). Die Tergitgrenzen bilden sich folglich in der Mitte der dorsalen Segmente. Damit ist weder eine Korrelation der ventralen Segmentgrenzen noch der dorsalen Segmentgrenzen mit den Grenzen der dorsalen Exoskelettelemente (Tergite) vorhanden. Der vorderste dorsale *engrailed*-Streifen markiert die posteriore Grenze der Kopfkapsel. Er ist nur schwach ausgeprägt und kaum zu erkennen. Er entspricht der beschriebenen Expression im dorsalen Gewebe des Maxillar- und Postmaxillarsegments (Abb. 3.7C, schwarze Pfeilköpfe). Die nachfolgenden sechs Streifen bilden die posterioren Abschlüsse der sechs Tergite (Abb. 3.1N-P; Abb. 3.8A, Sterne). Der letzte dorsale Streifen, welcher direkt anterior zu den Anklappen liegt, markiert den Bereich des siebten, bisher noch nicht gebildeten, Tergiten (Abb. 3.1P, Pfeilkopf; Abb. 3.8A, Pfeilkopf); im ersten Larvenstadium von *Glomeris marginata* sind sieben Tergite ausgebildet.

Abgesehen von der segmentalen Expression finden sich auch Transkripte in Form zweier kurzer Streifen in den optischen Loben (z.B. Abb. 3.7A). Außerdem ist *engrailed* im Bereich des invaginierenden Enddarms (Proktodäum; P) exprimiert (z.B. Abb. 3.7B).

#### 3.2.3 Das *Glomeris hedgehog* Gen

Wie bereits im einleitenden Teil erwähnt handelt es sich bei dem Produkt des Gens *hedgehog* (*hh*) um ein segregiertes Signalprotein. In *Drosophila* wird es in den selben Zellen exprimiert wie *engrailed*. Konservierte Domänen der *hedgehog* Orthologen sind eine aminoternale Signaldomäne und ein Hint Modul, welches im hinteren Teil des Proteins liegt (Abb. 3.9). Zusätzlich dient eine N-terminale hydrophobe Region als Transmembran-Domäne (Tabata et al., 1992).

Aus *Glomeris* ist eine Sequenz isoliert worden, die hohe Ähnlichkeit zu den bereits bekannten *hedgehog* Orthologen aus anderen Arthropoden aufweist. Das resultierende Polypeptid verfügt neben der Hedgehog Signalsequenz auch über das Hint Modul und eine

mögliche hydrophobe Transmembrandomäne (VLLAVVLLVLVL) (Abb. 3.9). Eine phylogenetische Analyse ist im Fall von *hedgheg* nicht erforderlich, da es im Genom von *Drosophila* lediglich ein Gen gibt, welches signifikante Ähnlichkeit mit dem aus *Glomeris* isolierten Fragment hat und das ist *hedgheg*. Eine Verwechslung ist daher ausgeschlossen.



Abb. 3.9 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *Drosophila hedgheg* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.2.4 Die Expression von *Glomeris hedgheg* (*hh*)

Die Expression von *hedgheg* ähnelt in einigen Punkten der von *engrailed*. So zeigt sich Expression in Form transversaler Streifen in den Segmenten. Nach der Bildung der intersegmentalen Furchen wird ersichtlich, dass sich die segmentale Expression von *hedgheg* im posterioren Bereich der Segmente befindet (Abb. 3.10d; Abb. 3.11E/F). Im Stadium 3 erscheint, wie bereits für *engrailed* beschrieben, Expression in den dorsalen Auswüchsen der vier ersten Rumpfsegmente (Abb. 3.10B/C, Pfeilköpfe), und etwas später auch im gemeinsam ausgebildeten dorsalen Bereich des Maxillar- und Postmaxillarsegments (Abb. 3.10D, schwarze Pfeilköpfe). Die *hedgheg* Expression in diesen dorsalen Auswüchsen entsteht de novo, ist getrennt von den segmentalen ventralen Streifen und liegt in der Mitte der morphologisch erkennbaren Einheiten (Abb. 3.10d). Im Gegensatz zur zuvor beschriebenen Expression von *engrailed* verschwinden die ventralen Streifen in weiter entwickelten (älteren; anterioren) Segmenten (Abb. 3.10, Pfeil). Die dorsalen Auswüchse, sowie die Beine exprimieren dagegen weiterhin *hedgheg* (Abb. 3.10C-D). Wie im Fall von *engrailed* finden sich Transkripte von *hedgheg* lediglich in den zu den Rumpfsegmenten fünf und sieben angrenzenden dorsalen Auswüchsen, jedoch nicht in denen des sechsten und achten ventralen Rumpfsegments (Abb. 3.10D/d, Pfeilköpfe). Diese beiden dorsalen Streifen sind zunächst mit den ventralen Streifen der Rumpfsegmente fünf und sieben verbunden, verlieren aber schon bald darauf den Kontakt zur ventralen Expression (Abb. 3.10D/d). Die

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Position der *hedgehog* Expression in den dorsalen Einheiten entspricht den Tergitgrenzen (Abb. 3.10, Pfeilköpfe; Abb. 3.8, Sterne), wobei sich auch hier nach der völligen Einrollung (Stadium 6.1) ein zusätzlicher dorsaler Streifen anterior zu den Analklappen zeigt (Abb. 3.10E, Pfeil; Abb. 3.8, Pfeilkopf).

Im Gegensatz zu *engrailed* erscheint *hedgehog* im Bereich des Vorderdarms (Stomodäum; S) kurz vor dessen beginnender Invagination (Abb. 3.11F, Pfeil; Abb. 3.10,A). Ähnlich verhält es sich für den Enddarm (Proktodäum; P). Auch hier zeigt sich Expression von *hedgehog* vor der Invagination in dessen Anlagen (ea) (Abb. 3.11A-D). Gleichzeitig finden sich Transkripte in den vorraussichtlichen endodermalen Zellen des zukünftigen Mitteldarm, die sich im Blastodermstadium zunächst in Form eines losen Zellverbandes innerhalb des Dottergewebes befinden, und mit voranschreitender Elongation des Keimstreifens kondensieren (Dohle, 1964) (Abb.3.11D, Pfeil). Diese Expression ist anfänglich durch einen ungefärbten Bereich von der Expression in den Anlagen des Enddarms (ea) getrennt (Abb. 3.11D, Pfeilkopf), erscheint aber im darauf folgenden Entwicklungsstadium, und damit einhergehender Invagination des Enddarms Kontakt mit dessen Geweben aufzunehmen (Abb. 3.11E/F). Untersuchungen junger Stadien belegen die Vermutung, dass *hedgehog* ähnlich wie dies für Insekten gezeigt werden konnte (Hoch und Pankratz, 1996; Pankratz und Hoch, 1995; Takashima und Muarakami, 2001; Inoue et al., 2002) auch in die Entwicklung des Darms und des Rektums in *Glomeris* involviert ist.

Ein weiterer Unterschied zur Expression von *engrailed* zeigt sich beim Studium sehr junger Embryos. Die stereotype Sequenz des Erscheinens von Expression in den Segmenten der Regio Germinalis variiert zwischen *engrailed* und *hedgehog*. Während im Stadium 0.1 im Fall von *engrailed* lediglich segmentale Streifen im zukünftigen Mandibular- und ersten Rumpfsegment zu sehen sind, ist *hedgehog* zusätzlich in einer breiten anterioren Domäne aktiv, die dem Primordium des posterioren Teils des optischen Zentrums (oc), sowie des Antennensegments (an) entspricht (Abb. 3.11B). Die weitere Reihenfolge stimmt mit dem stereotypen Erscheinen von *engrailed* in der Regio Germinalis überein. Die Expression im optischen Zentrum ist nicht durchgängig, und auch die anfänglich durchgängige Expression im Antennensegment ist in dieser Form nicht von langer Dauer, sondern verschwindet sehr bald im ventralen Bereich des Keimstreifens (Abb. 3.11B-F).

### 3.2.5 Die *Glomeris Wnt* Gene

Unter der Bezeichnung *Wnt* Gene werden strukturell verwandte Gene zusammengefasst, bei denen es sich ausschließlich um Signalproteine handelt (Siegfried und Perrimon, 1994). Allen ist das weitgehende Fehlen besonderer konservierter Domänen eigen (Abb. 3.12). Für *wingless* aus *Drosophila* ist eine N-terminale hydrophobe Region (wie bei *hh*) als Charakteristikum für segregierte Signalproteine beschrieben (Rijsewijk, 1987). Das bekannteste und bestuntersuchte unter den *Wnt* Genen ist das als Segmentpolaritätsgen fungierende Gen *wingless* (*wg*). In *Drosophila* und anderen Arthropoden ist es segmental in Zellen anterior zu den *engrailed/hedgehog* positiven Zellen exprimiert (Lawrence, 1981; Hughes und Kaufman, 2002b ; Damen, 2002a). Im Genom von *Drosophila* finden sich sieben Mitglieder der *Wnt* Familie (Llimargas und Lawrence, 2001). Arbeiten anderer Gruppen haben gezeigt, dass die Orthologisierung der Gene schwierig ist, da die phylogenetische Zuordnung in den meisten Fällen nicht statistisch signifikant ist (Jokusch und Ober, 2000; Schubert et al., 2000; Prud'homme et al., 2002). Lediglich die Orthologen der *Wnt1* Gruppe, zu denen das *Drosophila* Gen *wingless* zählt, lassen sich für gewöhnlich eindeutig von den anderen *Wnt* Genen unterscheiden. Aus den genannten Gründen ist es auch hier notwendig eine phylogenetische Analyse unter Einbezug der *Drosophila* *Wnt* Gene sowie einiger *Wnt* Orthologe aus anderen Arthropoden und der aus *Glomeris* isolierten Gene dieser Familie durchzuführen (Abb. 3.13). Eines der drei aus *Glomeris* isolierten Fragmente fällt statistisch signifikant mit den *Wnt1/wingless* Orthologen aus der Spinne *Cupiennius* und den *wingless* Orthologen aus Insekten (*Drosophila*, *Tribolium*, *Gryllus* und *Junonia*) zusammen (RV 72). Innerhalb dieser Gruppe zeigt sich die größte Ähnlichkeit mit der Sequenz aus *Cupiennius* (RV 91). Das Fragment ist daher als ein Ortholog zu den *wingless/Wnt1* Genen anzusehen. Ein zweites aus *Glomeris* isoliertes Fragment fällt unzureichend unterstützt mit den Orthologen zu *Drosophila* und *Cupiennius Wnt5* zusammen (RV 39). Auf Grund der ebenfalls zwischen *Cupiennius Wnt5*, *Drosophila Wnt5* und dem *Glomeris* Fragment konservierten Expression könnte es sich bei diesem um ein *Wnt5* Ortholog handeln, auch wenn die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe nicht eindeutig bestimmt ist. Das dritte Fragment könnte auf Grund hier nicht gezeigter phylogenetischer Studien als *Wnt7* Ortholog bezeichnet werden.



Abb. 3.12 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *wingless* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

### 3.2.6 Die Expression der *Glomeris Wnt* Gene

Das Gen *wingless* ist ähnlich wie *engrailed* und *hedgehog* in transversalen segmentalen Streifen exprimiert. Die *wingless*-Streifen sind aber im Gegensatz zu denen von *engrailed/hedgehog* nicht durchgehend, sondern weisen eine Lücke auf Höhe der ventralen Mittellinie auf (z.B. Abb. 3.14G, Pfeil). Ähnlich wie es für *hedgehog* bereits beschrieben wurde, verschwindet die segmentale Expression in fortgeschrittenen Embryonalstadien in den älteren Segmenten (Abb. 3.14H, Stern), wobei die Expression in den Extremitäten (Abb. 3.14H/I) sowie in den neu gebildeten Segmenten erhalten bleibt (Abb. 3.14 H/I, Pfeilköpfe). Die Expression in den Segmenten der Regio Germinalis erscheint später als dies für *engrailed* der Fall ist, da im Stadium 0.5 *wingless* Expression ausschließlich im optischen Zentrum (wo es in allen folgenden Stadien exprimiert bleibt) (Abb. 3.14C), im Bereich der Anlagen der Analklappen (Abb. 3.14C/c, Pfeil) und im Mandibularsegment zu erkennen ist (Pfeilkopf). Mit der Bildung der Intersegmentalfurchen ist *wingless* in allen Segmenten der Regio Germinalis bis auf das Prämandibularsegment präsent. Die verspätete Expression von *engrailed*, *hedgehog* und *wingless* im Prämandibularsegment geht mit einer verzögerten Abgrenzung dieses Segments durch die intersegmentalen Furchen einher (siehe Kap. 3.1). Erst im Stadium 1 wird die prämandibulare Expression deutlich (Abb. 3.14E, schwarzer Pfeil). Ein auffallender Gegensatz zur Expression von *engrailed* und *hedgehog* ist das völlige Fehlen jeglicher *wingless* Expression in den dorsalen Segmenten (Abb. 3.14G-I). Die gleichzeitige Untersuchung der Expression von *engrailed* und *wingless* in den selben Embryos zeigt, dass Expression von *wingless* in den ventralen Segmenten anterior zu den *engrailed* exprimierenden Zellen liegt (Abb. 3.15A/a). Ob es einen kleinen Bereich der Coexpression beider Gene gibt kann auf Grund dieser Art der Doppelfärbung nicht nachgewiesen werden. Auch ohne die Relation zu *engrailed* kann man die Lage von

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

*wingless* in der Mitte der Segmente erkennen (Abb. 3.14F). Die Expression ist deutlich in der Mitte der anterioren und posterioren Segmente in den DAPI Gegenfärbungen zu sehen (Abb. 3.14F'/f). Im hinteren Teil des Embryos scheint die Expression von *wingless* weiter posterior im Segment zu liegen. Die *engrailed* exprimierende Intersegmentale Grube (g) liegt aber noch deutlich hinter der *wingless* Expression (Abb. 3.14F/f).

Außer der segmentalen Expression ist *wingless* noch in den Analklappen exprimiert, bzw. im posterioren Teil des Enddarms, dem Rektum (R) (Abb. 3.14C-I). Diese Expression erscheint bereits im Stadium 0.1 in den Anlagen des Rektums (Abb. 3.14A). Im nachfolgenden Stadium 0.2 teilt sich die anfänglich gleichmäßige Expression in einen anterioren Teil (Abb. 3.14B, Pfeil), dessen Expressionsstärke später noch zunimmt (Abb. 3.14E, weiße Pfeile), und einen posterioren Teil (Abb. 3.14B, Stern), der schwächer exprimiert bleibt und später verschwindet. Der Bereich zwischen dieser aufgespaltenen Expressionsdomäne wird später invaginieren und stellt daher folglich die Anlagen des Enddarms (ea) dar (Abb. 3.14B, Klammer). Des Weiteren ist *Gm-wg* in einem Punkt zu beiden Seiten der Mittellinie im Labrum exprimiert (Abb. 3.14H).

Auf die Sequenzähnlichkeit der Mitglieder der *Wnt* Familie untereinander ist es zurückzuführen, dass neben dem Ortholog zu *wingless* gleichzeitig auch die möglichen Orthologe der Gene *Wnt5* und *Wnt7* aus *Glomeris* isoliert worden sind. Weil diese *Wnt* Gene theoretisch eine Rolle in der Festlegung der dorsalen Segment- oder Tergitengrenzen spielen könnten, sei deren Expression im folgenden kurz umrissen. *Wnt7* weist ein segmental wiederholtes Expressionsmuster in Form von Streifen in den ventralen Segmenten auf, welche im Gegensatz zu *wingless* durchgehend sind und keine Lücke im Bereich der ventralen Mittellinie lassen (Abb. 3.16A, Pfeil). Des Weiteren verbleibt diese Expression auch in älteren Stadien bestehen und verschwindet nicht (Abb. 3.16B, Pfeilkopf). Außer den segmentalen Aspekten der Expression finden sich auch Transkripte in den Analklappen (Abb. 3.16A/B, Stern). Zusätzlich ist Aktivität von *Wnt7* in den Primordien des Dorsalgefäßes (Abb. 3.16B, Pfeil) und in den optischen Loben zu erkennen (Abb. 3.16A/B). Ein ähnliches Expressionsprofil findet sich auch für *Wnt5* in den optischen Loben und den Vorläuferzellen des Dorsalgefäßes (Abb. 3.16C, Pfeil und Pfeilkopf). Das vermutliche *Wnt5* Ortholog aus *Glomeris* ist außerdem im Neuroektoderm entlang der ventralen Mittellinie in Form segmentaler Blöcke exprimiert (Abb. 3.16C, Stern). Eine segmentale Expression, die auf eine mögliche Funktion von *Gm-Wnt5* während der Segmentierung hindeuten könnte, ist

nicht vorhanden. Das Expressionsprofil von *Wnt5* entspricht weitgehend der für eines der beiden *Wnt5* Paraloge (*Wnt5.1*), die aus der Spinne *Cupiennius salei* beschrieben sind (Damen, 2002a). Weder *Wnt7* noch *Wnt5* scheinen in die dorsale Segmentierung involviert zu sein.

#### 3.2.7 Das *Glomeris cubitus interruptus* Gen

Charakteristisch für die DNA-bindende Domäne des Transkriptionsfaktors *cubitus interruptus* ist ein durch Tandemduplikationen entstandener Bereich, der fünf C2H2 Zinkfinger motive umfasst. Diese DNA-bindende Region befindet sich im N-terminalen Teil des Proteins (Abb. 3.17). Neben dem Gen *cubitus interruptus* aus *Drosophila* sind auch dessen Orthologe aus einigen anderen Arthropoden wie dem Schmetterling *Junonia* (Keys et al., 1999) oder der Spinne *Cupiennius salei* (Damen, 2002a) bekannt. In Vertebraten werden die zu *Dm-ci* orthologen Gene als *Gli* Gene bezeichnet. Das Genom von *Drosophila* beinhaltet zwar eine ganze Reihe von Transkriptionsfaktoren mit C2H2 Zinkfingern, doch diese unterscheiden sich in der Anzahl der vorhandenen Zinkfinger (vgl. z.B. *odd-paired*) und deren Sequenz deutlich von *cubitus interruptus*. Zur Sicherheit ist trotzdem eine phylogenetische Analyse durchgeführt worden (Abb. 3.18). In dieser zeigte sich eine sehr stark unterstützte Zugehörigkeit des Fragments aus *Glomeris* zu *Drosophila cubitus interruptus* und dessen Orthologen aus der Spinne und einigen Insekten (RV 99). Innerhalb dieser gegen andere Zinkfinger gene aus *Drosophila* abgegrenzten Gruppe fällt das *Glomeris* Fragment mäßig unterstützt mit dem orthologen Fragment aus der Spinne zusammen (RV 65). Das Fragment aus *Glomeris* kann somit als *cubitus interruptus* Ortholog betrachtet werden.

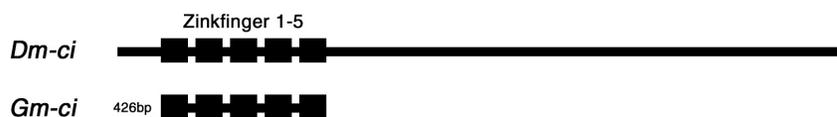


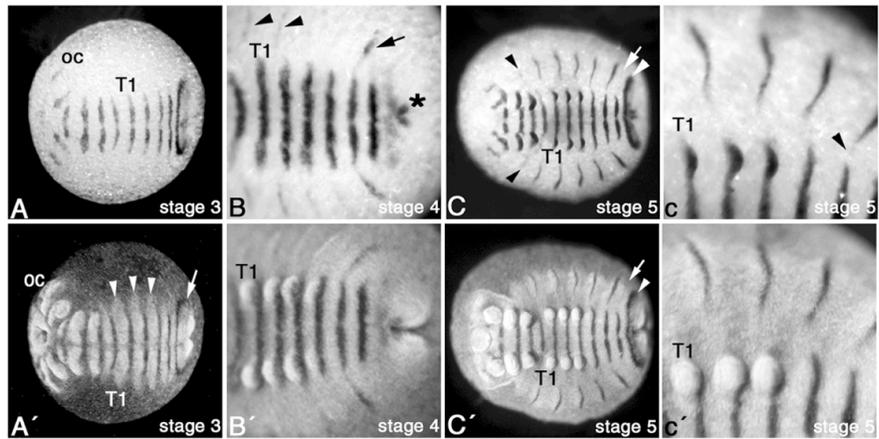
Abb. 3.17 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *cubitus interruptus* in *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.2.8 Die Expression von *Glomeris cubitus interruptus* (*ci*)

Die Expression von *cubitus interruptus* in jüngeren Stadien ist nicht näher untersucht worden. Das Expressionsmuster ist zu diesem Zeitpunkt mehr oder weniger ubiquitär und schwach ausgeprägt (nicht gezeigt). Eine deutliche segmentale Expression wird in etwa ab dem Entwicklungsstadium 2 erkennbar, wo manche Bereiche der Segmente *Gm-ci* exprimieren, manche aber gänzlich frei von Transkripten sind (Abb. 3.19A). Betrachtungen der DAPI Gegenfärbungen (nicht gezeigt) und die erkennbare Lage der Expression in den anterioren Teilen der Extremitäten (Abb. 3.19, Pfeilkopf) beweist, dass *cubitus interruptus* anterior in den Segmenten transkribiert wird. Im Gegensatz zur Expression von *wingless*, *engrailed* oder *hedgehog* ist die Expressionsdomäne von *cubitus interruptus* innerhalb der Segmente breiter (Abb. 3.19A/B). Die anfänglich gleichmäßige segmentale Expression von *ci* bleibt in späteren Stadien nur den neu entstandenen Segmenten vorbehalten (Abb. 3.19E). Außerdem bleibt die Expression in den Extremitäten erhalten. In älteren Segmenten reduziert sich die Expression ventral auf bestimmte Zellen des Neuroektoderms (Abb. 3.19B/C, Pfeil). In auffallender Weise wird *cubitus interruptus* stark in den posterioren Teilen der dorsalen Gewebe des Maxillar- und Postmaxillarsegments sowie den ersten vier Rumpfsegmenten exprimiert (Abb. 3.19C, Pfeilköpfe). In den beiden folgenden dorsalen Segmenten, welche ventral zu den Rumpfsegmenten fünf/sechs bzw. sieben/acht gehören, ist *cubitus interruptus* ebenfalls in den posterioren Bereichen aktiv. Diese dorsale Expression ist durchgehend mit der ventralen Expression der Rumpfsegmente sechs und acht (Abb. 3.19D/H, Stern). Diese alternierende durchgängige Expression ist sehr ähnlich zu der für *engrailed* und *hedgehog* beschriebenen Expression, mit dem Unterschied allerdings, dass die durchgehende dorsale Expression der beiden letztgenannten mit der ventralen Expression in den Rumpfsegmenten fünf und sieben, anstatt mit sechs und acht, einhergeht. Folglich fehlt die dorsale Entsprechung der ventralen Expression der ventralen Rumpfsegmente fünf und sieben (Abb. 3.19D/H, weiße Pfeile in H).

Neben der beschriebenen segmentalen und neuroektodermalen Expression finden sich auch Transkripte im Vorder- und Enddarm (Abb. 3.19).

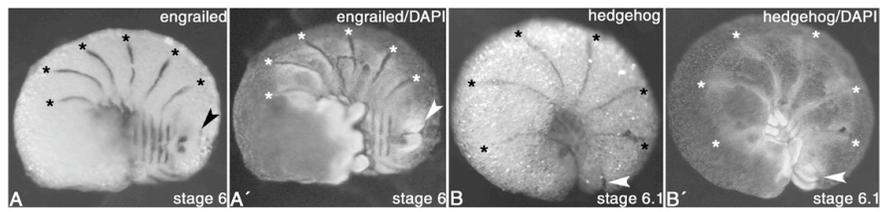
**Abb. 3.7** Expression von *engrailed* in *Glomeris* Embryos. Dorsoventraler Unterschiede im Expressionsprofil. **A** Stadium 3. **B** Stadium 4. Pfeilköpfe deuten auf de novo *engrailed* Expression in den Lateralplatten der vorderen Rumpsegmente. Pfeil deutet auf Expression in der Wachstumszone. Stern deutet Expression im Proktodäum an. **C** Stadium 5. Expression von *engrailed* erscheint im gemeinsamen dorsalen Auswuchs von mx und pmx (schwarze Pfeilköpfe). Expression im ventralen Rumpsegment 6 (T6) hat keine dorsale Entsprechung (Pfeil). Pfeilkopf deutet auf dynamische Expression in ventralen wie dorsalen Geweben der Wachstumszone. **c** Stadium 5. Ausschnitt des Embryos aus C. Der ursprünglich durchgängige *engrailed*-Streifen in T5 trennt sich in einen ventralen und einen dorsalen Streifen (Pfeilkopf). **A'-c'** Zu A-c korrespondierende DAPI Färbung. **A'** Pfeilköpfe deuten auf beginnende auswachsende Lateralplatten. Pfeil deutet auf durchgängige dorso-ventrale *engrailed* Expression in der Wachstumszone. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



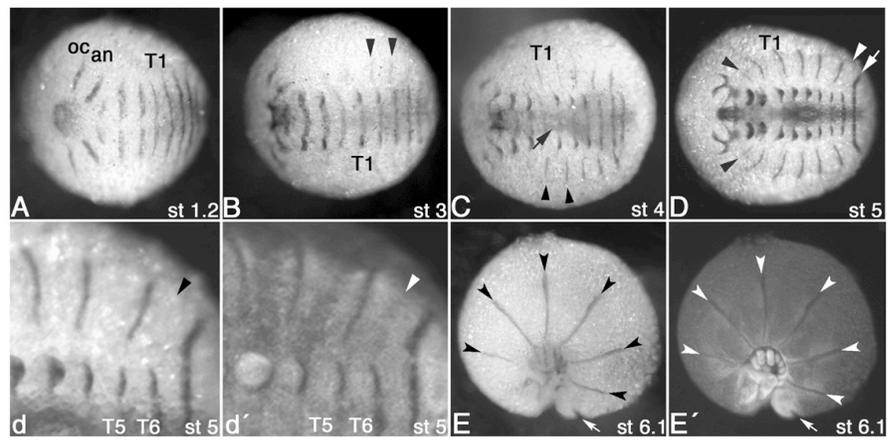
**Abb. 3.7**

**Abb. 3.8** Expression von *engrailed* und *hedgehog* ist mit der Bildung der Tergitgrenzen korreliert. **A** Stadium 6. *engrailed* Expression. Sterne deuten Tergitgrenzen bzw. *engrailed* Expression an. Pfeil deutet auf *engrailed*-Streifen dorsal des Proktodäums. **B** Stadium 6.1. *hedgehog* Expression. Sterne und Pfeil wie in A. **A' und B'** Zu A und B korrelierende DAPI Färbung.

**Abb. 3.10** Expression von *hedgehog* in älteren *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 1.2. **B** Stadium 3. Pfeilköpfe deuten auf beginnende dorsale Expression. **C** Stadium 4. Pfeilköpfe deuten auf Expression in den Lateralplatten. Pfeil deutet auf fehlende segmentale Expression in älteren (anterioren) Segmenten. **D** Stadium 5. Schwarze Pfeilköpfe deuten auf Expression in den gemeinsamen dorsalen Auswüchsen von mx und pmx. Dorsale Entsprechung der ventralen Expression von T6 fehlt (weißer Pfeilkopf). Zu T7 korrespondierende Expression in der Wachstumszone ist ventral und dorsal durchgehend (Pfeil). **d** Stadium 5. Gezeigt ist ein Ausschnitt aus D. Pfeilkopf wie weißer Pfeilkopf in D. **E** Stadium 6.1. Pfeilköpfe deuten auf dorsale Expression. Pfeil deutet auf *hedgehog* Streifen dorsal zum Proktodäum. **d' und E'** Zu d und E korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

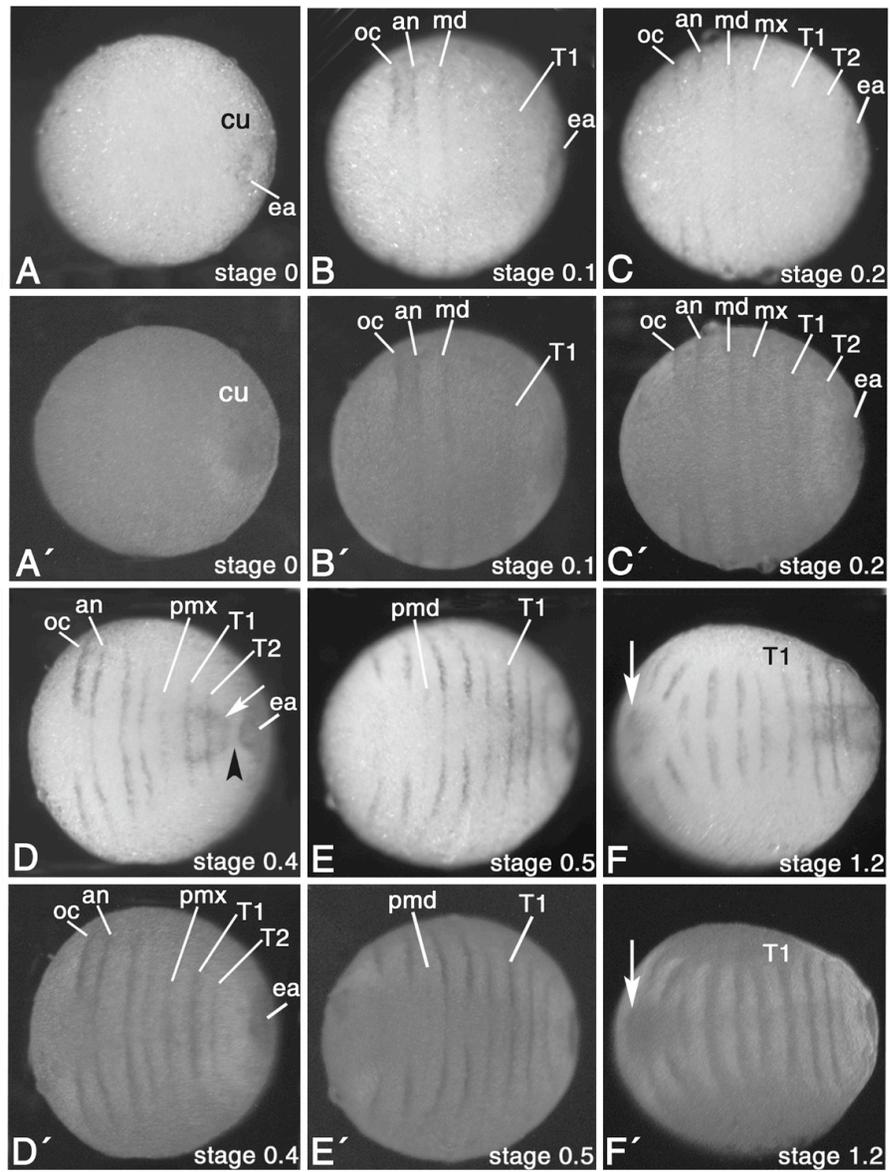


**Abb. 3.8**



**Abb. 3.10**

**Abb. 3.11** Expression von *hedgehog* in jungen Entwicklungsstadien von *Glomeris*. **A** Stadium 0. **B** Stadium 0.1. **C** Stadium 0.2. **D** Stadium 0.4. Pfeilkopf deutet auf fehlende Expression im Bereich zwischen Mittel- und Enddarm. **E** Stadium 0.5. **F** Stadium 1.2. Pfeil deutet auf Expression in den Anlagen des Vorderdarms. **A'-F'** Zu A-F korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.11**

**Abb. 3.14** Expression von *wingless* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.1. **B** Stadium 0.2. Expression teilt sich in eine anteriore (Pfeil) und eine posteriore (Stern) Domäne auf. Klammer umfasst die Anlagen des Enddarms (ea). **C** Stadium 0.5. Pfeil deutet auf posteriore Expression. Pfeilkopf deutet auf das Primordium des md. **c** Stadium 0.5. Ausschnitt aus C. Posteriore Ansicht. Stern wie Pfeil in C. **D** Stadium 1. Pfeil wie in C. **E** Stadium 1.1. Weißer Pfeil wie in C. Schwarzer Pfeil deutet auf das pmd. **F** Stadium 1.2. Pfeil wie in C. **f** Stadium 1.2. Ausschnitt (Balken in F') des Embryos aus F/F'. Klammer umreißt ein Segment. Sterne deuten *wingless* Expression an. **G** Stadium 4. Pfeil deutet auf fehlende äußerst ventrale Expression. **H** Stadium 5. Pfeilköpfe deuten auf segmentale Expression in neu gebildeten (posterioren) Segmenten. **I** Stadium 6. Pfeilköpfe wie in H. **A'** und **F'** Zu A und F korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

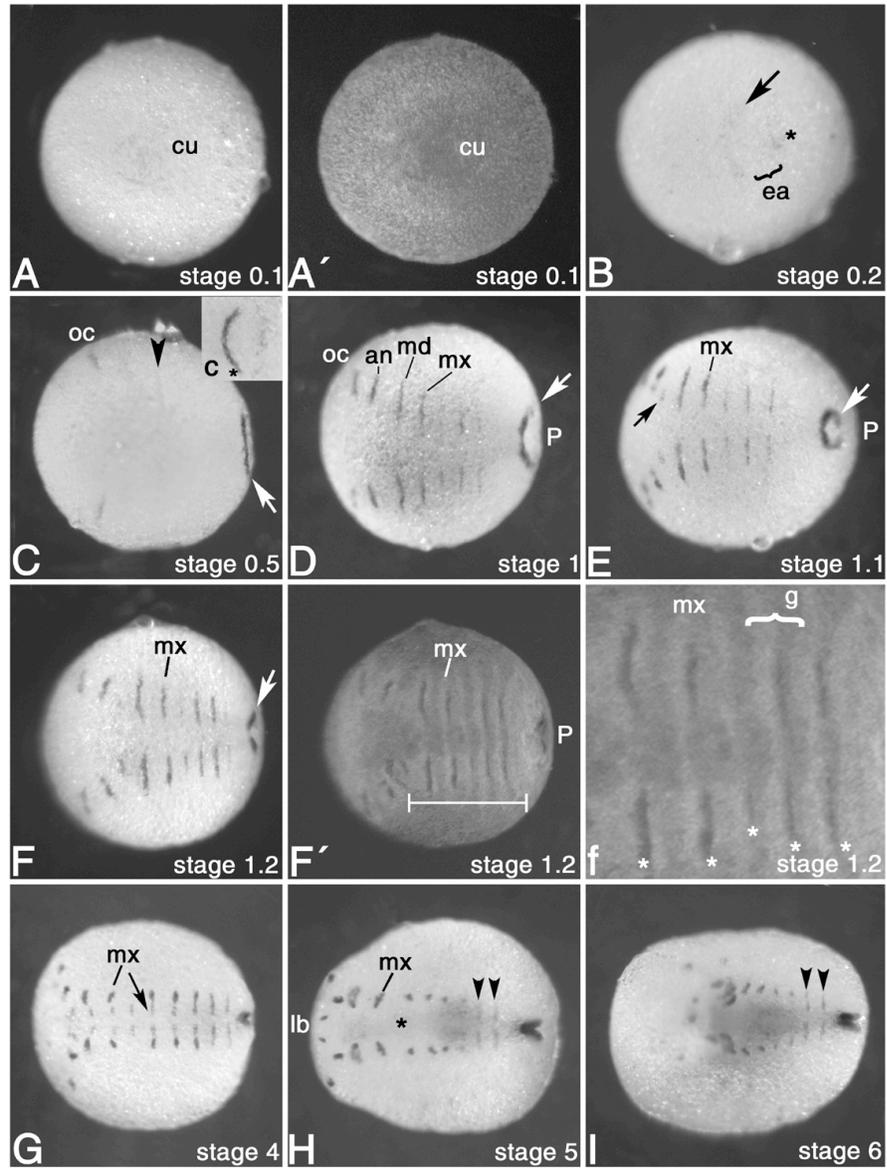
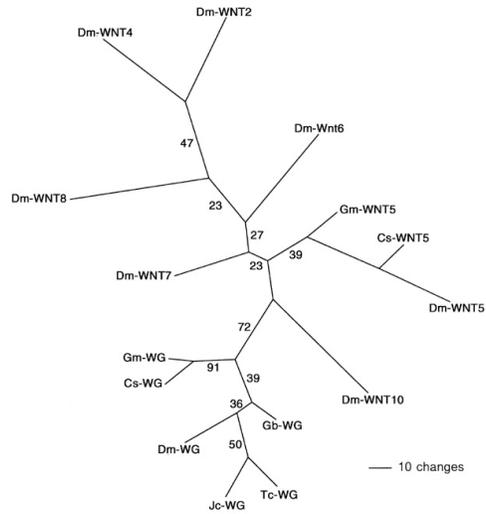


Abb. 3.14

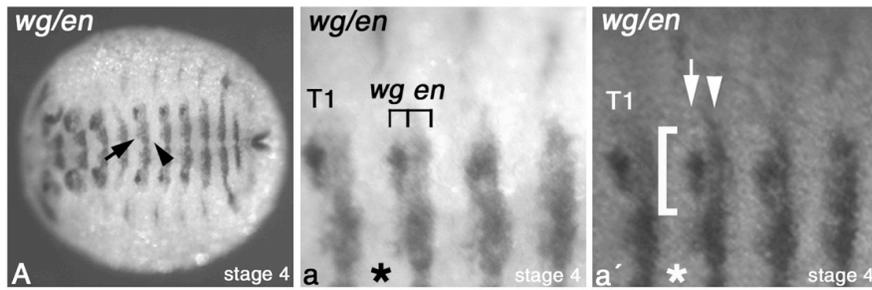
**Abb. 3.13** Phylogenetische Analyse der WNT Proteine aus *Drosophila* und anderen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.15** Coexpression von *wingless* und *engrailed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 4. Pfeil deutet auf *wingless* Expression. Pfeilkopf deutet auf *engrailed* Expression. **a** Stadium 4. Gezeigt ist ein Ausschnitt aus A. Stern deutet fehlende äußerst ventrale *wingless* Expression an. **a'** Zu a korrespondierende DAPI Färbung. Pfeil und Pfeilkopf wie in A. Klammer umfasst ein Laufbein. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

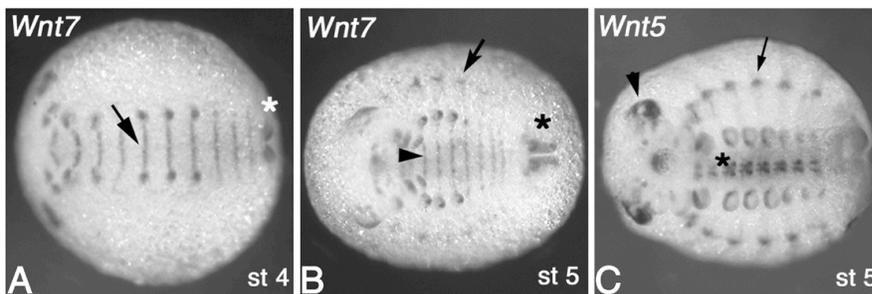
**Abb. 3.16** Expression von *Wnt7* und *Wnt5* in *Glomeris* Embryos. **A** *Wnt7* Expression im Stadium 4. Pfeil deutet auf ventral durchgehende segmentale Expression. Stern deutet Expression in den Analklappen an. **B** *Wnt7* Expression im Stadium 5. Pfeil deutet auf Expression in den Primordien des Dorsalgefäßes. Pfeilkopf deutet auf kontinuierlich vorhandene Expression in älteren (anterioren) Segmenten. Stern wie in A. **C** *Wnt5* Expression im Stadium 5. Pfeilkopf deutet auf das Gehirn. Pfeil deutet auf die Primordien des Dorsalgefäßes. Stern deutet neuroektodermale Expression an.



**Abb. 3.13**



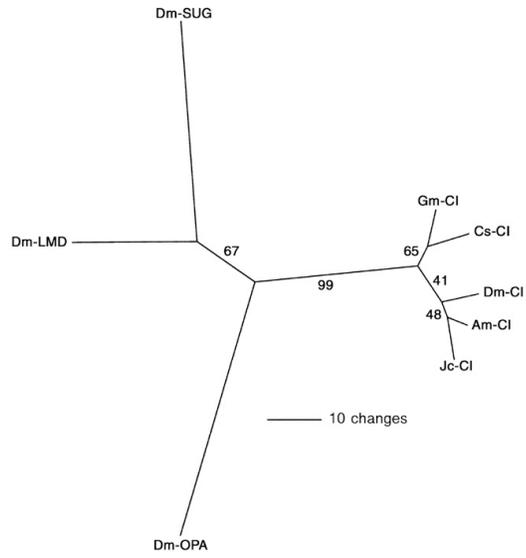
**Abb. 3.15**



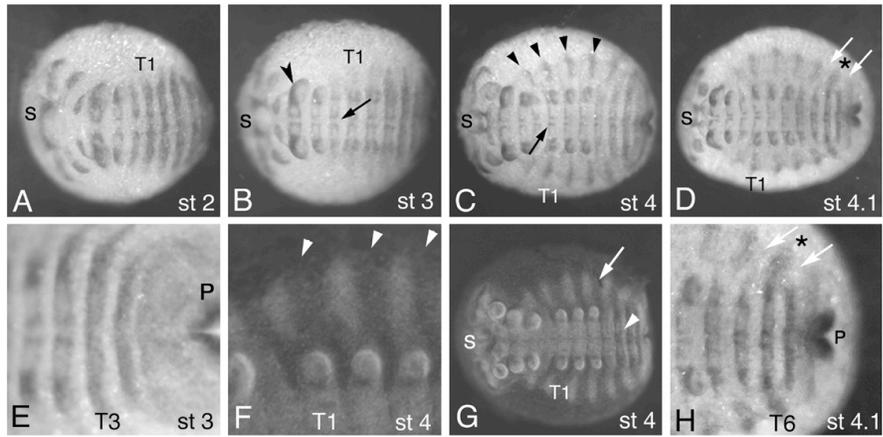
**Abb. 3.16**

**Abb. 3.18** Phylogenetische Analyse von C2H2 Zinfinger Proteinen mit Verwandtschaft zu CI aus diversen Arthropoden und nahe verwandte Gene aus dem Proteom von *Drosophila*. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.19** Expression von *cubitus interruptus* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 2. **B** Stadium 3. Pfeilkopf deutet auf Expression im anterioren Teil der Mandibel. Pfeil deutet auf schwächer werdende anteriore Expression in den Segmenten. **C** Stadium 4. Pfeil deutet auf Neuroektoderm. Pfeilköpfe deuten Expression im posterioren Teil der dorsalen Auswüchse. **D** Stadium 4.1. Zur ventralen Expression in T5 und T7 fehlen die dorsalen Entsprechungen (Pfeile). Segmentaler Streifen von T6 ist ventral und dorsal durchgängig (Stern). **E** Stadium 5. Großaufnahme des Rumpfs. **F** Stadium 4. Großaufnahme der dorsalen Rumpfauswüchse. DAPI Färbung. Pfeilköpfe deuten auf Expression im posterioren Teil der dorsalen Segmente. **G** Zu C korrespondierende DAPI Färbung. Pfeil weist auf dorsale Expression. Pfeilkopf deutet auf ventrale Expression. **H** Stadium 4.1. Ausschnitt aus D. Großaufnahme des posterioren Rumpfs und der Wachstumszone. Pfeile und Stern wie in D. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.18**



**Abb. 3.19**

#### 3.3 Die Hox-Gene und das ParaHox-Gen *caudal*

Außerhalb der Homöodomäne zeigen die Orthologen der einzelnen Hox-Gene verschiedener Organismen wenig Sequenzähnlichkeit untereinander. Daher basiert die in dieser Arbeit präsentierte phylogenetische Untersuchung auf dem Vergleich der Homöodomänen von neun der zehn Hox-Gen Orthologen aus *Lithobius atkinsoni* (Myriapoda; Chilopoda), *Cupiennius salei* (Chelicerata) und *Drosophila melanogaster* (Insecta) mit den Fragmenten aus *Glomeris* (Abb. 3.20). Der Einbezug der orthologen Sequenzen des *fushi tarazu* Gens aus *Drosophila* macht an dieser Stelle keinen Sinn, da diese mit nicht statistischer Signifikanz zugeordnet werden (Baum nicht gezeigt). Gleiches gilt für die abgeleiteten Gene *zerknüllt* (*zen*) bzw. *bicoid* (*bcd*) aus *Drosophila*. Im Fall von *fushi tarazu* ist es daher schwer, die Orthologie der aus *Glomeris* und *Cupiennius* isolierten Genfragmente mittels des Sequenzvergleiches zu belegen. Mehr Anlass zur Orthologisierung gibt in diesem Fall der Vergleich der Expression von *fushi tarazu* in *Glomeris* und *Cupiennius* (s.u.). Zwar ist es ein unter normalen Umständen unzulässiger Ringschluss, wenn man die Expression zur Orthologisierung heranzieht, um dann die das betreffende Gen exprimierenden Gewebe zu homologisieren, aber im Fall von *fushi tarazu* bleibt keine andere Möglichkeit. Dem aufmerksamen Beobachter mag nicht entgangen sein, dass die phylogenetische Analyse auch die Orthologen des Gens *caudal* beinhaltet (Abb. 3.20). Auf Grund der nahen Verwandtschaft des ParaHox-Gens *caudal* zu den Hox-Genen erscheint es als sinnvoll, die Orthologie dieses Gens zusammen mit den Hox-Genen zu analysieren.

Alle untersuchten Fragmente der Hox- bzw. ParaHox-Gruppe fallen in der phylogenetischen Analyse mit den entsprechenden Genen aus *Drosophila*, *Cupiennius* und *Lithobius* zusammen. Die statistischen Signifikanzen sind: *labial* (RV 88), *proboscipedia* (RV 88), *Hox3* (RV 74), *Deformed* (RV 83), *Sex combs reduced* (RV 49), *Antennapedia* (RV 92), *Ultrabithorax* (RV 96), *abdominal-A* (RV 98), *Abdominal-B* (RV 94) und *caudal* (RV77). Die Orthologie der aus *Glomeris* isolierten Fragmente zu den Hox-Genen bzw. dem ParaHox-Gen *caudal* zu den entsprechenden Vertretern aus anderen Arthropoden ist somit hinreichend gesichert.

Die aus *Glomeris* isolierten Bereiche der Hox-Gene sind in Abb. 3.21 schematisch zusammengefasst.

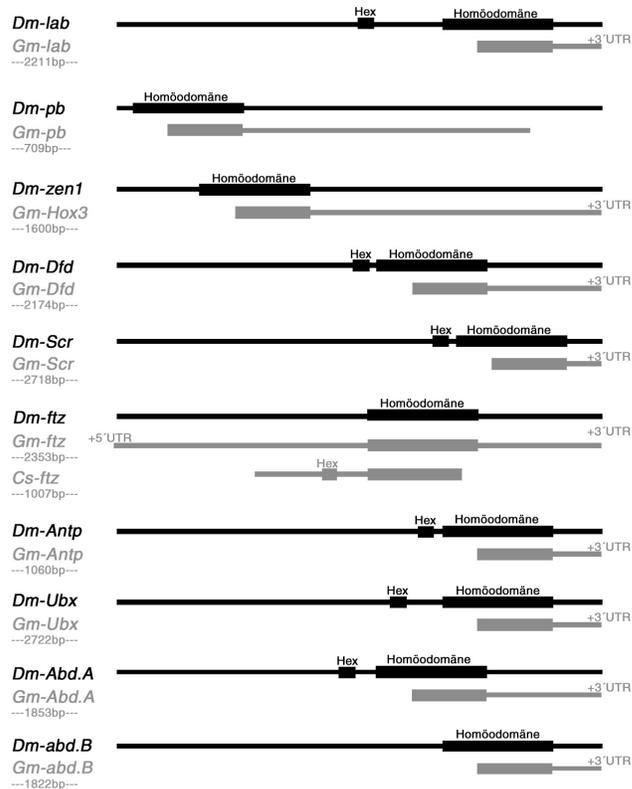


Abb. 3.21 Schematische Darstellung der proteinkodierenden Bereiche der *Drosophila* Hox/ParaHox-Gene und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

### 3.3.1 Die Expression von *Glomeris labial (lab)*

Erste Expression zeigt sich im Stadium 0.4. Zu diesem Zeitpunkt ist *labial* im gesamten Primordium des Prämandibular- und Mandibularsegmente deutlich exprimiert (Abb. 3.22A, Klammer). Schwächer exprimiert ist *labial* in den beiden dazu posterior liegenden Segmenten, dem Maxillar- und dem Postmaxillarsegment, wobei Streifen stärkerer Expression erkennbar sind, die zum posterioren Teil des jeweiligen Segments zu gehören scheinen (Abb. 3.22A). Die beschriebene Expression bleibt während der gesamten Embryonalentwicklung erhalten. Im Stadium 3 ist der Unterschied in der Stärke der Expression klar erkennbar. Während *labial* im Prämandibular- und Mandibularsegment stark exprimiert wird, ist die Ausprägung des Gens im Maxillar- und Postmaxillarsegment viel geringer (Abb. 3.22B/b). Transkripte von *labial* sind nicht auf die Segmente beschränkt, sondern auch in den Extremitäten der jeweiligen Segmente zu finden. Ferner scheint es, als

würden Teile des Prämandibularsegments, welche *labial* exprimieren, invaginieren und einen Teil des Stomodäums oder Pharynx bilden (Abb. 3.22b, Stern).

#### 3.3.2 Die Expression von *Glomeris proboscipedia* (*pb*)

Wie schon für das Gen *labial* beschrieben ist auch *proboscipedia* im Primordium des Prämandibular- und Mandibularsegments exprimiert (Abb. 3.23A/B, Klammer). Im Gegensatz zur Expression von *lab* zeigt sich schwächere Expression von *pb* lediglich im Maxillarsegment (Abb. 3.23A/B). In späteren Stadien (Abb. 3.23C/D) wird deutlich, dass die anfänglich schwächere Expression im Maxillarsegment an Intensität zugenommen hat, jedoch im Gegensatz zu der im Mandibularsegment auf den ventralen Bereich des Segments beschränkt ist und nicht in den Maxillen selber exprimiert ist (Abb. 3.23C/D, Pfeil). Die Expression in den Mandibeln beschränkt sich augenscheinlich auf die innere Zellschicht, das Mesoderm (*mes*), während die äußere Zellschicht, das Ektoderm (*ect*), ungefärbt bleibt (Abb. 3.23D). Die Expression in den beschriebenen drei Kopfsegmenten bleibt während der gesamten beobachteten Embryonalentwicklung erhalten. Zusätzliche Expression in anderen Segmenten tritt nicht auf.

#### 3.3.3 Das *Glomeris Hox3* Gen

Vom Gen *Hox3* aus *Glomeris* konnten mehrere Varianten isoliert werden. Die erhaltenen Sequenzabschnitte variieren in der Länge. Es handelt sich dabei um das Vorhandensein oder Fehlen einiger Basen innerhalb der proteinkodierenden Sequenz. Der Leserahmen bleibt davon unverändert (Abb. 3.24). Es ist also anzunehmen, dass die generelle Funktion des resultierenden Genprodukts aller Varianten erhalten bleibt, wobei jedoch die Möglichkeit besteht, dass die verschiedenen Varianten graduelle Unterschiede in der Funktion besitzen. Eine weitere Besonderheit des Gens *Hox3* in *Glomeris* ist die Lage des Stop-Kodons in unterschiedlichen Klonen. Die Sequenz der Klone 20 und 23 kodiert für ein verkürztes Protein, da das erste Stop-Kodon im Leserahmen durch Punktmutationen weiter 5' liegt (Abb. 3.24B/C).

## Kapitel 3: Ergebnisse

---

A)

L S P P P P P A P A P P R F S H P Q N R Q Q Q Q Q Q Q H  
**K17** TTGTCACCACCACCACCACCAGCACCAGCACCACCTCGCTTCTCCCACCCACAGAATCGTCAGCAGCAGCAGCAG-----CAT  
**K20** TCGTCACCACCACCACCACCAGCACCAGCACCACCTCGCTTCTCCCACCCACAGAATCGTCAGCAGCAGCAGCAG-----CAT  
**K43** TTGTCACCACCACCACCACCA-----GCACCACCTCGCTCCTCCCACCCACAGAATCGTCAGCAGCAGCAG-----CAT  
**K23** TTGTCACCACCACCACCACCA-----GCACCACCTCGCTCCTCCCACCCACAGAATCGTCAGCAGCAGCAG-----CAT  
**K22** TTGTCACCACCACCACCACCA---CCAGCACCACCTCGCTCCTCCCACCCACAGAATCGTCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAT

B)

Alternative Stop Kodons

**K17** CTTGCAGCAGCCAGACTGCGA  
**K20** CTTGCAG**TAG**CCAGACTGCGA  
**K43** CTTGCAGCAGCCAGACTGCGA  
**K23** CTTG**TAG**CAGCCAGACTGCGA  
**K22** CTTGCAGCAGCCAGACTGCGA

C)

Universelles Stop-Kodon

**K17** TATTT**TAAG**TCGAAA  
**K20** TATTT**TAAG**TCGAAA  
**K43** TATTT**TAAG**TCGAAA  
**K23** TATTT**TAAG**TCGAAA  
**K22** TATTT**TAAG**TCGAAA

Abb. 3.24 Vergleich der Sequenzunterschiede verschiedener *Glomeris Hox3* Klone. A, Variationen im A/P (Alanin/Prolin) und Q (Glutamin) Bereich des ORF (pos247-330 von K17); B, Alternatives Stop-Kodon (pos360-380 von K17); C, Universelles Stop-Kodon (pos480-493 von K17); K, Klonnummer.

### 3.3.4 Die Expression von *Glomeris Hox3*

Bereits in einem frühen Stadium (Stadium 0.1) erkennt man Expression im Prämandibularsegment (pmd) (Abb. 3.25A). Diese anfänglich das gesamte Segment umspannende Expression ist im Stadium 1 noch erkennbar (Abb. 3.25B), in späteren Stadien der Embryonalentwicklung jedoch auf zwei punktförmige Regionen im lateralen Bereich des Prämandibularsegments reduziert (Abb. 3.25C/c). Auffällig ist, dass dies der Ort ist, wo die zweiten Antennen, wenn sie denn vorhanden wären, entspringen müssten. Im Stadium 4 ist *Hox3* nicht mehr im Prämandibularsegment exprimiert (Abb. 3.25D). Dafür erscheint zusätzliche Expression in der Wachstumszone (gz) (Abb. 3.25D, Pfeilkopf). Diese bleibt bis mindestens zum Entwicklungsstadium 6.1 erhalten (Abb. 3.25E).

### 3.3.5 Die Expression von *Glomeris Deformed (Dfd)*

Die anteriore Expression ist während der gesamten Embryonalentwicklung auf die drei gnathalen Kopfsegmente beschränkt (Abb. 3.26). Dabei erscheint die Intensivität der Expression im Postmaxillarsegment gegenüber der im Mandibularsegment und der im Maxillarsegment vermindert zu sein (Abb. 3.26). Die Expression in der Mandibel beschränkt sich auf den proximalen Bereich. Die Spitze bleibt frei von Transkripten, was besonders in späteren Stadien gut zu erkennen ist (Abb. 3.26B-E, speziell Stern in E). Innerhalb der Mandibel hat es ferner den Eindruck, als sei die Expression im anterioren Ektoderm stärker als die im posterioren (Abb. 3.26C/E, Pfeil). Im Mesoderm der Mandibel scheint *Deformed* nicht exprimiert zu sein (vgl. Abb. 3.23).

Neben der gnathalen Expression zeigt sich auch eine Akkumulation von Transkripten in der Wachstumszone (gz) (Abb. 3.26A/B/D), ähnlich wie es bereits in älteren Stadien für *Hox3* gezeigt werden konnte. Im Unterschied zur Expression von *Hox3* erscheint die posteriore Expression in der Wachstumszone hier jedoch schon sehr viel früher (Abb. 3.26A, Pfeilkopf). Eine leichte Färbung in den übrigen Segmenten (Bereich posterior einschließlich des ersten Rumpfsegments) könnte Ausdruck schwächster Expression sein oder Hintergrundfärbung darstellen (Abb. 3.26B-E). Letzteres erscheint jedoch als weniger wahrscheinlich, da eine solche Hintergrundfärbung dann auch in den prägnathalen Segmenten zu erkennen sein müsste. Diese sind aber zweifelsohne frei von jeglicher Färbung (Abb. 3.26), sodass die anteriore Expressionsgrenze von *Deformed* äußerst scharf erscheint.

### 3.3.6 Die Expression von *Glomeris Sex combs reduced (Scr)*

Die anteriore Expressionsgrenze liegt zwischen dem Prämandibular- und dem Mandibularsegment. Während der gesamten Embryonalentwicklung ist *Sex combs reduced* in allen Segmenten posterior zu dieser Grenze exprimiert (Abb. 3.27A-C), wobei die Grenze äußerst scharf verläuft (Abb. 3.27A-D, T-Linie). Die ursprünglich gleichförmige Expression (Abb. 3.27A) erscheint in späteren Stadien (z.B. Stadium 2) (Abb. 3.27B) unregelmäßig, was auf

die Morphologie der Segmente zurückzuführen ist. Bereiche dichteren Gewebes weisen naturgemäß bei gleichmäßig intensiver Färbung ein optisch verstärktes Signal auf. Allerdings ist bereits im Stadium 2 zu erahnen, dass *Scr* im Bereich des Postmaxillar-segments und des ersten Rumpfsegments (Abb. 3.27B), sowie in der Wachstumszone (Abb. 3.27B, Pfeilkopf) stärker exprimiert ist. Deutlich ist diese verstärkte Expression in Embryos des Stadiums 5 zu erkennen (Abb. 3.27C). Außerdem zeigt sich hier eine erhöhte Aktivität im sich entwickelnden zentralen Nervensystem (Abb. 3.27C, Stern). Im Stadium 1.2. erscheint kurzzeitig schwache Expression in Teilen der Analklappen (av) (Abb. 3.27E, Pfeile).

#### 3.3.7 Das *Glomeris fushi tarazu* Gen

Das Expressionsmusters (Kap. 3.3.8) und der Vergleich der aus *Glomeris* isolierten DNA-Sequenz mit *ftz* Orthologen aus anderen Arthropoden läßt es sehr wahrscheinlich erscheinen, dass es sich bei diesem um ein *fushi tarazu* Ortholog handelt (Abb. 3.28).

Es stellte sich heraus, dass die kurze, konservierte, Hexapeptid genannte Domäne, welche charakteristisch für Hox- und ParaHox-Gene aller bisher untersuchten Metazoen ist und gewöhnlich N-terminal zur Homöodomäne liegt, im *Glomeris ftz* Gen fehlt (Abb. 3.21). Dieser Umstand scheint jedoch kein Regelfall für die Hox-Gene in *Glomeris* zu sein, da zumindest zwei der zehn Hox-Gene (*labial* und *Sex combs reduced*) mit Hilfe eines Primers isoliert worden sind, der dem Hexapeptid entspricht. Darauf beruht die Annahme, dass zumindest in *lab* und *Scr* ein Hexapeptid vorhanden sein muss. Auf die gleiche indirekte Weise fußt ebenfalls die Annahme, dass auch in der DNA-Sequenz des *ftz* Orthologs eines anderen Myriapoden, nämlich dem Chilopoden *Ethmostigmus rubripes*, das Hexapeptid vorhanden ist (Grenier et al., 1997). Das Hexapeptid fehlt im *fushi tarazu* Ortholog der Taufliege *Drosophila melanogaster*, was mit einer fehlenden Interaktion mit *extradenticle*, einem essentiellen Cofaktor der Funktion als Hox-Gen, in Verbindung gebracht wird (Peifer und Wieschaus, 1990; Mann und Chan., 1996; Löhr et al., 2001). Somit stellt sich für *Glomeris* die Frage, ob das Hexapeptid hier tatsächlich für die Interaktion mit Cofaktoren wie *extradenticle* obligatorisch ist, bzw. ob diese Interaktion in *Glomeris* für die Funktion als Hox-Gen essentiell ist.

```

      . ** . ***** . ***** . * . * . . ***** . ** . . * . * . ***** . ***** . * . . .
Gm-FTZ  RKRTRQTYTRFQTLLELEKEFHNSRYLNRRRRRIEIAATSLTLTERQVKIWFQNRMRMKAKREP
La-FTZ  -F----T-----HA-G-----I-----K-N
Cs-FTZ  P--S-----Y-----F-Q--T-----HT-G-----I-----K-N
Dm-FTZ  S--T-----Y-----F---IT-----D--NA-S-S-----S-KDR

```

Abb. 3.28 Sequenzvergleich von Teilen der Homöodomäne der FTZ Orthologen aus *Glomeris*, *Lithobius*, *Cupiennius* und *Drosophila*.

#### 3.3.8 Die Expression von *Glomeris fushi tarazu* (*ftz*)

Die anteriore Grenze der Expression liegt zwischen dem Maxillar- und dem Postmaxillarsegment (Abb. 3.29), wobei in älteren Stadien mit beginnendem Auswachsen der Maxillen deutlich wird, dass auch der posteriore Teil der Maxillen (und damit wahrscheinlich auch des dazugehörigen Maxillarsegments) *fushi tarazu* exprimiert (Abb. 3.29D/E, Pfeil). Für jüngere Stadien kann dies nicht mit Sicherheit gezeigt, allenfalls angenommen werden (Abb. 3.29A-C). In *Glomeris* exprimieren alle Segmente posterior zu dieser Grenze *fushi tarazu*. Im Stadium 0.4 erscheint die Expression von *ftz* zweigeteilt. Dies könnte am Übergang der Regio Germinalis in die Segmente der Wachstumszone liegen, der mit einem Bereich schwächerer Expression übereinstimmt (Abb. 3.29A, Stern). Bereits in diesem frühen Stadium ist die Expression von *ftz* in der Wachstumszone (gz) deutlich verstärkt (Abb. 3.29A-F). Dieses Expressionsprofil überdauert alle embryonalen Stadien. Expression in den Anlagen des Proktodäums und in den Analklappen sind zu keinem Zeitpunkt zu erkennen (Abb. 3.29A-F, Pfeilkopf in A). Im Stadium 1.1 ist die anfängliche Zweiteilung der Expression verschwunden. Dafür erscheinen drei segmentale Streifen erhöhter Expression in den ersten drei Rumpfsegmenten (Abb. 3.29B, Sterne). Im nachfolgenden Stadium 1.2 sind diese Streifen nicht mehr zu sehen (Abb. 3.29C). Dafür wird zu diesem Zeitpunkt die Schärfe der anterioren Expressionsgrenze deutlich (T-Linie). In weiterentwickelten Embryos zeigt sich zu beiden Seiten der ventralen Mittellinie vergleichsweise starke Expression im zentralen Nervensystem (ZNS) (Abb. 3.29E/F, Pfeil in F). Im Gegensatz zu der Expression von *Scr* ist diese auf bestimmte Bereiche des ZNS beschränkt. Posteriore Bereiche der

dorsalen Segmente exprimieren *ftz* im Stadium 5 stärker als anteriore (Abb. 3.29E, Pfeilköpfe). Über dies hinaus scheint die anteriore Grenze der Expression in den dorsalen Segmenten im Vergleich zu der in den ventralen Segmenten nach posterior verschoben zu sein (Abb. 3.29D/E). In späteren Stadien reduziert sich die dorsale Expression zunehmend (Abb. 3.29F), wohingegen die Expression im ZNS in ihrer ursprünglichen Intensivität erhalten bleibt (Pfeil).

#### 3.3.9 Das *Cupiennius fushi tarazu* Gen

Vorausgegangene Studien zur Expression des *ftz* Orthologs in einem Cheliceraten sind für eine genauere vergleichende Analyse unzureichend, da die gezeigten Abbildungen zu klein sind (Telford, 2000). Außerdem lagen keine erschöpfenden Sequenzinformationen für den N-terminalen Bereich vor. Aus diesen Gründen machte es Sinn das Gen *ftz* aus der Spinne *Cupiennius* zu isolieren und dessen Expression zu dokumentieren.

Anders als für *Glomeris* beschrieben, ist hier das Hexapeptid (PLYPWM) vorhanden (Abb. 3.21; siehe Anhang).

#### 3.3.10 Die Expression von *Cupiennius fushi tarazu* (*ftz*)

Es konnte keine Expression in den jüngsten zur Verfügung stehenden Embryos (drei opisthosomale Segmente gebildet) nachgewiesen werden. Erst in einem Stadium der Entwicklung, in dem bereits sieben opisthosomale Segmente gebildet worden sind, ist die Expression von *Cs-ftz* zu erkennen (Abb. 3.30A-C). Die vordere Grenze der Expression ist durch Pfeilköpfe angedeutet und liegt zwischen den ersten beiden laufbeintragenden Segmenten (L1 und L2). Die posteriore Grenze ist nur schwer auszumachen, liegt aber wohl an der Intersegmentalfurche zwischen L4 und O1 (Abb. 3.30C). Durch den Vergleich der DAPI Kernfärbung im selben Embryo wurde ersichtlich, dass die Expression von *Cs-ftz* mit den Invaginationstellen im Neuroektoderm übereinstimmt (Stollewerk et al., 2001). Dies ist ein deutlicher Hinweis auf eine mögliche Funktion während der Neurogenese. Eine durchgehende Expression wie sie anfänglich in der Milbe (Telford, 2000) oder in *Glomeris*

(siehe Kap. 3.3.8) zu beobachten ist, ist für die Spinne nicht nachweisbar. Genauere Betrachtung des Opisthosomas ließ lediglich eine Expression in einigen wenigen Zellen erkennen, wobei auf jeder Seite der ventralen Mittellinie nur eine Zelle/Zellgruppe pro Hemisegment *ftz* exprimiert (Abb. 3.30D, Pfeile). In späteren Stadien, in denen der Rückenschluss bereits stattgefunden hat, zeigt sich ein komplexes Expressionsprofil in den hinteren drei Laufbeinpaaren (Abb. 3.30E-G). Hierbei erscheint die Expression in L2 später und weniger intensiv als in L3 und L4 (Abb. 3.30E/F). Deutlich ist ein Ring zu erkennen, der dem Metatarsus zugehörig zu sein scheint (Abb. 3.30E-G, Pfeilköpfe). Die Expression im distalen Bereich der Beine ist diffus (Abb. 3.30F, Klammer). Möglicherweise ist ein zweiter Ring im Tarsus vorhanden. Die seitliche Ansicht eines Beins zeigt, dass die Expression im ventralen Gewebe stärker ausgeprägt ist als im dorsalen (Abb. 3.30G).

#### 3.3.11 Die Expression von *Glomeris Antennapedia (Antp)*

Wie schon die vorangegangenen Hox-Gene, ist *Antp* im posterioren Bereich des Embryos exprimiert. Das vorderste *Antp* exprimierende Segment ist das erste Rumpfsegment. Das Expressionsmuster ist anfänglich (in jungen Stadien) sehr heterogen. Die anteriore Grenze der Expression im ersten Rumpfsegment ist im Stadium 1 deutlich zu erkennen (Abb. 3.31A) und sorgt so für eine scharfe Abgrenzung zwischen *Antp* positivem und *Antp* negativem Gewebe (Abb. 3.31A-C, T-Linien, Pfeilköpfe in B'/C'). Bis auf einen Streifen ebenfalls stärkerer Expression (Abb. 3.31A, Pfeil) ist *Antp* vergleichsweise schwach im ersten Rumpfsegment exprimiert (Klammer). Die Expression in der Wachstumszone (gz) ist gegenüber der segmentalen Expression in diesem Stadium durch einen Streifen schwächerer Expression abgetrennt (Abb. 3.31A). Im Stadium 4 ist die Expression im posterioren Teil des ersten Rumpfsegments immer noch weniger deutlich als in den anderen Segmenten (Abb. 3.31B, Pfeil). Die anteriore Expression in diesem Segment bleibt erhöht (Pfeilkopf). Zumindest im ventralen Bereich des Embryos, der die Beine und das ZNS bildet, ist die Expression im folgenden Stadium 5 auch im ersten Rumpfsegment in gleicher Stärke wie in den übrigen *Antp* exprimierenden Segmenten zu erkennen (Abb. 3.31C). Lediglich in den dorsalen Regionen bleibt die Intensität der Expression in T1 hinter der in den anderen Segmenten zurück (Abb. 3.31C). Ob die ventrale Expression mit einer speziellen Aufgabe

im ZNS verknüpft ist, so wie es im Fall von *Scr* und *ftz* angenommen werden muss, ist hier zumindest fraglich, denn die Expression ist hier homogener (Abb. 3.31C).

Transkripte von *Antennapedia* finden sich nicht im Proktodäum (P) oder im posterioren Teil der Analklappen (av), im anterioren Teil dieser scheint *Antp* jedoch aktiv zu sein (Abb. 3.31B). Im Stadium 5 finden sich Transkripte im Gewebe der Innenseite der Analklappen (av), die zu diesem Zeitpunkt bereits nach innen eingeklappt sind (Abb. 3.31C, Stern).

#### 3.3.12 Die Expression von *Glomeris Ultrabithorax (Ubx)*

Das Gen *Ultrabithorax* ist in jungen Embryonalstadien in den posterioren Rumpfsegmenten einschließlich des dritten Rumpfsegments exprimiert. Im zweiten Rumpfsegment sind zu diesem Zeitpunkt (Stadium 1.2) keine Transkripte von *Ubx* nachweisbar (Abb. 3.32A). Später exprimiert auch das zweite Rumpfsegment *Ubx* (Abb. 3.32B/C). Die Expression erscheint in den dorsalen Segmenten gleichmäßiger als in den ventralen, wo nur bestimmte Zellen entlang der ventralen Mittellinie eine verstärkte *Ubx* Transkription aufweisen (Abb. 3.32B/C, Pfeile). Es ist anzunehmen, dass diese Expression mit einer Funktion von *Ubx* während der Differenzierung bestimmter Bereiche im ZNS einhergeht. Im Stadium 3 scheint die anteriore dorsale Expressionsgrenze im Vergleich zur ventralen nach posterior versetzt zu sein (Abb. 3.32B). In späteren Stadien ist dies nicht mehr der Fall (Abb. 3.32C). Die anteriore Grenze der Expression ist wie bei den meisten anderen untersuchten Hox-Genen in *Glomeris* ventral wie dorsal äußerst deutlich gegen solche Zellen abgegrenzt, die das entsprechende Gen nicht exprimieren (Abb. 3.32B/C, T-Linie, Pfeilkopf). Die Expression von *Ubx* in den Beinen beschränkt sich auf den proximalen Teil (Abb. 3.32B/C, Stern in C). Der Enddarm (P), sowie der posteriore Teil der Analklappen (av) bleiben frei von Expression (Abb. 3.32). Der anteriore Teil der Analklappen hingegen exprimiert *Ubx*.

#### 3.3.13 Die Expression von *Glomeris Abdominal-A (Abd-A)*

Wie im Fall von *Ultrabithorax* verschiebt sich die anteriore Expressionsgrenze im Laufe der Embryonalentwicklung. Anfänglich ist *abd-A* in den posterioren Rumpfsegmenten

einschließlich des vierten Rumpfsegments und der Wachstumszone (gz) exprimiert (Abb. 3.33A). Später ist auch im dritten Rumpfsegment Expression nachweisbar (Abb. 3.33B/C). Diese ist zumindest im ventralen Bereich deutlich zu erkennen (Pfeil). Die dorsale Expression ist nach posterior verschoben (Abb. 3.33B). Die anteriore Expressionsgrenze ist dorsal wie ventral weniger deutlich, als für die anderen bereits beschriebenen Hox-Gene (Abb. 3.33, ventral Pfeile). Im Stadium 6 ist eine deutlich verstärkte Expression im ZNS zu erkennen (Abb. 3.33C). Im Proktodäum (P) und in den Analklappen (av) sind keine Transkripte nachweisbar (Abb. 3.33A-C).

#### 3.3.14 Die Expression von *abdominal-B* (*abd-B*)

Im Gegensatz zu allen übrigen Hox-Genen aus *Glomeris* ist *abd-B* nicht zeitlich andauernd in bestimmten Segmenten exprimiert. Die Expression ist vielmehr auf die Wachstumszone und die Analklappen beschränkt, wo sie zeitlich andauernd ist (Abb. 3.34). Die früheste nachweisbare Expression zeigt sich dabei im Stadium 0.5 (Abb. 3.34A). In jüngeren Stadien konnte *abd-B* trotz langer Färbezeiten nicht nachgewiesen werden. In späteren Stadien scheint der Enddarm selbst *abd-B* zu exprimieren (Abb. 3.34C, Stern), wohingegen die Anlagen des Enddarms (ea) in Stadien vor der Invagination keine Expression von *abdominal-B* aufweisen (Abb. 3.34A). Dass es sich bei der Expression im Proktodäum um ein Artefakt handelt, das bei verlängerter Färbezeit auftreten kann, ist nicht völlig auszuschließen. Das Gen *abdominal-B* spielt eine Rolle während der Bildung der Genitalöffnungen in *Drosophila*, *Cupiennius* und Vertebraten (z.B. Damen und Tautz, 1999b). Eine Färbung im Bereich der Genitalöffnungen konnte nicht nachgewiesen werden, was daran liegen mag, dass *Glomeris* die Genitalöffnungen erst nach der Embryonalentwicklung ausbildet (Dohle, 1964).

### 3.3.15 Das *Glomeris caudal* Gen

Auf Grund der nahen sequenziellen (Abb. 3.35) wie auch funktionellen (z.B. Brooke et al., 1998; Minguillon und Garcia-Fernandez, 2002) Verwandtschaft des ParaHox-Gens *caudal* zu den Hox-Genen, soll dessen Expression an dieser Stelle beschrieben werden.

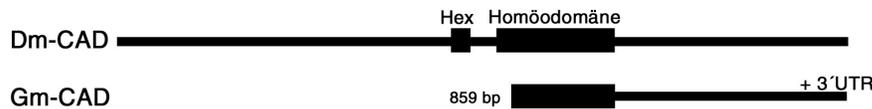


Abb. 3.35 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *caudal* in *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

### 3.3.16 Die Expression von *Glomeris caudal* (*cad*)

In jungen Stadien ist *caudal* in transversalen segmentalen Streifen exprimiert. Es findet sich deutliche Expression im Bereich des Mandibularsegmentes (Abb. 3.36A/B, dicker schwarzer Pfeil). In den nachfolgenden Segmenten (Maxillarsegment, Postmaxillarsegment, erstes Rumpfsegment) ist die Expression nur sehr schwach (Abb. 3.36A/B, kleine schwarze Pfeile). Im zweiten Rumpfsegment dagegen ist die Expression gegenüber den vorhergehenden erhöht (Abb. 3.36A/B, weiße Pfeile). Eine breite Expressionsdomäne ist in der Wachstumszone (gz) zu erkennen (Abb. 3.36A/B), wo die Expression dynamisch zu sein scheint, da Bereiche der Wachstumszone *caudal* unterschiedlich stark exprimieren (Abb. 3.36B, Sterne). Es fällt auf, dass der hinterste Teil des Keimstreifens, der den Anlagen des Enddarms (ea) entspricht und später invaginieren wird, frei von *caudal* Expression ist (Abb. 3.36B). In späteren Entwicklungsstadien verschwindet das segmentale Expressionsprofil und Transkripte können ausschließlich im posterioren Bereich der Wachstumszone und den Analklappen (av) nachgewiesen werden (Abb. 3.36C). Überfärbt man Embryos des Stadiums 5, so wird ein weiteres Expressionsprofil von *Glomeris caudal* deutlich. Es handelt sich dabei um eine Expression in den auswachsenden Malpighischen Gefäßen (mt) (Abb. 3.36D/d, Pfeil). Die erkennbare Färbung des gesamten Vorder- und Hinterdarms kann ein Artefakt der langen Färbereaktion sein, da dieses Phänomen bei Überfärbung häufig auftritt; wahrscheinlich auf Grund des Verbleibs von Spuren des anti-Digoxigenin-AP Antikörpers

### **Kapitel 3: Ergebnisse**

---

in diesem für Waschschrirte schwer zugänglichen Bereich des Embryos. Vergleichbare Expression in den paarigen Auswüchsen der Malpighischen Gefäße ist jedoch außer im Fall von *caudal* niemals beobachtet worden.



**Abb. 3.20** Phylogenetische Analyse aller Hox-Gene aus dem Hundertfüßer *Lithobius forficatus*, der Spinne *Cupiennius salei*, der Taufliege *Drosophila melanogaster* und dem Tausendfüßer *Glomeris marginata*. Zusätzlich ist das jeweilige ParaHox-Gen Ortholog von Caudal aus den oben genannten Arthropoden in diese Analyse mit eingeflossen. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

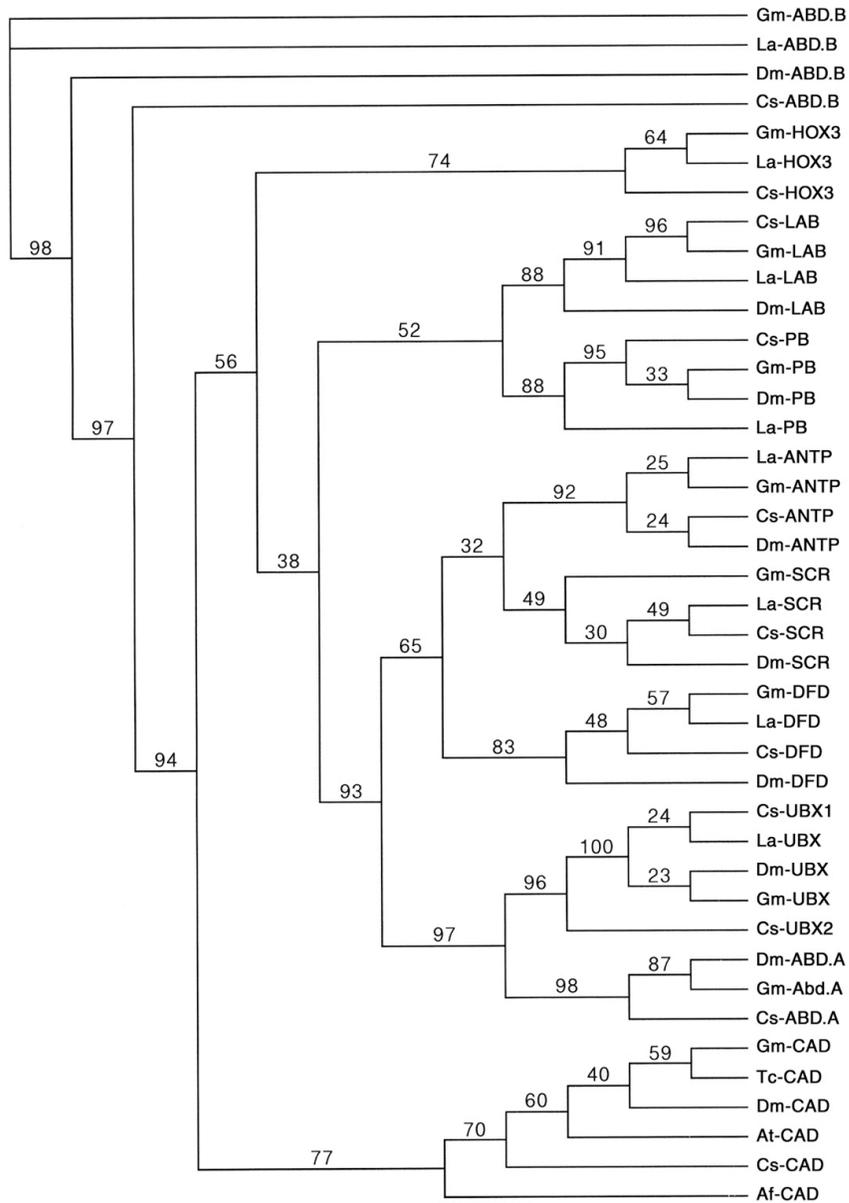
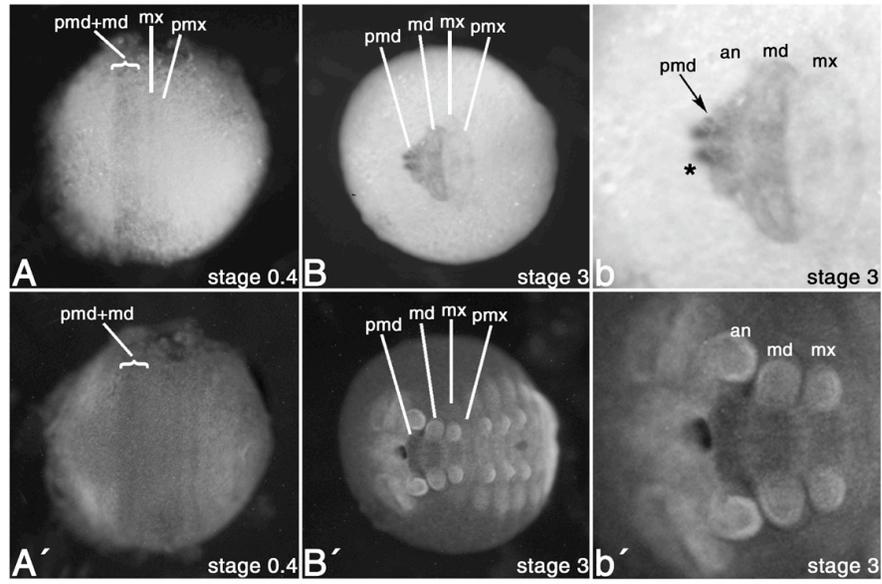


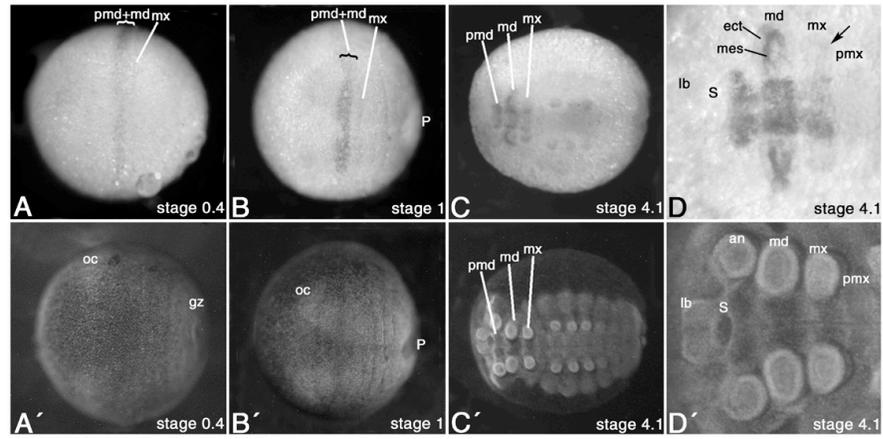
Abb. 3.20

**Abb. 3.22** Expression von *labial* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.4. **B** Stadium 3. **b** Stadium 3. Großaufnahme der Kopfregion des Embryos aus **B**. Stern deutet auf Färbung in möglicherweise invaginierten Zellen. **A'**- **b'** Zu **A**-**b** korrespondierende DAPI Färbungen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.23** Expression von *proboscipedia* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.4. **B** Stadium 1. **C** Stadium 4.1. **D** Stadium 4.1. Großaufnahme der Kopfregion. **A'**-**D'** Zu **A**-**D** korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.22**



**Abb. 3.23**

**Abb. 3.25** Expression von *Hox3* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.1. **B** Stadium 1. **C** Stadium 3. **c** Großaufnahme der Kopfregion des Embryos aus C. Pfeile deuten auf die Expression im Prämandibularsegment. **D** Stadium 4. Pfeilkopf deutet auf Expression in der Wachstumszone. **E** Stadium 6.1. Pfeilkopf wie in D. **B'-D'** Zu B-D korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

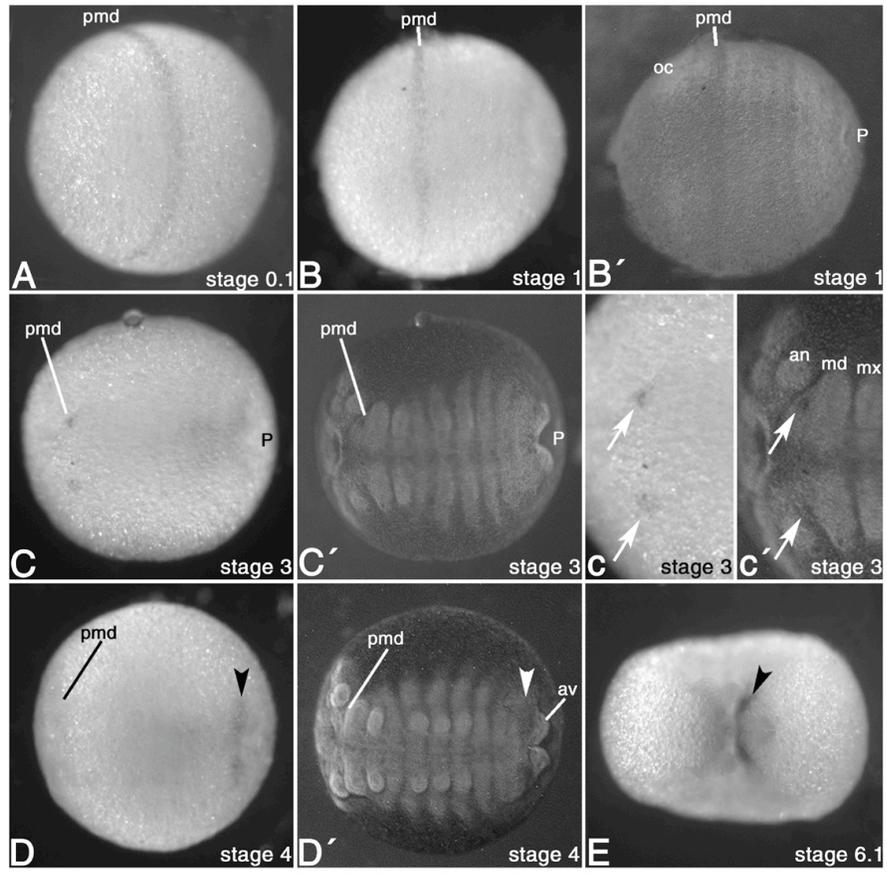


Abb. 3.25

**Abb. 3.26** Expression von *Deformed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.4. Pfeilkopf deutet auf Expression in der Wachstumszone. **B** Stadium 3. Pfeil wie in A. **C** Großaufnahme der Kopfregion; Pfeil deutet auf anteriores Ektoderm der Mandibel. **D** Stadium 5. Pfeilkopf wie in A und B. **E** Großaufnahme der Kopfregion. Pfeil wie in C. Stern deutet auf fehlende distale Expression in der Mandibel hin. **C' und E'** Zu C und E korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

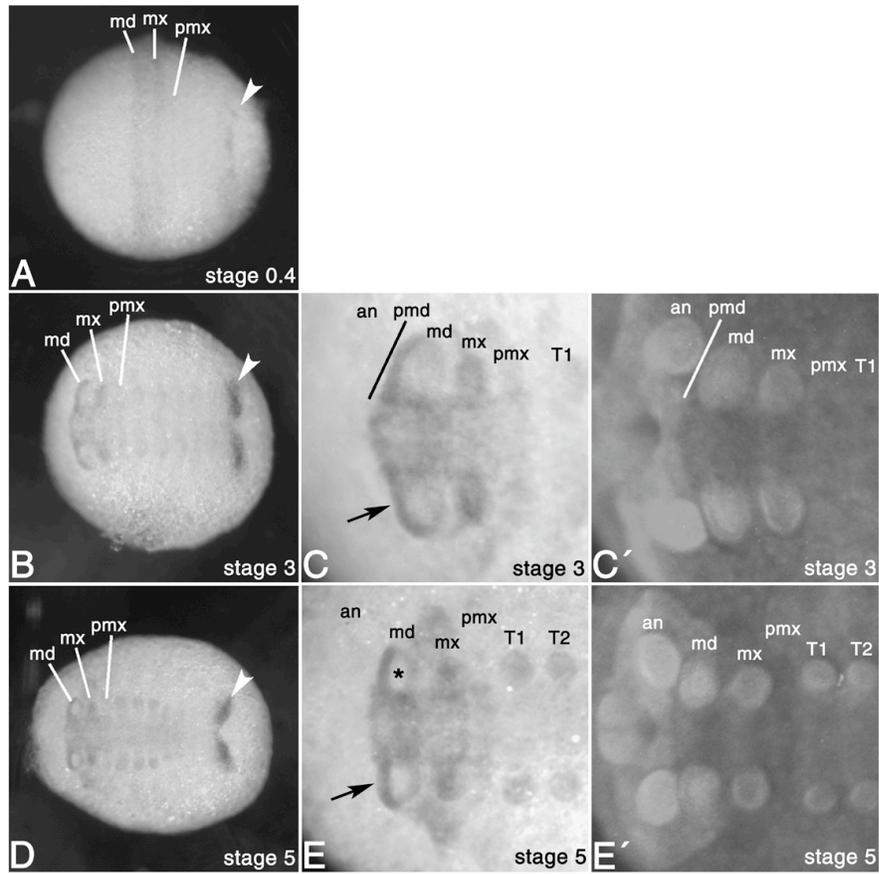
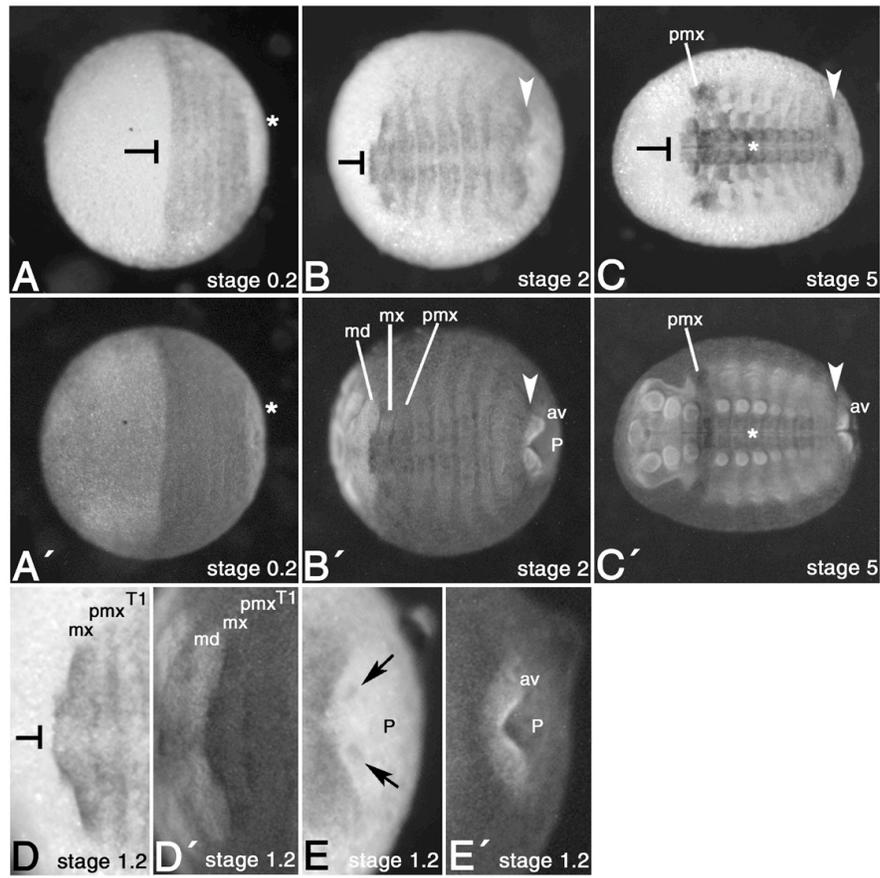


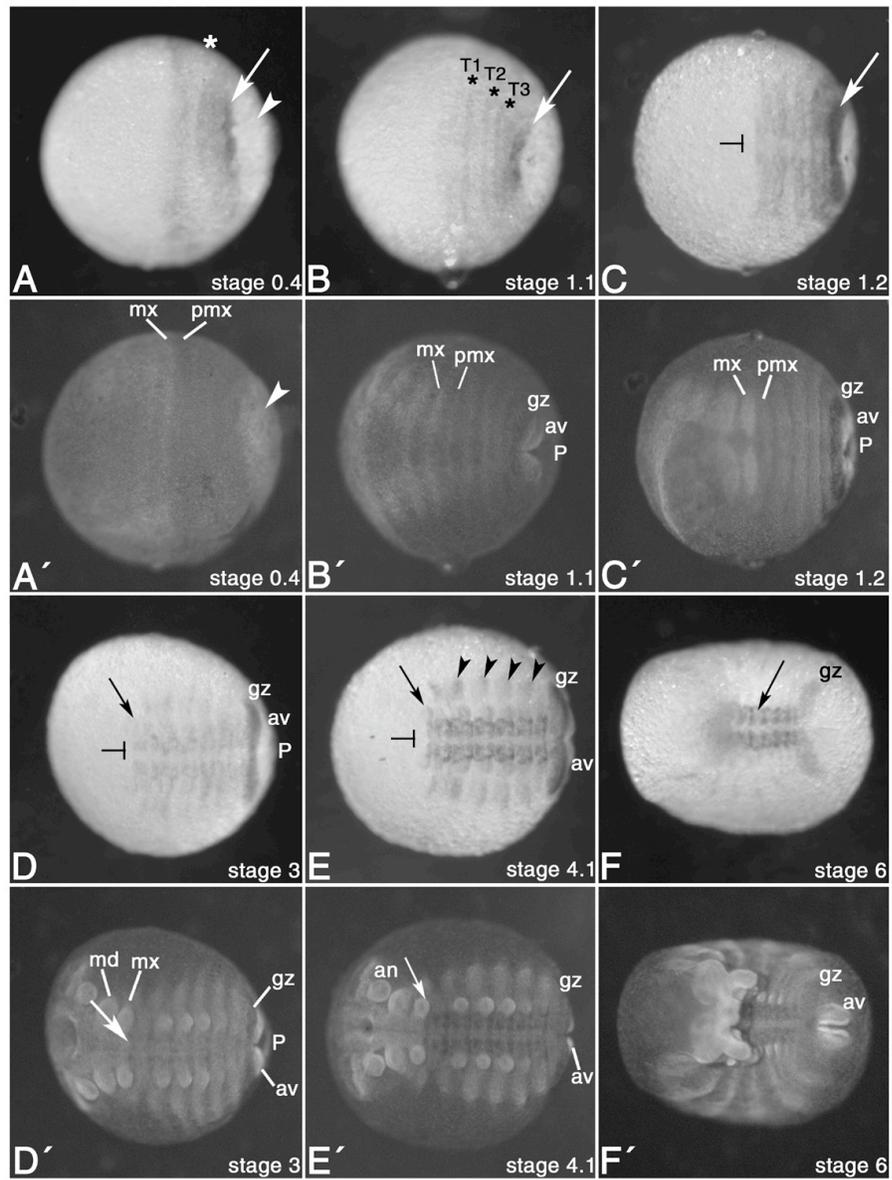
Abb. 3.26

**Abb. 3.27** Expression von *Sex combs reduced* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.2. Stern deutet auf fehlende Expression in der Wachstumszone hin. T-Linie deutet auf scharfe an-teriore Expressionsgrenze. **B** Stadium 2. Pfeilkopf deutet auf verstärkte Expression in der Wachstumszone. T-Linie wie in A. **C** Stadium 5. T-Linie und Pfeilkopf wie in B. Stern deutet verstärkte Expression im ventralen Neuroektoderm an. **D** Stadium 1.2. Großaufnahme der anterioren Expressionsgrenze. **E** Stadium 1.2. Großaufnahme der posterioren Expres-sionsgrenze. Pfeile deuten auf transiente Expression in den Analklappen. **A'-E'** Zu A-E korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.27**

**Abb. 3.29** Expression von *fushi tarazu* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.4. Stern deutet schwächere Expression im Übergang von Regio Germinalis zu den posterioren Segmenten an. Pfeil deutet auf verstärkte Expression in der Wachstumszone. Pfeil deutet auf fehlende Expression in den Anlagen des Enddarms. **B** Stadium 1.1. Pfeil wie in A. Sterne deuten auf Streifen. **C** Stadium 1.2. Pfeil wie in A. T-Linie deutet scharfe anteriore Expressionsgrenze an. **D** Stadium 3. T-Linie wie in C. Pfeil deutet auf Expression in der Maxille (weitere Informationen im Text). **E** Stadium 4.1. T-Linie und Pfeil wie in D. Pfeilköpfe deuten auf verstärkte Expression posterior in den Lateralplatten. **F** Stadium 6. Pfeil deutet auf Neuro-ektoderm. A'-F' Zu A-F korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.29**

**Abb. 3.30** Expression von *fushi tarazu* in *Cupiennius* Embryos. **A** Stadium: sieben opisthosomale Segmente. Pfeil deutet auf anteriore Expressionsgrenze. **B** Embryo aus A nach anterior gedreht. Pfeil wie in A. **C** Embryo aus B nach anterior gedreht. Pfeil deutet auf posteriore Expressionsgrenze. **D** Embryo wie in A. Großaufnahme aus dem Bereich des anterioren Opisthosomas. Pfeilkopf deutet auf posteriore Expressionsgrenze. Pfeile deuten auf je eine *fushi tarazu* positive Zelle pro Hemisegment im Opisthosoma. **E** Stadium: Umrollung abgeschlossen. Pfeile deuten auf distale Expression in L3 und L4. Pfeilkopf deutet auf Ring im Metatarsus von L3. **F** Flachpräparat des Prosomas. Pfeilköpfe deuten auf Expressions-Ring im Metatarsus von L2-L4. Klammer deutet diffuse distale Expression an. **G** Großaufnahme des vierten Laufbeins. Pfeilkopf und Klammer wie in F. **A'-E'** Zu A-E korrespondierende DAPI Expression. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

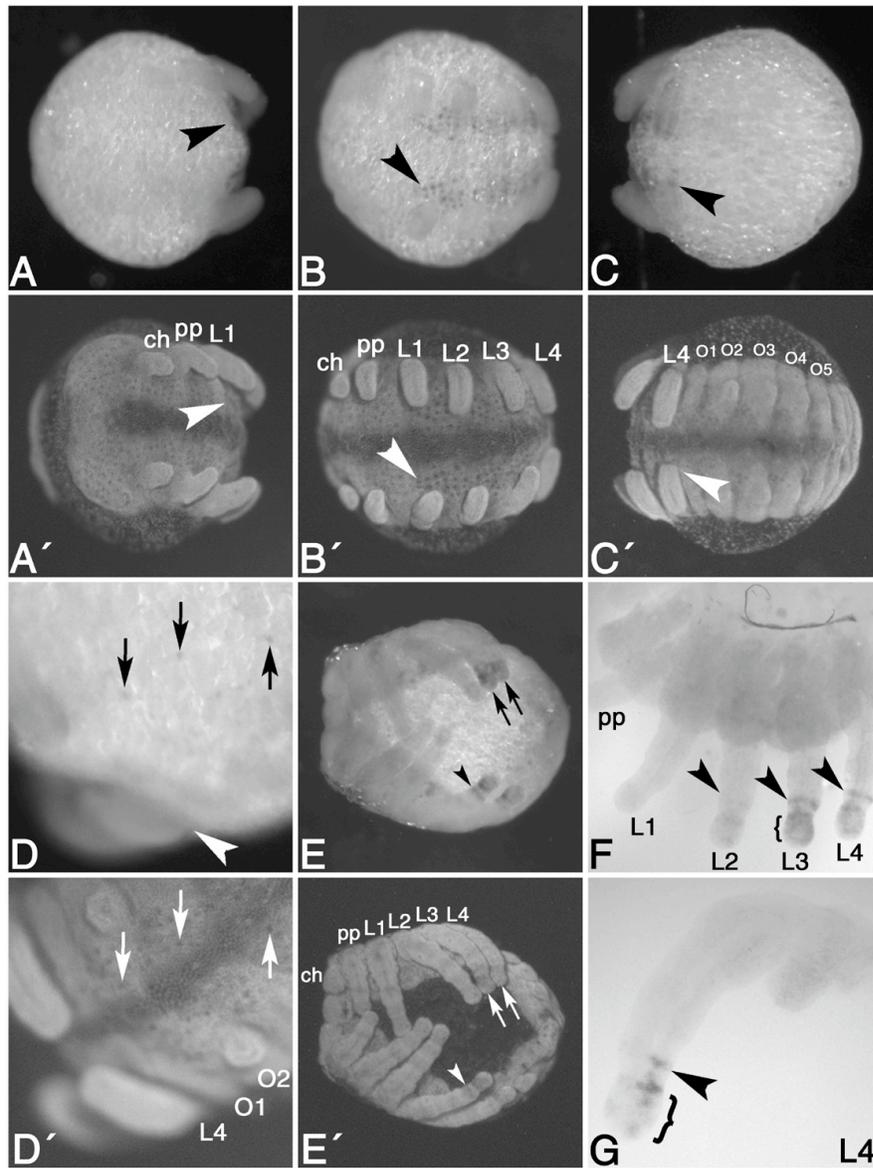
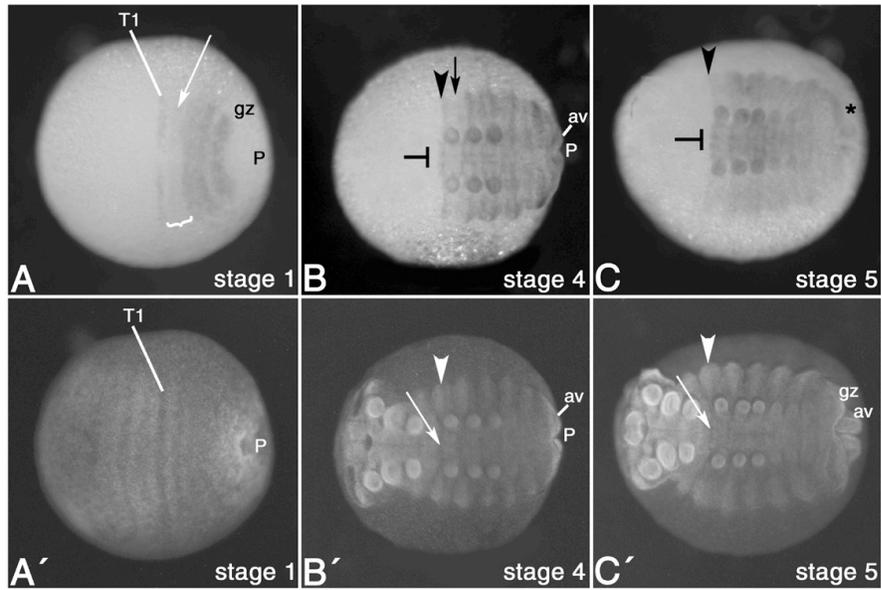


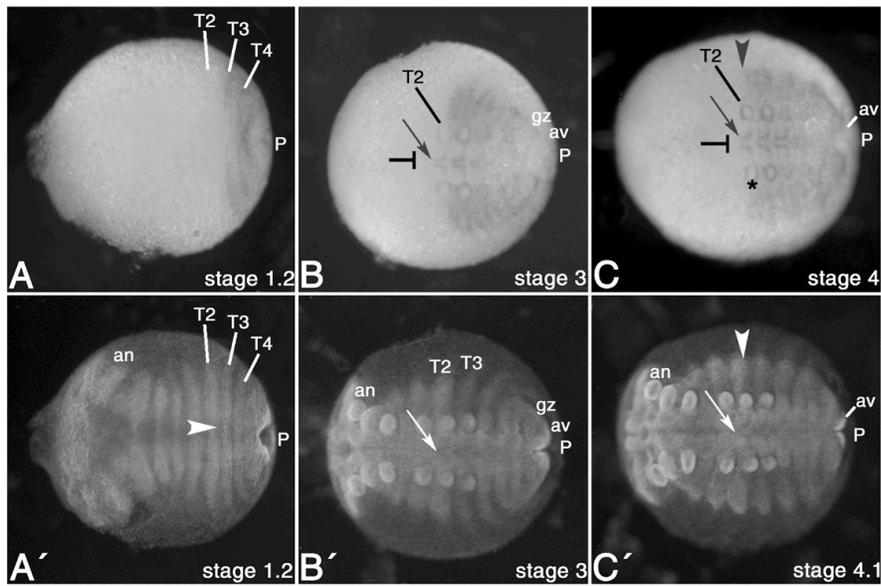
Abb. 3.30

**Abb. 3.31** Expression von *Antennapedia* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 1. Klammer deutet auf Region schwächerer Expression. Pfeil deutet auf Expressionsstreifen in T2. **B** Stadium 4. Pfeilkopf deutet auf Expressionsgrenze in der Lateralplatte von T1. T-Linie deutet scharfe anteriore Expressionsgrenze an. Pfeil deutet auf schwächere Expression in T1. **C** Stadium 5. Pfeilkopf und T-Linie wie in B. Stern deutet Expression in den Analklappen an. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Pfeile in B' und C' deuten auf anteriore Expressionsgrenze. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.32** Expression von *Ultrabithorax* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 1.2. **B** Stadium 3. Pfeil deutet auf verstärkte Expression entlang der ventralen Mittellinie. T-Linie deutet scharfe anteriore Grenze an. **C** Stadium 4. Pfeilkopf deutet auf Expressionsgrenze in den Lateralplatten. Pfeil und T-Linie wie in B. Stern deutet fehlende distale Expression in den Laufbeinen an. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Pfeilkopf in A' deutet auf anteriore Expressionsgrenze. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



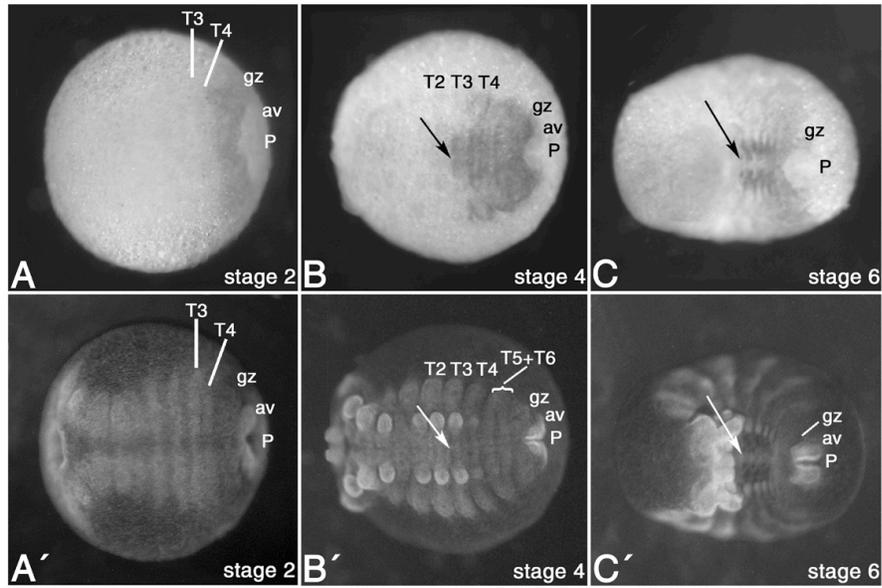
**Abb. 3.31**



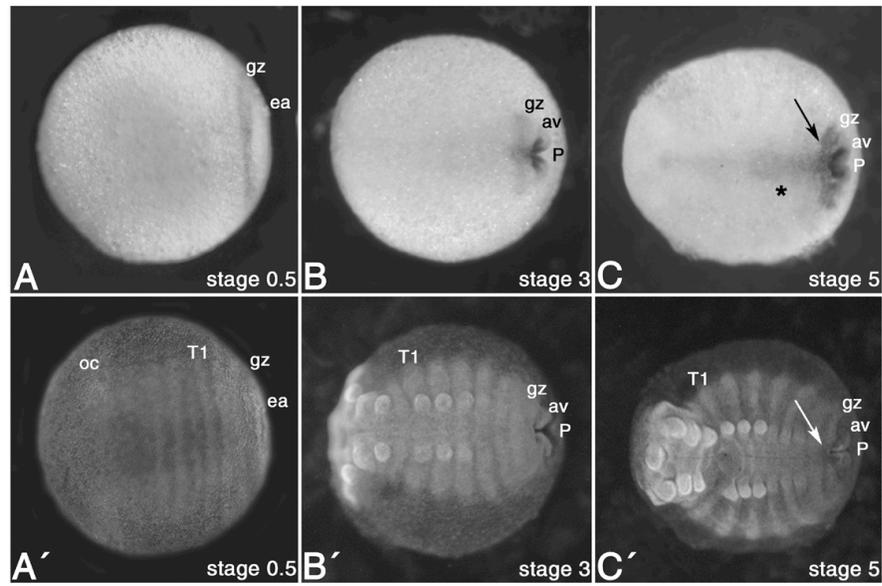
**Abb. 3.32**

**Abb. 3.33** Expression von *Abdominal-A* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 2. **B** Stadium 4. Pfeil deutet auf anteriore Expressionsgrenze. **C** Stadium 6. Pfeil wie in B. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.34** Expression von *abdominal-B* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.5. **B** Stadium 3. **C** Stadium 5. Pfeil deutet auf anteriore Expressionsgrenze. Stern deutet mögliche Expression im Enddarm an. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

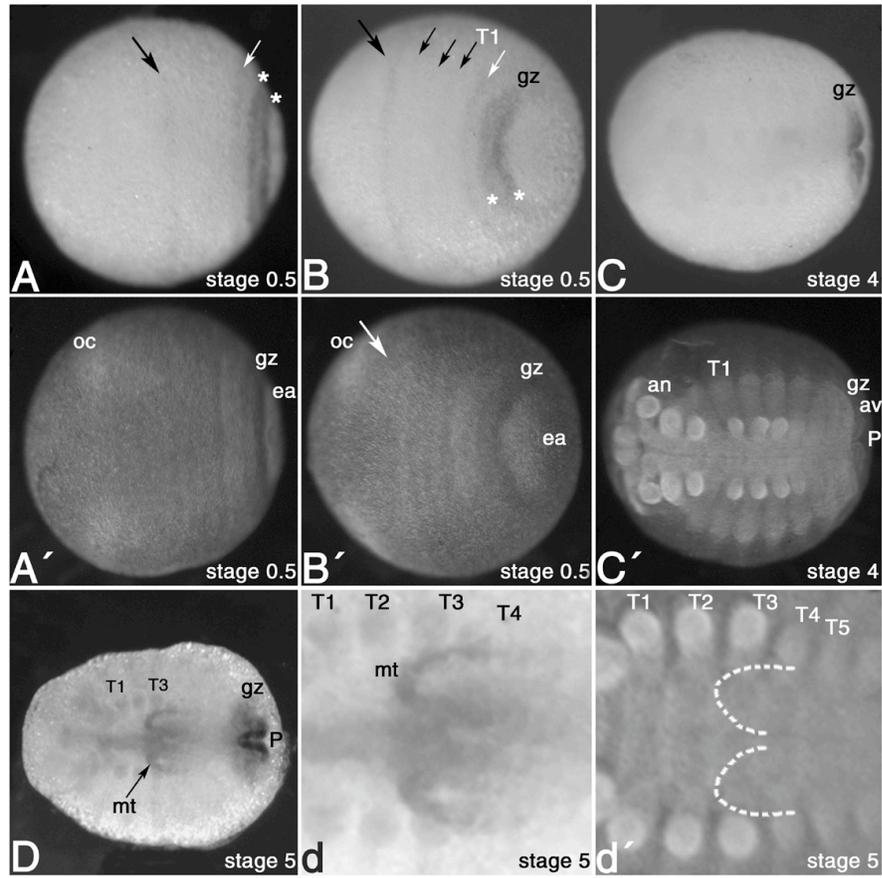


**Abb. 3.33**



**Abb. 3.34**

**Abb. 3.36** Expression von *caudal* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.5. Schwarzer Pfeil deutet auf Expression im Mandibularsegment. Weißer Pfeil deutet auf verstärkte Expression im neu gebildeten Segment (T2). Sterne deuten dynamische Expression in der Wachstumszone an. **B** Embryo aus A nach anterior gedreht. Kleine schwarze Pfeile deuten auf schwache segmentale Expression. **C** Stadium 4. **D** Stadium 5. Pfeil deutet auf Malpighische Gefäße. **d** Großaufnahme der Malpighischen Gefäße des Embryos aus D. **A' - d'** Zu A-d korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.36**

### 3.4 Die Paarregelgene

#### 3.4.1 Das *Glomeris even-skipped* Gen

Das Gen *even-skipped* gehört zu den Homöobox-Genen (Abb. 3.37). Aus *Glomeris* konnte ein Fragment isoliert werden, das signifikante Ähnlichkeit zum *Drosophila* Gen *even-skipped* aufweist. In einer phylogenetischen Untersuchung stellte sich heraus, dass die Orthologen des *Drosophila even-skipped* Gens getrennt von anderen Genen mit einer Homöodomäne liegen (RV 81). Die Länge der Kante, die *labial* (das laut der BLAST-Analyse nächstähnliche Gen aus dem Genom von *Drosophila*) deutlich von den *even-skipped* Genen trennt, zeigt, dass dieses evolutiv deutlich von den *eve* Orthologen getrennt ist. Die Orthologie des aus *Glomeris* isolierten Fragments zu *even-skipped* aus *Drosophila* ist folglich gut unterstützt (Abb. 3.38). Zwei verschiedene Transkripte konnten gefunden werden, die sich auf Grund einer alternativen Polyadenylierung in der Länge des 3'UTRs unterscheiden (siehe Anhang).



Abb. 3.37 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *even-skipped* in *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.4.2 Die Expression von *Glomeris even-skipped (eve)*

Im Blastodermstadium ist *even-skipped* in zwei einzelnen Streifen im Primordium des Antennen- und des Mandibularsegments exprimiert. Zusätzlich liegen zwei breite Expressionsdomänen posterior zu diesen zwei Streifen (Abb. 3.39A). Die Rückansicht des selben Embryos verdeutlicht, dass die Expression den Embryo kreisförmig umläuft, die Streifen also somit in diesem Stadium Ringe darstellen (Abb. 3.39B). Das Gewebe zwischen den Domänen und die Anlagen des Enddarms (ea) bleiben frei von Expression. Als sicher kann angenommen werden, dass sich die anteriore der beiden Domänen aufspaltet und

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

jeweils einen transversalen segmentalen Streifen im Maxillar- und Postmaxillarsegment ausbildet (Abb. 3.39 C). Im Fall der posterioren Domäne ist nicht deutlich ersichtlich, ob diese sich in Expression der Rumpfsegmente T1 und T2 aufspaltet, oder ob sie schmaler wird und auf T1 beschränkt bleibt (Abb. 3.39C). In letzterem Fall entstünde T2 de novo. Um diese Frage beantworten zu können, müsste man sich die Expression von *even-skipped* im Stadium 0.1 ansehen. Expression von *eve* in einem solchen Stadium steht zurzeit aber nicht zur Verfügung. Im Stadium 0.3 erscheint Expression in der Wachstumszone (Abb. 3.39D, Stern). Im nachfolgenden Stadium 0.4 wird diese Domäne deutlicher (Abb. 3.39E, Stern) und bildet schließlich in Stadium 0.5 einen Expressionsstreifen im Primordium des dritten Rumpfsegments (Abb. 3.40A, Raute).

Die Vorgänge in der Wachstumszone, die zur Bildung des nächsten Rumpfsegments führen, sind in Abb. 3.40 anhand der *even-skipped* Expression im Detail gezeigt: Im Stadium 0.5 ist *even-skipped* in einem Streifen im Primordium des dritten Rumpfsegments (T3) exprimiert. Innerhalb der Wachstumszone erscheinen nun zwei kleine Expressionsdomänen beidseits der Mittellinie (Abb. 3.40B, Punkt), welche schließlich zu einer einzigen breiteren Domäne in der Wachstumszone werden (Abb. 3.40C, Punkt). Diese breite Domäne reduziert sich dann auf einen transversalen segmentalen Streifen, der im jetzt neu gebildeten vierten Rumpfsegment liegt (Abb. 3.40D, Punkt). Der nächste Zyklus dynamischer Expression in der Wachstumszone, der zur Bildung des vierten Rumpfsegments gehört, beginnt wieder mit zwei punktförmigen Expressionsdomänen zu beiden Seiten der Mittellinie in der Wachstumszone (Abb. 3.40D, Pfeil).

Die Abb. 3.39F zeigt ein Stadium, das zwischen den in Abb. 3.40B und C gezeigten Stadien liegt. Hier wird die Dynamik im Expressionsprofil von *even-skipped* in der Wachstumszone besonders gut deutlich.

Später reduziert sich die rechts-links Expansion der segmentalen Streifen in den älteren Segmenten auf den Bereich des Neuroektoderms (Abb. 3.39G). Zwischen diesen verkürzten Streifen exprimieren einzelne Zellen *eve* (Abb. 3.39G/H, weißer Pfeil in H). Die dynamische Expression in der Wachstumszone ist aber auch jetzt noch gut zu erkennen. Im Stadium 6 ist in den älteren Segmenten nur noch Expression in bestimmten Zellen des Neuroektoderms vorhanden (Abb. 3.39H). Die Expression in Form segmentaler Streifen ist auf das jüngst gebildete Segment bzw. die Wachstumszone beschränkt (Abb. 3.39H, schwarzer Pfeil). Zusätzlich erscheint nun Expression im Dorsalgefäß, die auch in der weiteren Entwicklung

vorhanden ist (Abb. 3.39H/I). Die hier noch immer erkennbare Expression in der Wachstumszone gibt Grund zu vermuten, dass die Dynamik der *eve* Expression in der Wachstumszone, welche mit der Bildung neuer Segmente einhergeht, auch für spätere Segmente erhalten bleibt.

#### 3.4.3 Die *Glomeris hairy* Gene

Aus *Glomeris* sind insgesamt drei Genfragmente isoliert worden, die Ähnlichkeit mit dem Paarregellen *hairy* aus *Drosophila* aufweisen. Alle verfügen über eine basische Helix Loop Helix Domäne (bHLH) und eine „orange“ Domäne, die in allen Fällen C-terminal zur HLH Domäne liegt (Abb. 3.41). Da es im Genom von *Drosophila* drei Gene gibt, die in naher Verwandtschaft zum *Drosophila* Gen *hairy* stehen, und es über dies hinaus noch eine Vielzahl weniger verwandter Gene mit einer bHLH Domäne gibt, war es unbedingt notwendig, die Orthologieverhältnisse der *Glomeris* Genfragmente zu den Genen in *Drosophila* zu klären (Moore et al., 2000). Wie sich dabei herausstellte, ist es kaum möglich die Beziehung der *Glomeris* Gene zu den Genen aus *Drosophila* mittels einer phylogenetischen Analyse eindeutig zu bestimmen. In den meisten Fällen variiert das Ergebnis bereits stark, wenn ein zusätzliches Gen in die Analyse mit eingebracht, bzw. dieser entnommen wird (Bäume nicht gezeigt). In der Analyse, in der alle Genfragmente aus *Glomeris* und die Gene aus *Drosophila* mit eingeflossen sind, lässt sich keines der *Glomeris* Gene dem Gen *hairy* aus *Drosophila* zuordnen (Abb. 3.42). Das Gen mit der vorläufigen internen Bezeichnung *Gm-h1* fällt mäßig unterstützt mit dem Gen *deadpan* aus *Drosophila* zusammen (RV 74). Das Gen *Gm-h3* könnte ein Ortholog des *Drosophila* Gens *side* darstellen, die gemeinsame Kante im Baum ist allerdings kaum unterstützt (RV 52). Das dritte Gen schließlich, *Gm-h2*, ist in dieser Analyse keinem *Drosophila* Gen zugeordnet. Weitere komputergestützte Analysen erbrachten unterschiedlichste Resultate (nicht gezeigt). Neben der komputergestützten Analyse ist versucht worden, Autapomorphien der Sequenzen aus *Glomeris* zu möglichen Orthologen aus *Drosophila* ausfindig zu machen, um so eine Zuordnung der *Glomeris* Fragmente zu ermöglichen. Da aber allen die bHLH-, so wie die „orange“-Domäne und das äußerst C-terminale Polypeptid WRPW gemeinsam sind, führte dieser Ansatz zu keinem Erfolg (siehe Anhang; Abb. 3.41).

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Die *Drosophila* Gene *hairy* und *deadpan* zeigen Ähnlichkeit in ihrem Expressionsprofil (Bier et al., 1992). So verhält es sich in *Glomeris* auch für *Gm-h1* und *Gm-h2* (siehe unten). Das Expressionsmuster von *side* weicht davon völlig ab, ähnelt aber dem von *Gm-h3* (Moore et al., 2000).

Auf Grund der Expression könnte es sich bei *Gm-h1* und *Gm-h2* folglich um Orthologe von *hairy* und *deadpan* handeln. *Gm-h3* könnte ein Ortholog von *side* darstellen. Die genauen Orthologieverhältnisse bleiben aber unklar.

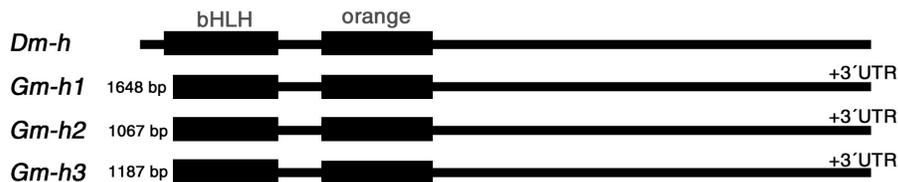


Abb. 3.41 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *hairy* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche der drei isolierten Fragmente.

#### 3.4.4 Die Expression von *Glomeris hairy-1* (*h1*)

Das Expressionsmuster von *hairy-1* ähnelt dem von *hairy-2* (s.u.) in älteren Stadien. In jungen Stadien ist *hairy-1* ubiquitär exprimiert (nicht gezeigt). Später zeigt sich deutliche Expression im Neuroektoderm und im Gehirn (Abb. 3.43A, Punkt und Pfeilkopf). Außerdem zeigt es ebenfalls ein komplexes Expressionsprofil in den dorsalen Segmenten (Abb. 3.43A, Stern). Auch *hairy-1* ist in der Dorsalmembran exprimiert (Abb. 3.43B), aber anders als *hairy-2* ist *Glomeris hairy-1* in den Extremitäten präsent (Abb. 3.43A, Pfeile).

#### 3.4.5 Die Expression von *Glomeris hairy-2* (*h2*)

Das Expressionsprofil von *Gm-h2* ist sehr komplex. Im Blastodermstadium erscheint zunächst Expression in Form einer breiten Domäne. Diese entspricht den Primordien des Mandibularsegments so wie dem posterioren Teil des Antennensegments und dem sich dazwischen befindlichen Prämandibularsegment (Abb. 3.44A). Innerhalb der Domäne sind zwei transversale Streifen erhöhter Expression zu erkennen. Diese Streifen liegen im

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

posterioren Teil der Segmentprimordien, was in späteren Stadien (Abb. 3.44D) und in solchen Embryos, die einer *engrailed/hairy-2* Doppelfärbung unterzogen worden sind, ersichtlich wird (Abb. 3.45). Das segmentale Expressionsprofil von *engrailed* (Abb. 3.45C, Pfeil) ist dabei jedoch auf weniger Zellen im Segment beschränkt, als das von *hairy-2*. Im Primordium des Prämandibularsegments ist kein *hairy-2* Streifen erhöhter Expression zu erkennen. Zusätzlich zu der anterioren Domäne sind zwei Streifen schwächerer Expression vorhanden, die im ersten Rumpfsegment bzw. in der Wachstumszone liegen (Abb. 3.44A, Stern). Im Stadium 0.3 ist streifenförmige Expression in den ersten drei Rumpfsegmenten erkennbar. Zusätzlich erscheint schwache Expression in den Primordien des Maxillar- und Postmaxillarsegments (Abb. 3.44B). Mit beginnender Bildung der segmentalen Furchen erscheinen auch Transkripte in den optischen Loben (oc) (Abb. 3.44C). Die bis hierhin durchgängige, streifenförmige Expression verschwindet entlang der ventralen Mittellinie (Abb. 3.44D) und bleibt auch in den späteren Entwicklungsstadien von dort verschwunden (Abb. 3.44E-G). Zu beiden Seiten der Mittellinie verstärkt sich die Expression im Postmaxillarsegment und in den Rumpfsegmenten (Abb. 3.44D, Pfeilkopf) sowie im Bereich der optischen Loben (Pfeil). In diesem Stadium (1.2) ist das Expressionsmuster von *hairy-2* in der Wachstumszone dynamisch. Eine breite Domäne, die die Wachstumszone erfüllt, reduziert sich auf einen schmalen Expressionsstreifen im neu gebildeten Segment. Dabei fällt auf, dass die posteriore Grenze der segmentalen Expression in diesem stärker ist (Abb. 3.44D/K). Dieses Detail stimmt mit der Expression von *hairy* in der Spinne *Cupiennius salei* überein, was einen weiteren Hinweis darauf liefert, dass es sich bei *hairy-2* aus *Glomeris* um das Ortholog zu *Drosophila/Cupiennius hairy* handelt (Damen und Schoppmeier, persönliche Mitteilung). Im Stadium 3 ist *hairy-2* deutlich im Neuroektoderm und im Gehirn (Abb. 3.44E) exprimiert. Expression in Form eines transversalen Streifens ist nur kurzfristig in dem jeweils jüngsten gebildeten Segment zu sehen (Abb. 3.44E-G, schwarzer Pfeil). Außerdem finden sich Transkripte in den dorsalen Segmenten, die dort später in einem komplexen Expressionsprofil vorliegen (Abb. 3.44F-H). Die Expression im ventralen Neuroektoderm und im Gehirn nimmt in späteren Stadien stark zu (Abb. 3.44 F/G, weiße Pfeilköpfe und Pfeile). Dabei exprimieren in jüngeren Segmenten weniger Zellen *hairy-2* als in älteren. Im Stadium 6 exprimiert auch das extraembryonale Gewebe der Regio Dorsalis (Dorsalmembran) *hairy-2* (Abb. 3.44H). In den dorsalen Segmenten ist *hairy-2* in Position der sich bildenden Tergitgrenzen exprimiert. Über die dorsalen Bereiche des

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Keimstreifens hinaus wird diese Expression in der Regio Dorsalis in Form eines Streifens fortgesetzt (Abb. 3.44H-J, Sterne). Diese Streifen sind dorsal geschlossen (Abb. 3.44I, Sterne). Der Nachweis sich teilender Zellen mittels BrdU Inkorporation hat gezeigt, dass sich lediglich dort Zellen teilen, wo *Gm-hairy 2* exprimiert wird (vgl. Abb. 3.4B mit Abb. 3.44H). Zwischen den Tergitgrenzen zeichnet sich eine punktförmige Expression in jedem dorsalen Hemisegment ab (Abb. 3.44H/J, Pfeile). Neben der beschriebenen segmentalen, neuronalen und dorsalen Expression finden sich auch Transkripte im Bereich des Proktodäums (Abb. 3.44G).

#### 3.4.6 Die Expression von *Glomeris hairy-3 (h3)*

*Glomeris hairy-3* zeigt kein Expressionsprofil, das mit einer Funktion während der Segmentierung in Zusammenhang steht. Deshalb sei dieses nur kurz beschrieben. Bis zum Stadium 2 zeigt sich keine Expression. Dann erscheinen Transkripte im Neuroektoderm, im Gehirn und im Labrum (Abb. 3.46). Außerdem ist *hairy-3* zu beiden Seiten der Mittellinie in den Analklappen exprimiert (Abb. 3.46A/B, Pfeile). In späten Stadien (Stadium 5) ist es zusätzlich in den Spitzen der Extremitäten (Abb. 3.46C, Stern) und in Blöcken in den Lateralplatten exprimiert (Abb. 3.46C, Pfeile).

#### 3.4.7 Das *Glomeris runt* Gen

In *Drosophila* existieren vier Gene, die Ähnlichkeit mit *runt* aufweisen. Diese sind *runt (run)*, *lozenge (lz)*, *CG1379* und *CG15455*. Typisch für *runt* und *lozenge* ist neben der Runt Domäne (Abb. 3.47) das Vorkommen einer kurzen Peptidsequenz am C-terminalen Ende des Proteins (VWRPY), welche in *CG1379* und *CG15455* nicht vorkommt. Das gleiche Peptid kommt unter anderem auch in den Genen *CG15453* und *CG15454* vor. Ansonsten zeigen letztere jedoch keine Sequenzähnlichkeiten zu *run* und *lz*.

Ein Ortholog zu *Drosophila runt* sollte also neben genereller Sequenzähnlichkeit auch das VWRPY-Motiv aufweisen. Dieses trifft für das aus *Glomeris* isolierte Fragment zu. Neben der Runt-Domäne findet sich das Proteinmotiv VWRPY im C-terminalen Bereich der

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Sequenz (siehe Anhang). Allerdings folgt auf dieses nicht sofort das erste Stop-Kodon, wie es gewöhnlich der Fall ist, sondern sechs weitere Aminosäuren (mehrere Klone getestet). Phylogenetische Analysen scheinen zu belegen, dass *run* und *lz* in *Drosophila* Produkt einer unabhängigen Duplikation in *Drosophila* sind. Gleiches gilt für zwei aus der Spinne *Cupiennius* isolierte *runt* Orthologe (Damen et al., 2000; Dearden et al., 2002). Phylogenetische Bäume, die unter Einbezug der *Glomeris*-Sequenz erstellt worden sind, lösten sich nicht auf (nicht gezeigt).

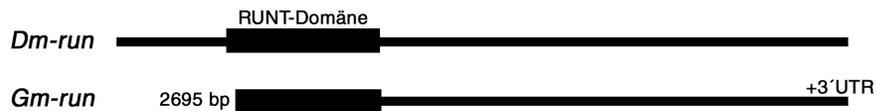


Abb. 3.47 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *runt* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.4.8 Die Expression von *Glomeris runt* (*run*)

Früh zeigt *Glomeris runt* ein streifenförmiges Expressionsmuster in den gnathalen Segmenten (Mandibular-, Maxillar- und Postmaxillarsegment) und dem ersten Rumpfsegment (Abb. 3.48A-D). Zwischen den segmentalen Streifen des Mandibular- und Maxillarsegments scheint *runt* ebenfalls schwach exprimiert zu sein (Abb. 3.48A). Daten aus dem Blastodermstadium (Stadium 0) sind leider noch nicht vorhanden. Sie könnten belegen, ob die Streifen der ersten beiden gnathalen Segmente aus einer einzigen ursprünglichen Expressionsdomäne hervorgegangen sind, oder nicht. Neben den segmentalen Streifen ist auch ein breiteres Expressionsprofil in der Wachstumszone zu erkennen (Abb. 3.48A). Im Stadium 0.1 ist die Expression im ersten Rumpfsegment breiter als in den gnathalen Segmenten. Die Expansion dieses Streifens reduziert sich dann mit fortschreitender Entwicklung (Abb. 3.48A-D). In der Wachstumszone scheint eine Dynamik hinsichtlich der Expression vorzuliegen. So erscheinen manche Bereiche der Wachstumszone stärker und manche schwächer *runt* zu exprimieren (Abb. 3.48C/D). Bei verlängerter Färbezeit wird deutlich, dass sich zumindest das Expressionsprofil in der Wachstumszone und den ersten beiden Rumpfsegmenten im Entwicklungsstadium 0.5 nicht nur auf ventrale, sondern auch auf dorsale Bereiche erstreckt. Die beschriebene streifenförmige Expression ist

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

also ursprünglich in Ringen angelegt, die die Invaginationsstelle des Proktodäums (posteriorer Pol) konzentrisch umschließen (Abb. 3.49A).

Die Expression in den Segmenten wird mit fortschreitender Entwicklung in den Segmenten diffus und reduziert sich auf das ventrale Neuroektoderm (Abb. 3.48E-G), wo sie an Intensität zunimmt (Abb. 3.48G, Stern). Innerhalb des Neuroektoderms ist die Expression zunächst auf bestimmte Bereiche beschränkt, was erahnen lässt, dass *runt* auch für die Differenzierung des Neuroektoderms benötigt wird. Neben der neuronalen Expression bleibt aber auch in diesen älteren Stadien das dynamische Expressionsprofil in der Wachstumszone erhalten, auch wenn dieses im Vergleich zu der Expression im ZNS schwächer ist. Es wird erst bei Überfärbung des Embryos deutlich erkennbar (Abb. 3.49 B/C, Pfeile).

Außer im ventralen Neuroektoderm findet sich auch neuronale Expression in Teilen des Gehirns, wie z.B. den optischen Loben (oc) (Abb. 3.48C-H). Diese erscheint erstmals im Stadium 0.4 (Abb. 3.48C).

#### 3.4.9 Das *Glomeris odd skipped* Gen

Die DNA-bindende Domäne des Odd skipped Proteins ist ein C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> Zinkfinger. Dieser besteht aus vier einzelnen C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> Polypeptideinheiten (Abb. 3.50). Insgesamt sind in *Drosophila* drei Gene bekannt, die große Ähnlichkeit zu *odd skipped* aufweisen (Hart et al., 1996; Liu et al., 1999). Bei diesen handelt es sich um die Gene *brother of odd with entrails limited (bowl)*, *sister of odd and bowl (sob)* und *drumstick (drm)*. Zusammen mit *odd skipped (odd)* werden sie als *odd skipped* Familie bezeichnet. Im Genom von *Anopheles gambiae* konnten lediglich zwei Gene der *odd skipped* Familie gefunden werden. Aus *Glomeris* ist ein Fragment isoliert worden. Die phylogenetische Analyse bringt die Mitglieder der *odd skipped* Familie aus *Drosophila*, *Anopheles*, *Cupiennius* und *Glomeris* in verwandtschaftliche Beziehung zu einander (Abb. 3.51). Die Analyse ergab, dass die *Drosophila* Paralogen *sob* und *bowl* deutlich von den anderen Genen der *odd skipped* Familie getrennt sind (RV 100). Das aus *Glomeris* isolierte Fragment stellt folglich eher ein Ortholog zu *odd* als zu *sob* oder *bowl* dar. Die Sequenzen der Insekten (*Anopheles* und *Drosophila*) sind von denen aus *Cupiennius*, *Strigamia* und *Glomeris* getrennt (RV 78). Die drei aus der Spinne isolierten Gene der *odd skipped* Familie fallen zusammen (RV97), sind

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

folglich das Resultat unabhängiger Duplikationen in der Spinne, und keine Orthologen von *Drosophila odd, sob* bzw. *bowl*. Innerhalb der Insekten ist das *Anopheles* Gen *Ag16384* das vermutliche Ortholog zu *Drosophila odd* (RV100).



Abb. 3.50 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *odd skipped* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.4.10 Die Expression von *Glomeris odd skipped (odd)*

Bereits früh erscheint Expression in der Wachstumszone (Abb. 3.52A, Pfeilkopf). Im Stadium 0.5 kommt segmentale Expression in den Primordien der Extremitäten in den äußeren (dorsalen) Bereichen des Keimstreifens hinzu (Abb. 3.52B/C, Pfeile und Pfeilköpfe). Im Kopfbereich fehlt die ventrale Expression völlig. Im Rumpf ist die Expression im ventralen Keimstreifen schwächer als in dorsalen Bereichen, was im Stadium 1.2 besonders deutlich wird (Abb. 3.52D). Obwohl zu diesem Zeitpunkt noch kein echtes dorsales Gewebe mittels der DAPI Färbung zu erkennen ist (nicht gezeigt), erstreckt sich die segmentale Expression nach dorsal über die Region der Extremitäten hinaus in die Dorsalmembran (Abb. 3.52D/E, Pfeilköpfe). Im Kopf bleibt die Expression auf die Extremitäten selber beschränkt. Im Stadium 2 erscheint schwache segmentale Expression im Neuroektoderm (Abb. 3.52E, Pfeil). In der Wachstumszone ist *odd skipped* nun deutlich exprimiert. Der Vergleich des Expressionsprofils in der Wachstumszone zeigt, dass die Expression dynamisch ist (Abb. 3.52E-H, Vierecke). Anfänglich umfasst sie sowohl die ventralen als auch die dorsalen Gewebe, reduziert sich aber bald darauf auf die dorsalen Segmente (vgl. Abb. 3.52E mit F bzw. G mit H, Vierecke). Die Intensität der neuralen Expression nimmt im Lauf der weiteren Entwicklung zu (Abb. 3.52G/H, Pfeile). Ebenso verhält es sich für die dorsale Expression, die nun deutlich in den dorsalen Segmenten zu erkennen ist (Abb. 3.52G/H, Pfeilköpfe). Die gleichzeitige Hybridisation mit zwei Sonden (*odd skipped* und *engrailed*) in den selben Embryos gibt Aufschluss über die Lage der dorsalen Expression innerhalb des Segments. Die Expressionsdomäne von *odd* in den

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

dorsalen Segmenten liegt im posterioren Teil, denn Transkripte sind lediglich posterior zur *engrailed*-Domäne zu sehen (Abb. 3.53A/a). Ob die Expression von *odd* und *en* überlappend ist, bleibt unklar.

Auffallend ist, dass Expression von *odd* nicht auf die Derivate der Regio Germinalis beschränkt bleibt, sondern auch der dorsale Bereich des Embryos, die Regio Dorsalis bzw. die Dorsalmembran, *odd skipped* exprimiert. Die Expression in den dorsalen Segmenten wird weiter nach dorsal fortgesetzt, und umläuft die gesamte Dorsalseite des Embryos (Dorsalmembran) (Abb. 3.52I, Pfeilköpfe).

Neben der geschilderten neuralen und segmentalen Expression von *Gm-odd* erscheint auch Expression zu Beginn der Entwicklung des Keimstreifens in den Anlagen des Stomodäums (Abb. 3.52A-C, Stern). Diese trennt sich kurz vor der Invagination des Stomodäums in zwei Domänen auf (Abb. 3.52D/d). Auf die Lage der Expression in den Extremitäten soll hier nicht weiter eingegangen werden.

#### 3.4.11 Das *Glomeris odd-paired* Gen

Das Gen *odd-paired* gehört zur Gruppe der Zinkfingerene. Im Fall von *odd-paired* gibt es vier solcher Zinkfinger, die in einem Cluster in der Mitte des Proteins angeordnet sind (Abb. 3.54). Aus *Glomeris* konnte eine Sequenz isoliert werden, die auf Grund der phylogenetischen Untersuchung ein eindeutiges Ortholog zu *opa* aus *Drosophila* darstellt. Mit hoher statistischer Signifikanz fällt es mit den Orthologen aus *Anopheles*, *Apis* und *Drosophila* in eine Gruppe, die sich deutlich von den verwandten Genen aus *Drosophila* abgrenzt (RV 100) (Abb. 3.55).



Abb. 3.54 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *odd-paired* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.4.12 Die Expression von *Glomeris odd-paired (opa)*

Bis zum Stadium 0.5 ist die Expression ubiquitär im gesamten Keimstreifen (nicht gezeigt). Ab diesem Zeitpunkt liegt Expression in den optischen Loben und den Antennenprimordien vor. Das Gewebe zwischen diesen ist ungefärbt (Abb. 3.56). Die Färbung in den nachfolgenden Segmenten nimmt fast dessen gesamten Bereich ein. Die Wachstumszone ist frei von Transkripten (Abb. 3.56A). Zu einem späteren Zeitpunkt reduziert sich die segmentale Expression auf anteriore Bereiche der Segmente, was deutlich an der Lage der Expression in den Extremitäten zu sehen ist (Abb. 3.56B-E, Pfeile in E). Im Gegensatz zu frühen Stadien ist in späteren Stadien auch Expression in der Wachstumszone zu erkennen (Abb. 3.56C/D). Diese Expression beschränkt sich allerdings auf den Bereich der Wachstumszone, aus dem sich die ventralen Segmente bilden. Das Expressionsprofil ist nicht dynamisch (Abb. 3.56C/D).

#### 3.4.13 Die *Glomeris pairberry* Gene

Das *Drosophila* Paarregelen *paired* gehört zu der sogenannten Pax Gruppe, deren Mitglieder sowohl eine *paired*-Domäne als auch eine erweiterte (extended) Homöodomäne besitzen. In *Drosophila* gibt es zwei weitere Gene, die große Ähnlichkeit zu *paired* aufweisen. Dies sind *gooseberry-neuro (gsn)* und *gooseberry (gsb)*. Die drei Gene in *Drosophila* sind das Resultat zweier Duplikationsprozesse. Wie ihre Orthologen aus den Vertebraten, *Pax3* und *Pax7*, gehören sie zur Pax III Gruppe. Aus *Schistocerca gregaria* sind zwei Gene dieser Gruppe identifiziert worden (Davis et al., 2001). Die Duplikation des Gens in *Schistocerca* scheint unabhängig von denen in *Drosophila* entstanden zu sein (Davis et al., 2001). Neben den Daten aus Insekten liegen nur welche aus den Cheliceraten vor. Aus der Milbe *Tetranychus urticae* konnte ein Fragment isoliert werden, das Ähnlichkeit zu *paired* aufweist. Aus der Spinne *Cupiennius salei* konnten vier solcher Gene isoliert werden (Damen, persönliche Mitteilung).

Die Suche nach Mitgliedern der Pax III Gruppe in *Glomeris* führte zur Isolation zweier Fragmente. Beide verfügen über die *paired*-Domäne sowie die „extended“ Homöodomäne und eine kurze Polypeptidsequenz, die als Oktapeptid bezeichnet wird (Abb. 3.57). Das

Oktapeptid ist charakteristisch für die Mitglieder der Pax III Gruppe, obwohl diese dem *Drosophila* Gen *paired* fehlt (Abb. 3.57). Daher ist davon auszugehen, dass die Fragmente aus *Glomeris* zur Gruppe der Pax III Gene zählen.

Da die Fragmente aus *Drosophila* unabhängig dupliziert wurden, sind die orthologen Gene aus *Schistocerca* als *pairberry1* und *pairberry 2* (*pby1* und *pby2*) bezeichnet worden, um zu verdeutlichen, dass es sich um Orthologe aller drei Pax III Gruppe Gene handelt. Ähnlich verhält es sich im Fall der Spinne (*Cs-pby1-4*). Das Fragment aus der Milbe ist aus gleichem Anlass als *Tu-Pax3/7* bezeichnet worden.

In Anlehnung an die Nomenklatur aus *Schistocerca* werden die Fragmente aus *Glomeris* als *Gm-pby1* und *Gm-pby2* bezeichnet. Eine spezielle Verwandtschaft von z.B. *Gm-pby1* zu *Sg-pby1* soll dabei aber nicht suggeriert werden. Von den beiden *Glomeris*-Genen gibt nur die Expression von *pby1* Anlass zu der Vermutung, dass eine Funktion in der Segmentierung vorliegt.

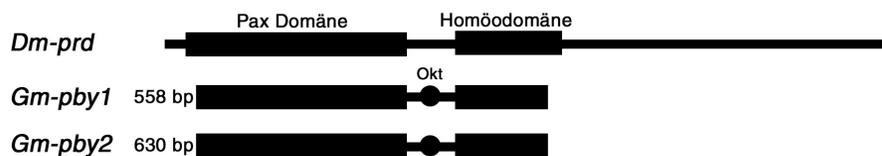


Abb. 3.57 Schematische Darstellung der proteinkodierenden Bereiche von *paired* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.4.14 Die Expression von *Glomeris pairberry1* (*pby1*)

Früheste Expression zeigt sich im Stadium 0.4 in Form segmentaler Streifen. In alternierenden Segmenten ist dabei die Intensität der Expression erhöht (Abb. 3.58A, Sterne). Diese stärkere Expression befindet sich im Primordium des Prämandibularsegmentes sowie im Maxillarsegment und im ersten Rumpfsegment (Abb. 3.58A, Pfeile). Die Stärke der Expression in den dazwischenliegenden Segmenten (Mandibularsegment, Postmaxillarsegment und zweites Rumpfsegment) ist anfangs nur schwach zu erkennen, erhöht sich aber im anschließenden Stadium 0.5. Die Intensität der Expression im Prämandibularsegment ist zusätzlich erhöht (Abb. 3.58B). Dies ist auch im Stadium 1 der Fall. Zusätzlich erscheint nun auch Expression im Antennensegment (Abb. 3.58C). In

späteren Entwicklungsstadien ist das Expressionsprofil auf die ventralen Bereiche des Keimstreifens zwischen den Extremitäten beschränkt (Abb. 3.58D-F), wobei zu beiden Seiten der ventralen Mittellinie je eine Domäne stärkerer Expression im Neuroektoderm entsteht (Abb. 3.58E, Pfeil). Die Expression auf Höhe der ventralen Mittellinie zwischen diesen Punkten verschwindet darauf hin (Abb. 3.58F).

Die Laufbeine exprimieren kein *pby1*. Die Lage der segmentalen Expression von *pby1* ist mittels einer gleichzeitigen Färbung von *engrailed* analysiert worden (Abb. 3.59). Es zeigt sich, dass diese mit der Expression von *pby1* anscheinend z.T. überlappend ist. Die anteriore Expressionsgrenze von *pby1* (Pfeil) liegt aber weiter anterior als die von *en* (Pfeilkopf).

Außer der beschriebenen segmentalen Expression ist *Glomeris pby1* auch in der Wachstumszone früher Stadien exprimiert (Abb. 3.58A/B). In späteren Stadien bleibt die Wachstumszone frei von Transkripten. Die segmentalen Streifen bilden sich erst nachdem das jeweils jüngste Segment bereits morphologisch, durch die Bildung der Intersegmentalfurche erkennbar, gebildet worden ist.

#### 3.4.15 Die Expression von *Glomeris pairberry2* (*pby2*)

Transkripte von *pby2* finden sich lediglich in späten Entwicklungsstadien. Einzelne Zellen in den Mandibeln, der Maxille und den Laufbeinen exprimieren *pby2* (Abb. 3.60, Pfeile).

#### 3.4.16 Das *Glomeris sloppy paired* Gen

Das Gen *sloppy paired* gehört zu den Transkriptionsfaktoren mit einer Forkhead-Domäne. In *Drosophila* gibt es zwei Paraloge, von denen man auf Grund ihrer nachbarschaftlichen Lage im Genom und ihrer Ähnlichkeit annimmt, dass sie aus einer Tandemduplikation hervorgegangen sind. Obwohl *sloppy paired* eine besondere Rolle während der Segmentierung spielt, ist es lediglich in *Drosophila* eingehend studiert worden. Aus *Glomeris* ist ein DNA-Fragment isoliert worden, welches für einen Teil der Forkhead-Domäne kodiert (Abb. 3.61). Die phylogenetische Analyse hat ergeben, dass das Fragment aus *Glomeris* mit hoher statistischer Signifikanz mit den beiden *sloppy paired* Sequenzen

aus *Drosophila* zusammenfällt (RV 94) (Abb. 3.62). Das Fragment wird folglich als *Glomeris sloppy paired* (*Gm-slp*) Ortholog bezeichnet.



Abb. 3.61 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *sloppy paired 1* in *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.4.17 Die Expression von *Glomeris sloppy paired* (*slp*)

Im Blastodermstadium ist *Gm-slp* in einer Domäne exprimiert, die den Primordien des Prämandibular- und des Mandibularsegments entspricht (Abb. 3.63A/B, Pfeilkopf). Gleichzeitig ist im Bereich des späteren ersten und zweiten Rumpfabschnitts schwache Expression zu erahnen (Abb. 3.63A). In den nachfolgenden Stadien erscheint zunächst zusätzliche segmentale Expression in den Primordien des zweiten Rumpfabschnitts (Abb. 3.63B) und dann auch in den Primordien des Maxillarsegments und des dritten Rumpfabschnitts sowie den optischen Loben (Abb. 3.63C). Im Stadium 0.3 spaltet sich die Expressionsdomäne, die zu Prämandibular- und Mandibularsegment gehört, auf (Abb. 3.63D, Pfeilkopf). Zusätzlich ist *slp* jetzt auch im Postmaxillarsegment vorhanden. Mit der links-rechts Kontraktion des Keimstreifens reduziert sich die segmentale Expression allmählich auf die ventralen Bereiche des Keimstreifens (Abb. 3.63E/F). Lediglich die Expression in den neu gebildeten posterioren Segmenten expandiert ein wenig in die Dorsalmembran, die noch nicht die dorsalen Segmente darstellt (Abb. 3.63E/F). Ab etwa dem Stadium 2 wird aus den segmentalen Streifen ein neuronales Expressionsprofil, bei dem nur bestimmte Bereiche im Neuroektoderm *slp* exprimieren (Abb. 3.63G-I, Pfeile und Pfeilköpfe). In den jüngeren Segmenten wird *sloppy paired* noch immer in Form von segmentalen Streifen exprimiert. Diese Streifen befinden sich in der Wachstumszone (Abb. 3.63H/I/i, Sterne). Eine Expressionsdynamik wie im Fall von z.B. *even-skipped* ist hier nicht festzustellen. Auch Teile des Gehirns exprimieren *sloppy paired* (Abb. 3.63G-I). Die Lage der Expression in den Extremitäten ist hier nicht untersucht worden.

**Abb. 3.39** Expression von *even-skipped* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0. Ventrale Ansicht. **B** Stadium 0. Posteriore Ansicht. **C** Stadium 0.2. **D** Stadium 0.3. Stern deutet beginnende Expression in der Wachstumszone an. **E** Stadium 0.4. Stern wie in D. **F** Stadium 1. Stern wie in D und E. Pfeil deutet auf intensivere Färbung in der Wachstumszone. **G** Stadium 4. Pfeil deutet auf Expressionsstreifen in Neuroektoderm. **H** Stadium 6. Schwarzer Pfeil wie in G. Weißer Pfeil deutet auf einzelne *eve* positive Zellen im Neuroektoderm. Pfeilkopf deutet auf Dorsalgefäß. **I** Stadium 6.1. Pfeilkopf wie in H. **A' - F'** Zu A-F korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

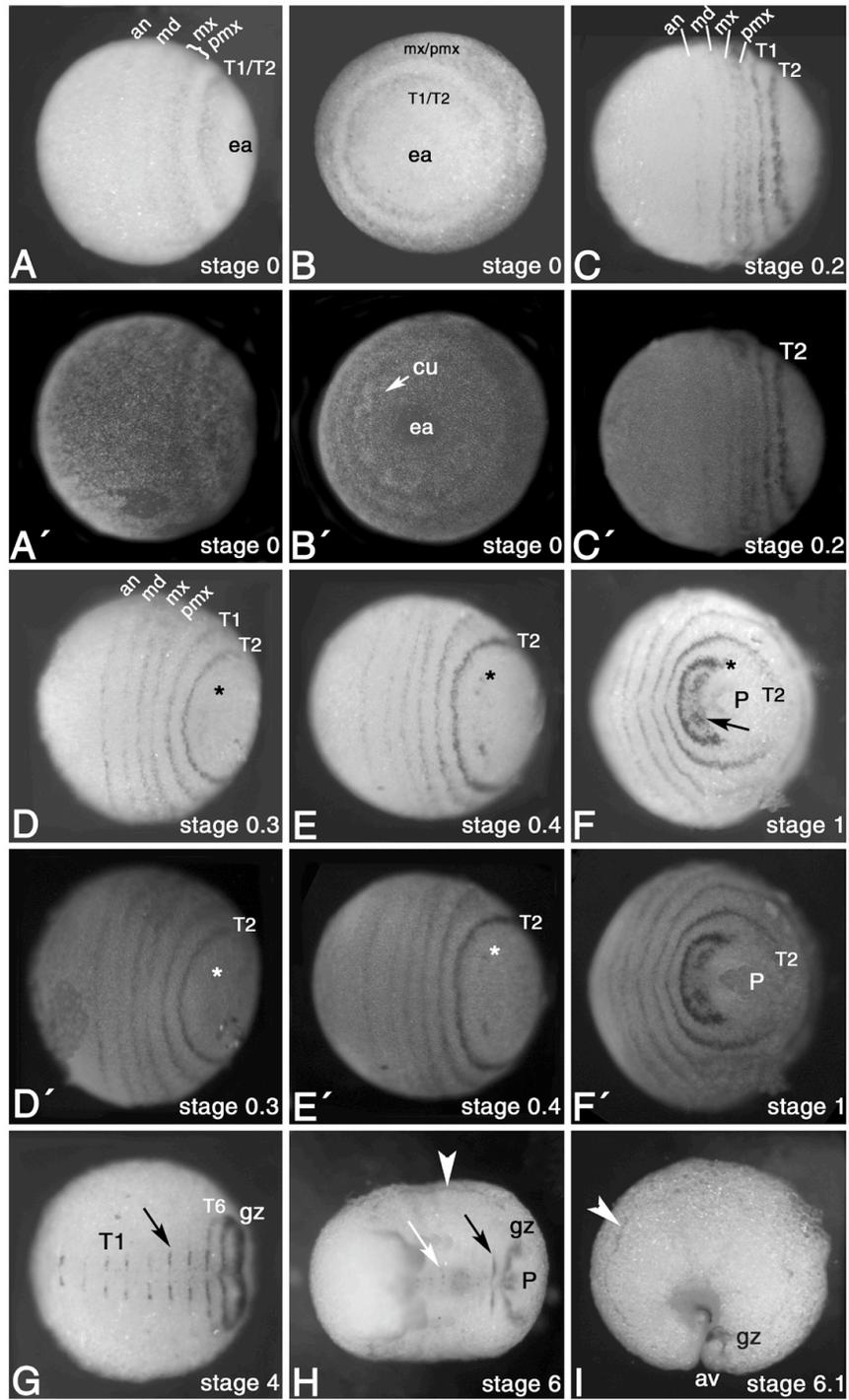
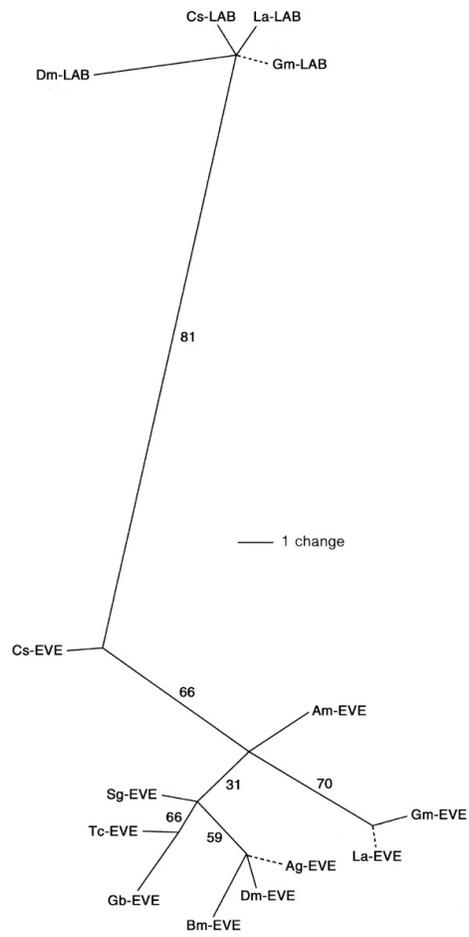


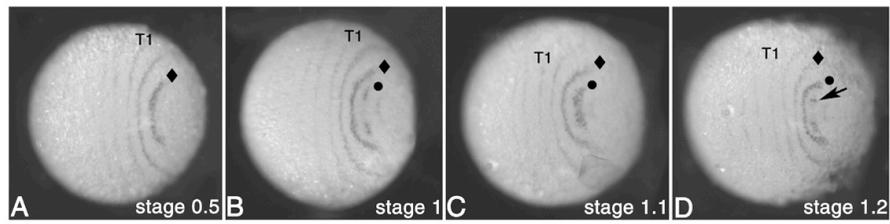
Abb. 3.39

**Abb. 3.37** Phylogenetische Analyse der Homöodomänen Proteine EVE und LAB aus diversen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.40** Dokumentation dynamischer *even-skipped* Expression in der Wachstumszone von *Glomeris* Embryos in aufeinander folgenden Entwicklungsstadien. **A** Stadium 0.5. Raute deutet Expression im neu gebildeten Segment (T3) an. **B** Stadium 1. Raute wie in A. Punkt deutet neue Expression in der Wachstumszone an. **C** Stadium 1.1. Punkt und Raute wie in B. Expressionsdomäne in der Wachstumszone wird breiter. **D** Stadium 1.2. Raute markiert Expression in T3. Punkt markiert Expression im neu entstandenen Segment T4. Pfeil deutet auf neue Expression in der Wachstumszone (vgl. Punkt in B). Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.37**



**Abb. 3.40**

**Abb. 3.42** Phylogenetische Analyse der bHLH Proteine der *hairy*-Gruppe aus *Drosophila* und anderen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.43** Expression von *hairy-1* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 5. Pfeile deuten auf Expression in den Extremitäten. Pfeilkopf deutet auf Expression im Gehirn. Stern deutet Expression in den Lateralplatten an. **B** Gleicher Embryo wie in A. Blick auf die dorsale Seite. Sterne deuten Expression in der Dorsalmembran an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

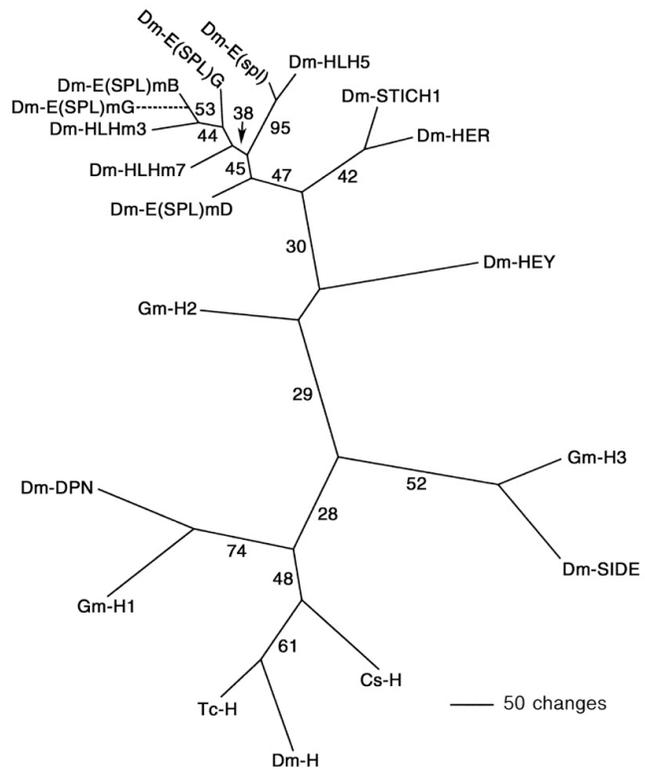


Abb. 3.42

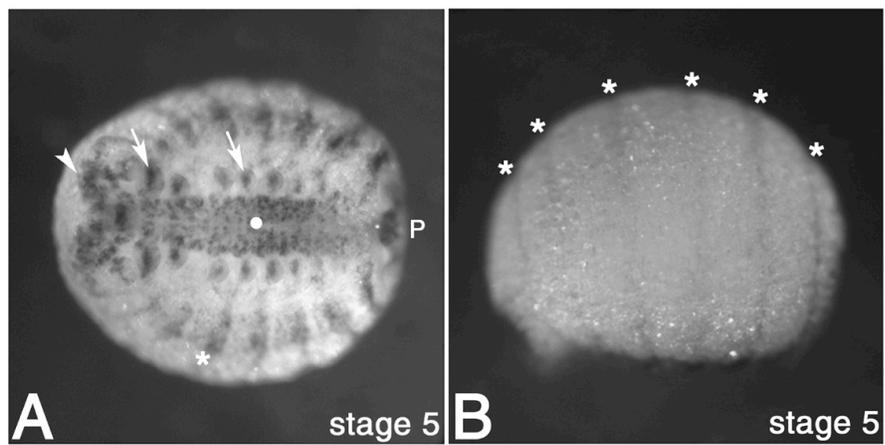
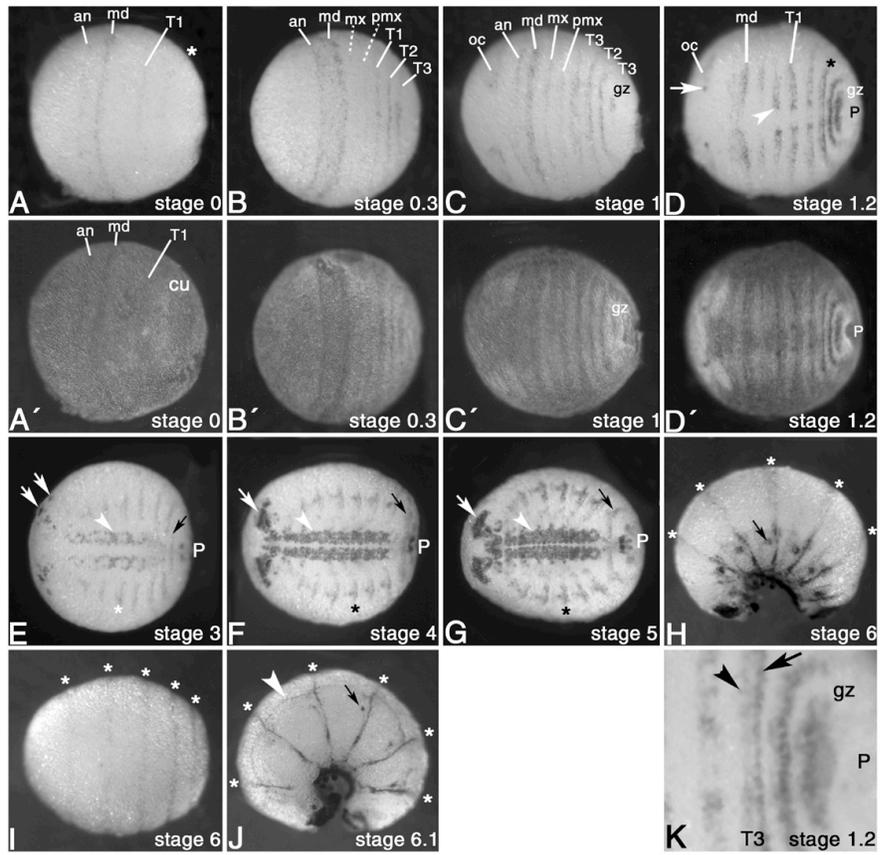


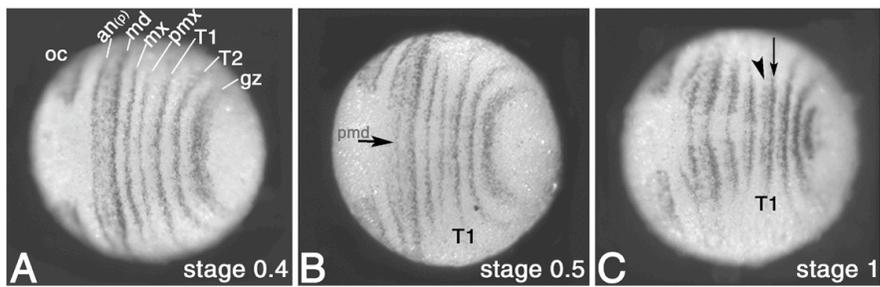
Abb. 3.43

**Abb. 3.44** Expression von *hairy-2* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0. Stern deutet Expression in der Wachstumszone an. **B** Stadium 0.3. Gestrichelte Linien deuten auf schwächer gefärbte Segmente. **C** Stadium C. **D** Stadium 1.2. Pfeil deutet auf verstärkte Expression im Bereich der optischen Loben. Pfeilkopf deutet auf verstärkte Expression entlang der ventralen Mittellinie. Stern deutet verstärkte Expression im posterioren Bereich des Expressionsstreifens an (Vgl. Pfeil in K). **E** Stadium 3. Weiße Pfeile deuten auf Expression im Gehirn. Pfeilkopf deutet auf Neuroektoderm. Schwarzer Pfeil deutet auf transiente Expression im neu gebildeten Segment. **F** Stadium 4. Pfeile und Pfeilkopf wie in E. Stern deutet Expression in den Lateralplatten an. **G** Stadium 5. Pfeile, Stern und Pfeilkopf wie in F. **H** Stadium 6. Seitliche Ansicht. Pfeil deutet auf Expression in den Lateralplatten. Sterne deuten Expression in der Dorsalmembran an. **I** Stadium 6. Dorsale Ansicht. Sterne wie in H. **J** Stadium 6.1. Pfeilkopf deutet auf Dorsalgefäß. Sterne und Pfeil wie in H. **K** Stadium 1.2. Großaufnahme der Wachstumszone und der posterioren Segmente. Pfeilkopf deutet auf schwächere Expression im neu gebildeten Segment, Pfeil auf verstärkte posteriore Expression in diesem Segment. **A'-D'** Zu A-D korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.45** Coexpression von *hairy-2* und *engrailed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.4. **B** Stadium 0.5. Pfeil deutet auf neu gebildeten *engrailed*-Streifen im Prämandibularsegment. **C** Stadium 1. Pfeil deutet auf *engrailed* Expression im Segment (T1); Pfeilkopf deutet auf *hairy-2* Expression im gleichen Segment (T1). an(p), posteriorer Teil des Antennensegments. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

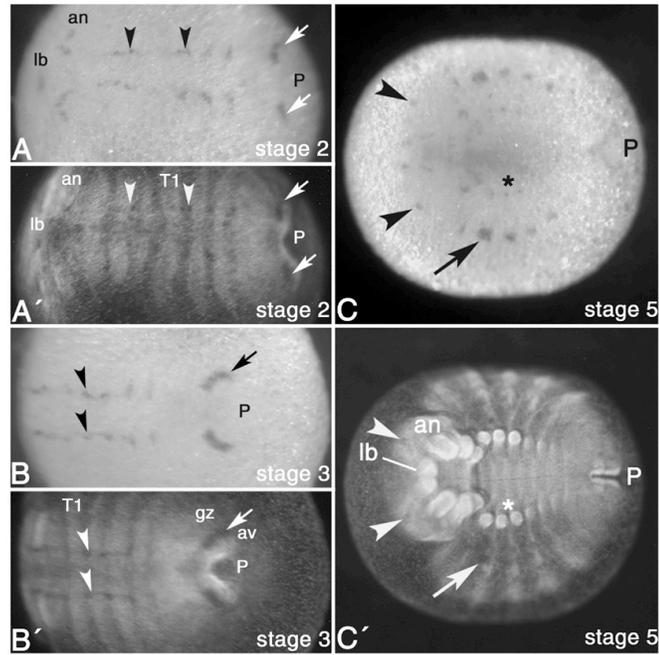


**Abb. 3.44**



**Abb. 3.45**

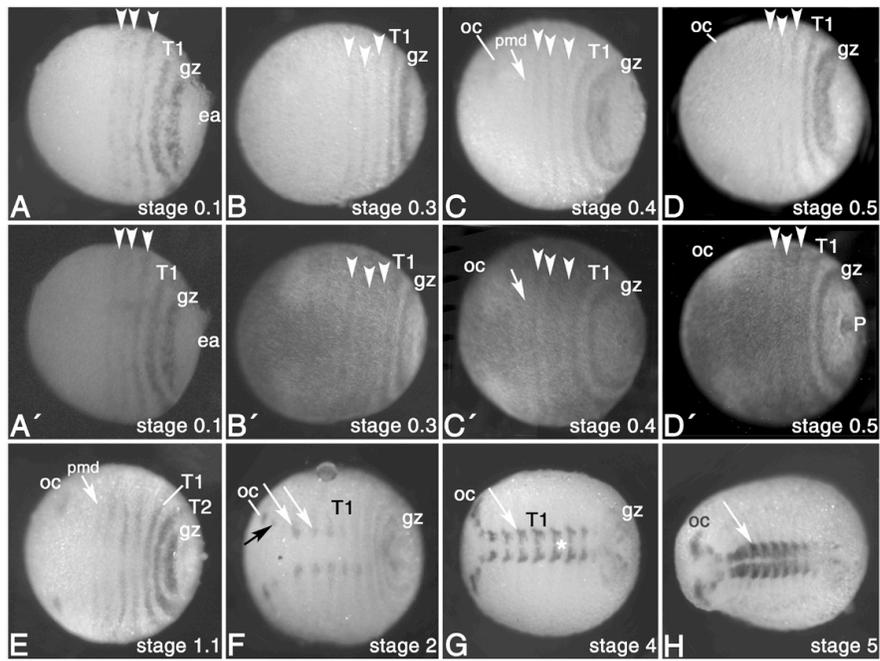
**Abb. 3.46** Expression von *hairy-3* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 2. Ventraler Ausschnitt des Embryos gezeigt. Pfeilköpfe deuten auf Neuroektoderm. Pfeile deuten auf Expression in den Anklappen. **B** Stadium 3. Ventraler Ausschnitt des Embryos gezeigt. Pfeilköpfe und Pfeil wie in A. **C** Stadium 5. Pfeilköpfe deuten auf Expression im Gehirn. Pfeil deutet auf Expression in den Lateralplatten. Stern deutet Expression in den Extremitäten an. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



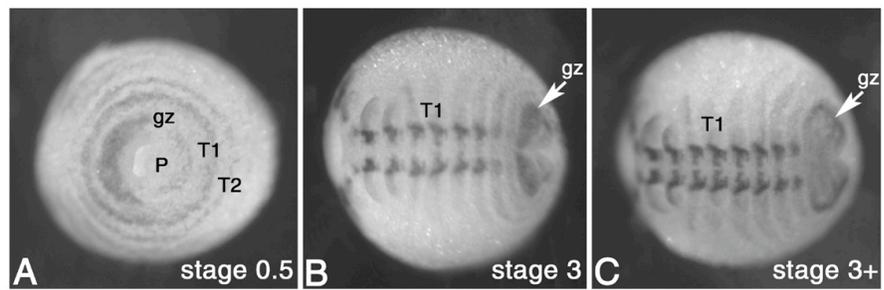
**Abb. 3.46**

**Abb. 3.48** Expression von *runt* in *Glomeris* Embryos Tafel I. **A** Stadium 0.1. Pfeilspitzen deuten auf Expression in den gnathalen Segmenten. **B** Stadium 0.3. Pfeilspitzen wie in A. **C** Stadium 0.4. Pfeilköpfe wie in A. Pfeil deutet auf Prämandibularsegment. **D**. Stadium 0.5. Pfeilköpfe wie in A. **E** Stadium 1.1. Pfeil deutet auf Prämandibularsegment. **F** Stadium 2. Weiße Pfeile deuten auf Neuroektoderm. Schwarzer Pfeil deutet auf Antennensegment. **G** Stadium 4. Weißer Pfeil wie in F. Stern deutet komplexes Expressionsprofil im Neuroektoderm an. **H** Stadium 5. Weißer Pfeil wie in G. **A'-D'** Zu A-D korrespondierende DAPI Expression. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb.3.49** Expression von *runt* in *Glomeris* Embryos Tafel II. **A** Stadium 0.5. Posteriore Ansicht. **B** Stadium 3. Pfeil deutet auf die Wachstumszone. **C** Stadium 3+ (etwas weiter entwickelt als Embryo in B). Pfeil deutet auf die Wachstumszone. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

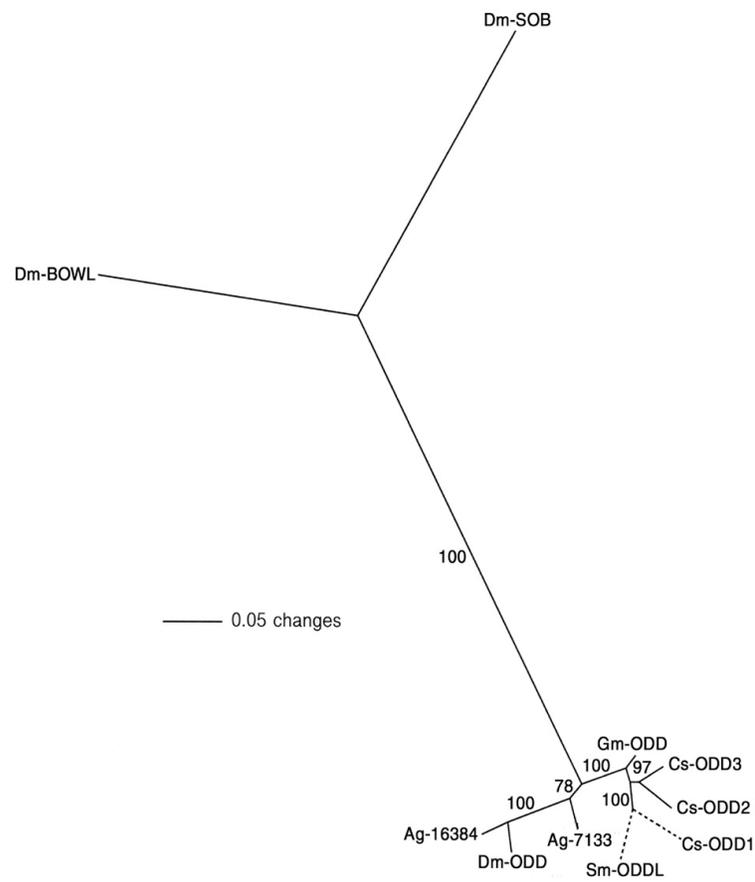


**Abb. 3.48**



**Abb. 3.49**

**Abb. 3.51** Phylogenetische Analyse von Proteinen der *odd-skipped* Familie aus *Drosophila* und anderen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.51**

**Abb. 3.52** Expression von *odd skipped* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.1. Pfeilkopf deutet auf die Wachstumszone. Stern deutet Expression in den Anlagen des Vorderdarms an. **B** Stadium 0.5. Fokus auf den Kopfbereich. Pfeile deuten auf Expression in den Primordien der Kopfextremitäten. Stern wie in A. **C** Stadium 5. Pfeil wie in B. Pfeilköpfe deuten auf Expression in den Rumpfsegmenten T2 und T3. Stern wie in A. **D** Stadium 1.2. Stern wie in A. Pfeilköpfe deuten auf T1 und T2. Punkt deutet veränderte Expression im Bereich des Stomodäums an (siehe auch d). Stern wie in A. **d** Großaufnahme der stomodäalen Expression aus D. Stern und Punkt wie in D. **E** Stadium 2. Pfeilköpfe wie in D. Pfeil deutet auf Neuroektoderm. Viereck deutet Expressionsdomäne in der Wachstumszone an. **F** Stadium 3. Viereck wie in E. **G** Stadium 4.1. Pfeil wie in E. Pfeilköpfe wie in D. **H** Stadium 5. Pfeil, Pfeilköpfe und Viereck wie in G. **I** Stadium 4.1. Dorsale Ansicht. Pfeilköpfe deuten auf Expression in der Dorsalmembran. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.53** Coexpression von *odd skipped* und *engrailed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 5. Pfeil deutet auf *engrailed* Expression. Pfeilkopf deutet auf *odd skipped* Expression. **a** Großaufnahme eines Bereichs des Embryos aus A. Pfeil und Pfeilkopf wie in A. Klammer umreißt *odd skipped* Expression. Stern deutet *engrailed* Expression im Laufbein an.

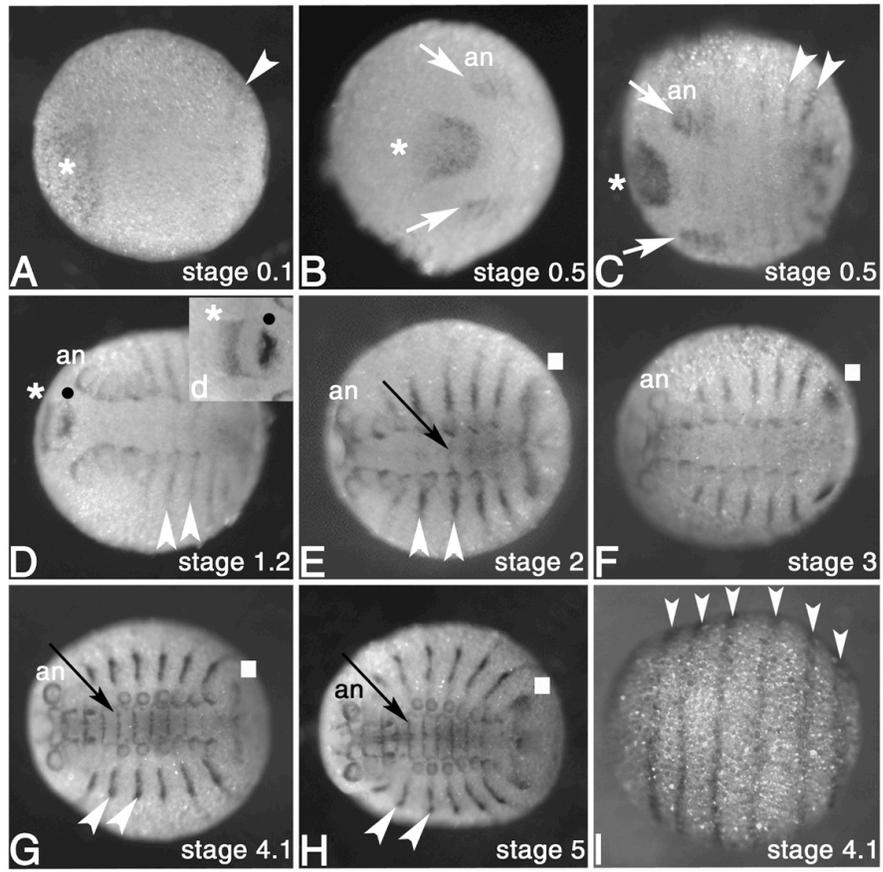


Abb. 3.52

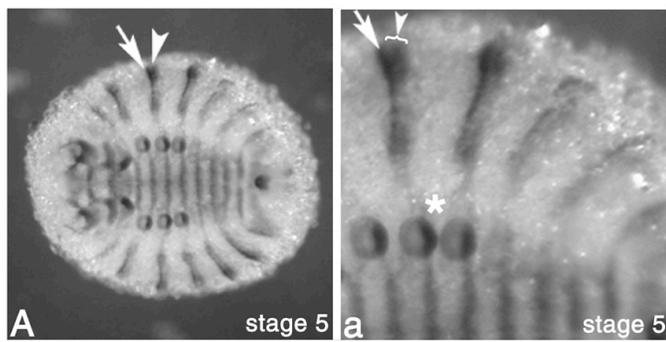
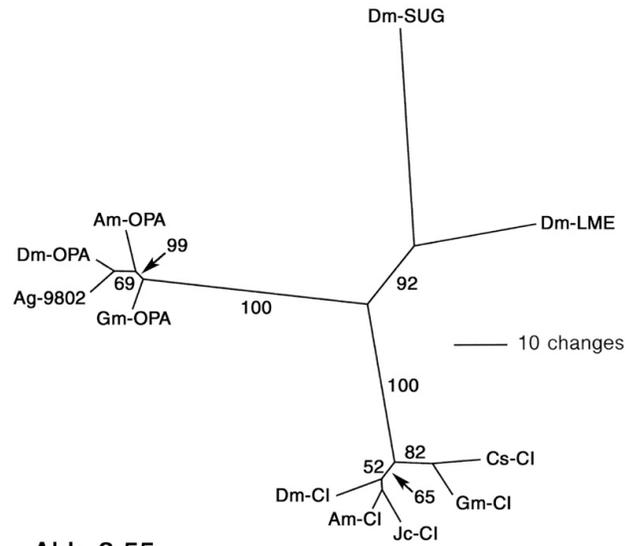


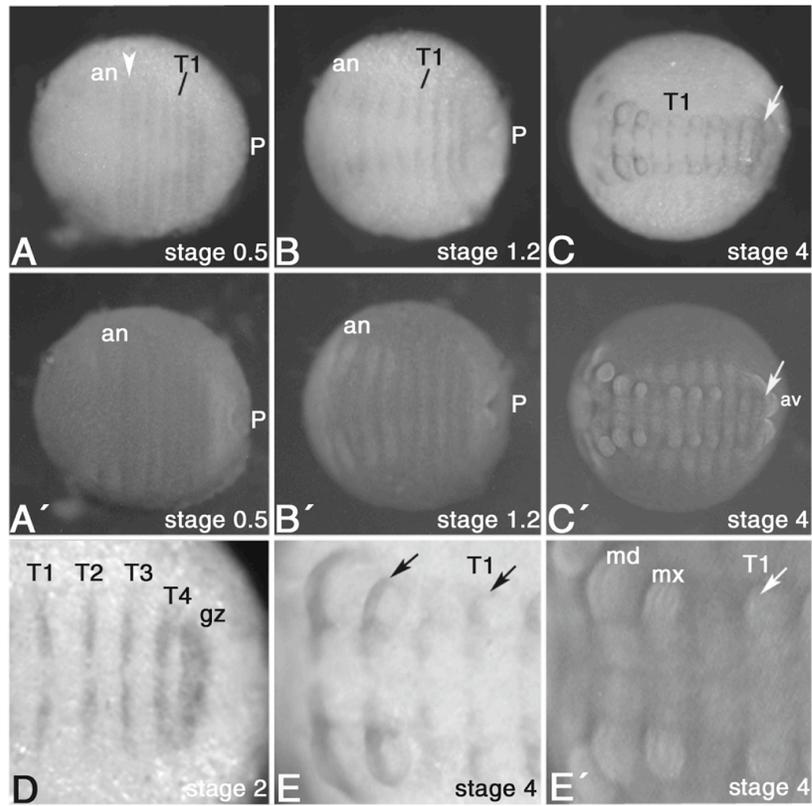
Abb. 3.53

**Abb. 3.55** Phylogenetische Analyse von C2H2 Zinfinger Proteinen mit Verwandtschaft zu OPA aus diversen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.56** Expression von *odd-paired* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.5. Pfeilkopf deutet auf Primordium von Prämandibular- und Mandibularsegment. **B** Stadium 1.2. **C** Stadium 4. Pfeil deutet auf Wachstumszone. **D** Stadium 2. Großaufnahme der Rumpsegmente und der Wachstumszone. **E** Stadium 4. Pfeile deuten auf Expression anterior in den Extremitäten. **A'-E'** Zu A-E korrespondierende DAPI Färbungen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.55**



**Abb. 3.56**

**Abb. 3.58** Expression von *pairberry-1* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.4. Pfeile deuten auf schwächere Expression in md, pmx und T2. Sterne deuten auf starke Expression in pmd, mx und T1. **B** Stadium 0.5. Pfeile und Sterne wie in A. **C** Stadium 1. **D** Stadium 2. **E** Stadium 3. Pfeil deutet auf Neuroektoderm. **F** Stadium 4.1. Pfeilkopf deutet auf Expression im neu gebildeten Segment. **A'-F'** Zu A-F korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

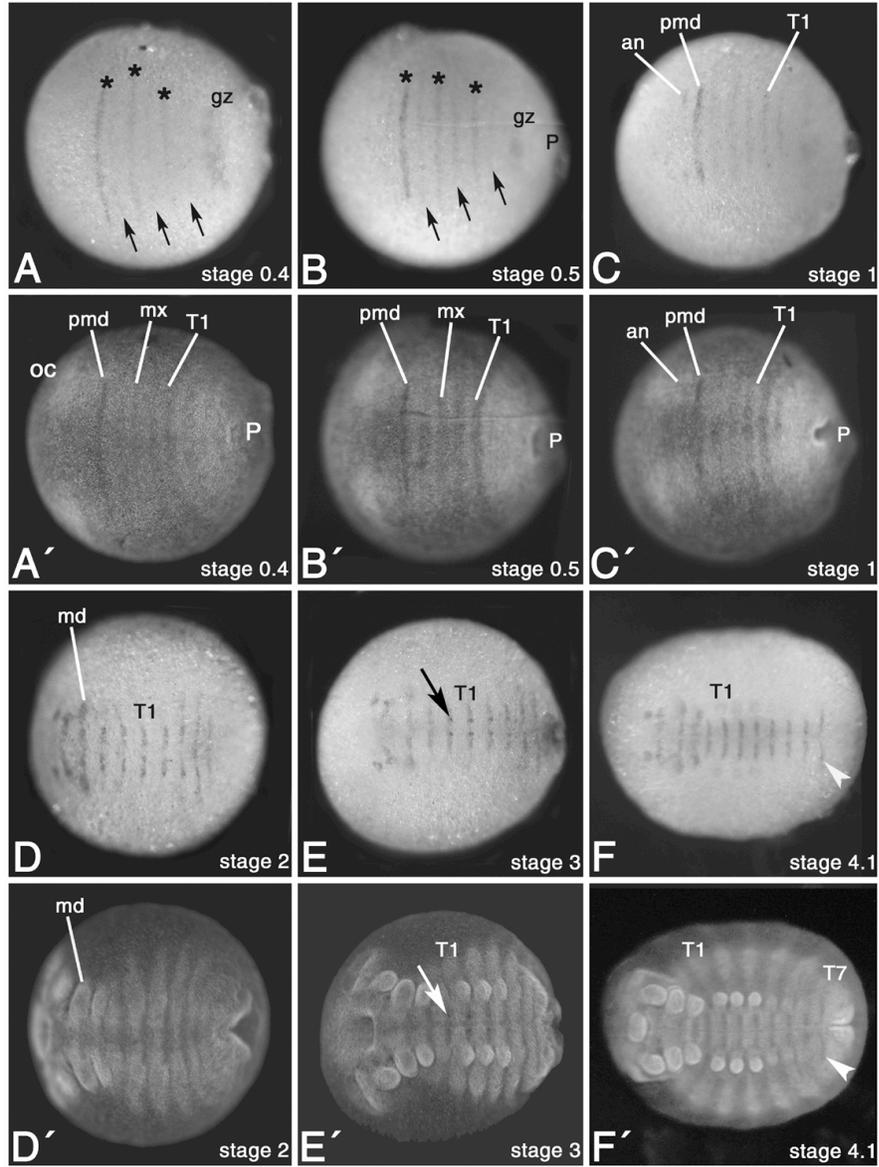


Abb. 3.58

**Abb. 3.59** Coexpression von *pairberry-1* und *engrailed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 3. **a** Stadium 3, Großaufnahme. Gezeigt ist ein Ausschnitt des Embryos aus A. Pfeil deutet auf *pairberry-1* Expression. Pfeilkopf deutet auf *engrailed* Expression. Stern verweist auf *ppy-1* typische punktförmige Expression im Neuroektoderm. **A' und a'** Zu A und a korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.60** Expression von *pairberry-2* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 5. Pfeile deuten auf Expression in den Rumpfextremitäten. **a** Stadium 5, Großaufnahme. Gezeigt ist ein Ausschnitt des Embryos aus A. Pfeile deuten auf Expression in md und mx. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

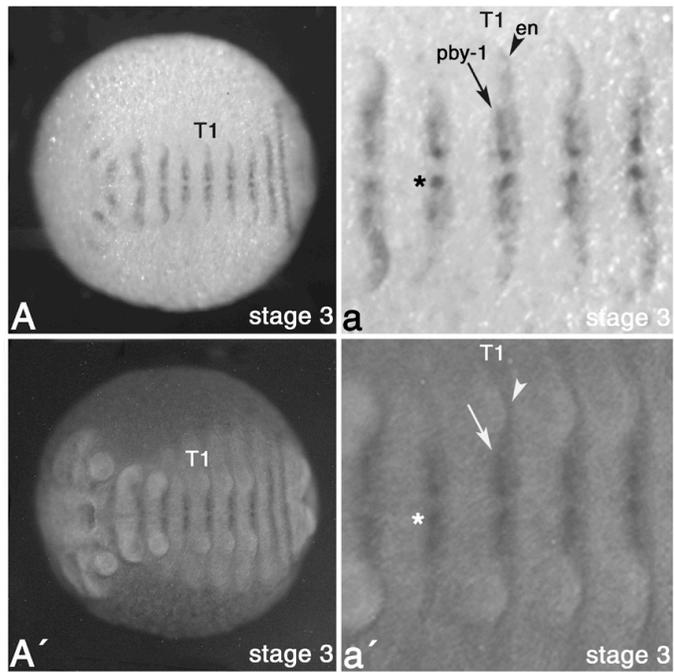


Abb. 3.59

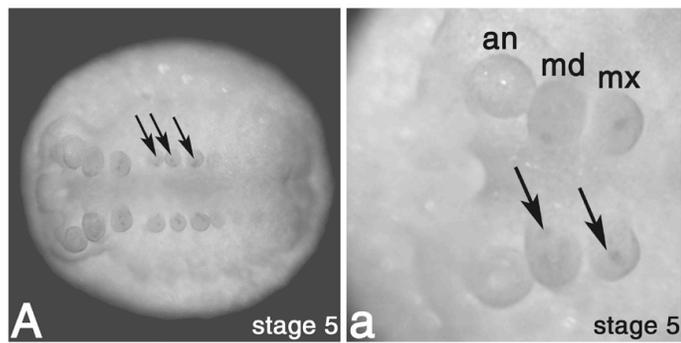


Abb. 3.60

**Abb. 3.62** Phylogenetische Analyse von Proteinen der Forkhead-Gruppe. Die Analyse umfasst Proteine aus *Drosophila*, die Ähnlichkeit mit SLP aufweisen und das aus *Glomeris* isolierte SLP Orthologon. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

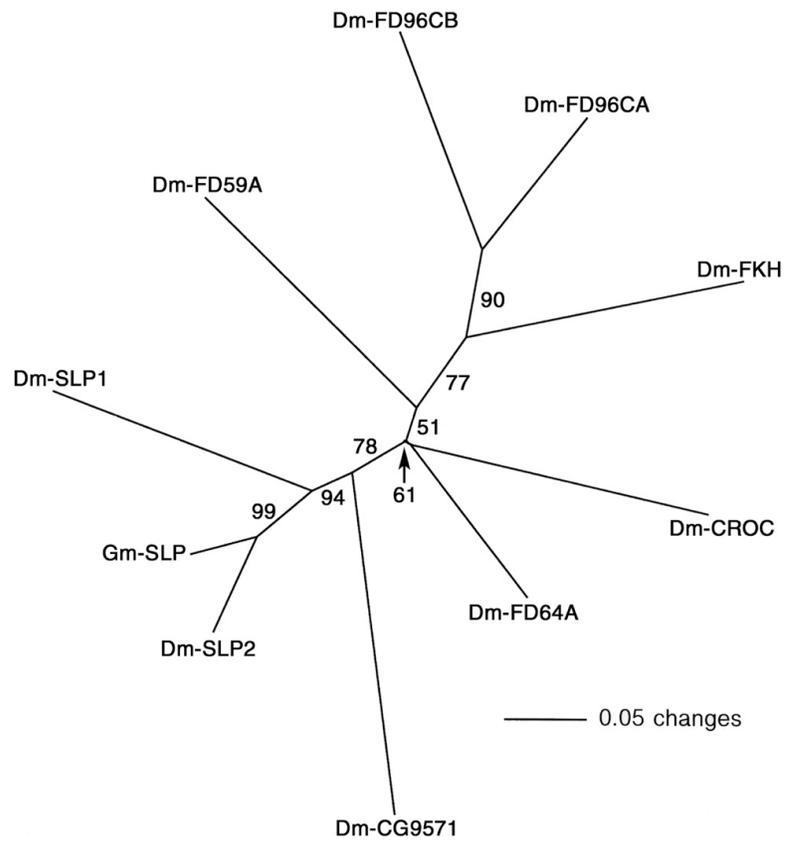


Abb. 3.62

**Abb. 3.63** Expression von *sloppy paired* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0. Pfeilkopf deutet auf Primordien des pmd und md. Gestrichelte Linie deutet auf schwache Expression in T1. **B** Stadium 0.1. Pfeilkopf wie in A. **C** Stadium 0.2. Pfeilkopf wie in A. Stern deutet schwache Expression im pmx an. **D** Stadium 0.3. Pfeilkopf wie in A. **E** Stadium 1. **F** Stadium 1.2. **G**. Stadium 2. Pfeilkopf deutet auf das Neuroektoderm. **H** Stadium 3. Pfeilkopf wie in G. Pfeil deutet auf ventrale Mittellinie. Stern deutet auf Expression im anterioren Teil der Wachstumszone. **I** Stadium 4. Pfeil und Stern wie in H. **i** DAPI Aufnahme der Wachstumszone. Gleicher Embryo wie in I. Stern wie in I. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

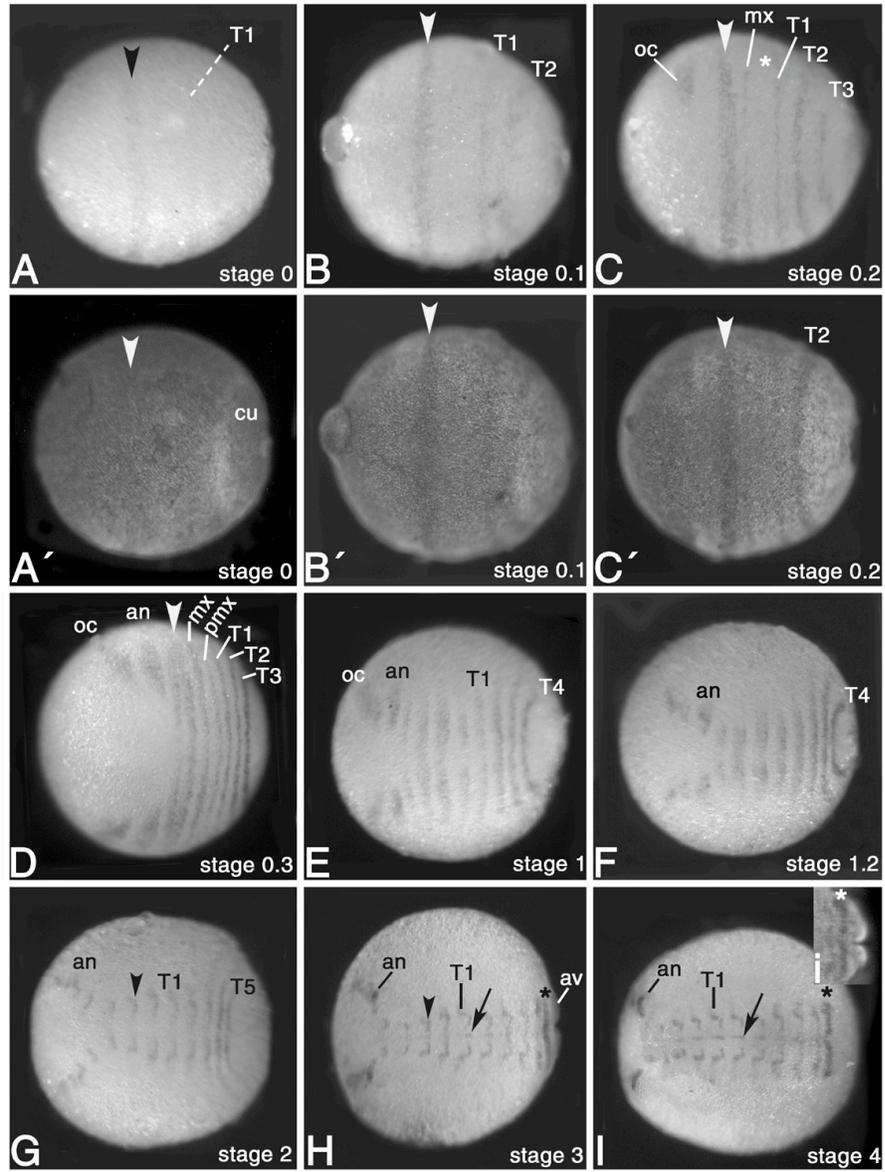


Abb. 3.63

### 3.5 Die Lückengene

#### 3.5.1 Das *Glomeris hunchback* Gen

Bei *hunchback* handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor mit einer Vielzahl an C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> Zinkfingermotiven, die als DNA-bindende Domänen dienen. Diese liegen über die Sequenz verteilt. In *Drosophila* gibt es sechs solcher Zinkfinger (Tautz et al., 1987). Vier davon befinden sich in direkter räumlicher Nähe zueinander im mittleren Teil des Proteins, während zwei am C-terminalen Ende liegen. Der Vergleich orthologer Sequenzen aus anderen Arthropoden, einem Nematoden und einem Anneliden zeigt, dass die Anzahl der Zinkfinger variabel ist (Abb. 3.64 und 3.65).

In *Glomeris* lassen sich zwei verschiedene Transkripte finden, die große Ähnlichkeit zu *hunchback* aus *Drosophila* aufweisen. Die beiden *Glomeris* Transkripte unterscheiden sich lediglich in Länge und Sequenz des 5'-Bereichs der 5'UTR (Abb. 3.65; siehe Anhang) Dies legt die Vermutung nahe, dass die Transkription der beiden Transkripte unterschiedlich reguliert wird. Ebenso verhält es sich im Fall von *Drosophila hunchback*, wo ebenfalls zwei verschiedene 5'UTR vorkommen, die unterschiedlich reguliert werden (Tautz et al., 1987). So wird beispielsweise nur eines dieser zwei Transkripte maternal exprimiert (Tautz et al., 1987). Ähnlich verhält es sich für den Mehlkäfer *Tribolium castaneum*, wo auch unterschiedliche Promotorregionen gefunden wurden (Wolff et al., 1995), und auch hier wird eine lediglich zygotisch aktiviert (Wolff et al., 1995).

Im Vergleich zu *Drosophila* gibt es in *Glomeris* zusätzlich zwei N-terminale Zinkfinger motive. Ein weiterer Zinkfinger befindet sich im Bereich des Proteins vor den beiden C-terminalen Zinkfingern (Abb. 3.64 und 3.65). Insgesamt sind also neun Zinkfinger vorhanden. Genau wie in der Spinne *Cupiennius* und einem Anneliden (Abb. 3.65 B).

Um die Orthologie der *Glomeris hunchback* Sequenz zu zeigen ist auch hier eine phylogenetische Analyse durchgeführt worden (Abb. 3.66). Einbezogen worden sind eine Vielzahl orthologer Sequenzen aus Insekten (*Drosophila*, *Anopheles*, *Megaselia*, *Tribolium*, *Schistocerca*, *Locusta*, *Oncopeltus*), der Spinne *Cupiennius*, dem Anneliden *Helobdella* und dem Nematoden *Caenorhabditis*. Außerdem sind die nächsten zu *Drosophila hunchback* verwandten Gene aus dem Genom von *Drosophila* herangezogen worden (*CG12299*, *rn*, *gl*). Die Analyse zeigt, dass die Sequenz aus *Glomeris* mit den *hunchback* Orthologen aus

hemimetabolen Insekten zusammenfällt (RV 71), aber von diesen klar getrennt ist (RV 73). Des Weiteren fallen alle *hunchback* Sequenzen zusammen und trennen sich von den nicht-*hunchback* Orthologen aus *Drosophila* (RV55). Die Orthologie des hier vorliegenden Genfragments aus *Glomeris* zu *hunchback* aus *Drosophila* und anderen Tieren ist somit sehr wahrscheinlich.

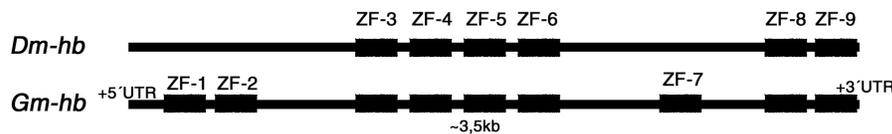


Abb. 3.64 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *hunchback* in *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.5.2 Die Expression von *Glomeris hunchback* (*hb*)

*Glomeris hunchback* ist bereits im Blastodermstadium stark exprimiert. Die Expression erscheint in einer anterioren Kappe, die etwa 60% des Blastoderms einnimmt (Abb. 3.67A). Diese Kappe weist eine deutliche Abgrenzung gegen solches Gewebe auf, das kein *hunchback* exprimiert (Pfeil). Neben der anterioren Kappe sind auch Transkripte im Bereich des Kumulus zu erkennen. Letztere Expression wird durch die gesamte beobachtbare Embryonalentwicklung hindurch beibehalten. Bereits im nächsten Stadium (Stadium 0.1) zeichnet sich eine verstärkte Transkription in der posterioren Region der kappenähnlichen Expressionsdomäne ab (Abb. 3.67B, Klammer), wobei die Schärfe der posterioren Expressionsgrenze erhalten bleibt (Abb. 3.67B, Pfeil). Im Stadium 0.2 verschwindet allmählich die Expression, die den anterioren Teil des Embryos einnimmt (Abb. 3.67C, Stern). Die posteriore Expressionsgrenze allerdings bleibt erhalten (Pfeil), und auch das transversale Band stärkerer Expression verbleibt (Klammer). Eine Coexpression in nachfolgenden Stadien (Stadien 0.3, 0.4 und 0.5) von *hunchback* und *engrailed* in jeweils demselben Embryo macht deutlich, dass die verbleibende bandförmige Expression den gnathalen Segmenten (Mandibular-, Maxillar- und Postmaxillarsegment) zuzurechnen ist (Abb. 3.68A-C). Unterstützt wird diese Feststellung durch die Expression von *hunchback* im Stadium 0.5 (Abb. 3.67D). Zu diesem Zeitpunkt ist *hunchback* nämlich in transversalen segmentalen Streifen ausgeprägt. Dies ermöglicht ebenfalls die Zuordnung der ehemals

bandförmigen Expressionsdomäne wie zuvor beschrieben. Mit der segmentalen Expression löst sich auch die gnathale Expressionsdomäne auf (Abb. 3.67D, Klammer). Zusätzlich erscheint starke de novo Expression in den optischen Loben (oc). Es fällt auf, dass die segmentale Ausprägung ventral schwächer ist als dorsal. Dies ist vermutlich das Resultat der unterschiedlichen Gewebedicke in ventralen und dorsalen Bereichen des Keimstreifens in diesen Stadien, denn das gleiche Phänomen ist im Stadium 1 zu erkennen, obwohl hier die rechts-links Kontraktion des Keimstreifens bereits weiter fortgeschritten ist (Abb. 3.67E). Es kommt nun zu einer Akkumulation von Transkripten in den Bereichen des zukünftigen ventralen Neuroektoderms (Abb. 3.67E, Pfeilkopf). In den nachfolgenden Entwicklungsstadien verstärkt sich die spezifische Expression von *hunchback* im Neuroektoderm in allen bis hierhin angelegten Segmenten (Abb. 3.67F/G, Pfeilköpfe). Außerdem ist eine ubiquitäre Grundexpression nach intensiverer Färbung zu erkennen (Abb. 3.67G). Im Vergleich zu dieser scheint es zu einer verstärkten Transkription von *hunchback* im Mandibularsegment zu kommen (Abb. 3.67G, Stern), die auch in späteren Stadien aufrecht erhalten bleibt (Abb. 3.67H, Stern). Neben der verstärkten Expression im Mandibularsegment erkennt man im Stadium 4 auch spezifische Transkripte in den Mandibeln selbst (Abb. 3.67H, Pfeil). Auffällig ist, dass die neuronale Expression auf die jüngsten (posterioren) Segmente beschränkt ist (Abb. 3.67H/h/I, Pfeilkopf). In älteren Segmenten exprimieren nur manche neurale Bereiche weiterhin *hunchback* (Abb. 3.67h/I, Pfeile). Im Stadium 5 schließlich erscheint zusätzliche Expression in Teilen des Kopfs (Abb. 3.67I, weißer Pfeil), und in den dorsalen Segmenten (weißer Pfeilkopf). Die Verhältnisse im Neuroektoderm entsprechen denen des Stadiums 4 (Abb. 3.67H; schwarzer Pfeil und schwarzer Pfeilkopf). Anterior zur Wachstumszone (gz) befindet sich ein einzelner segmentaler Streifen (Abb. 3.67I, Stern).

#### 3.5 3 Nachweis maternaler *hunchback* Transkripte in jungen Oozyten

Die Durchführung einer in situ an ganzen Ovarien ermöglicht eine Erkennung maternaler Transkripte in jungen Oozyten. Im Fall von *hb* sind Transkripte im zytoplasmatischen Bereich dieser deutlich zu erkennen (Abb. 3.69A/B). Die Detektierbarkeit der Expression hängt vom Entwicklungsstadium der Oozyte ab. Da sich der Zellkern sowie das diesen umgebende Zellplasma im Zentrum der Oozyte befinden (Abb. 3.69C), ist eine optische

Wahrnehmung nur in solchen Oozyten möglich, in denen der Anteil des Dotters gering ist. Daher erscheinen weiter entwickelte (größere) Oozyten ungefärbt, obwohl Transkripte vorhanden sein müssten. Histologische Schnitte zum Nachweis von *hunchback* Expression in weiter entwickelten Oozyten sind nicht durchgeführt worden.

#### 3.5.4 Nachweis der Transkription von *hunchback* in Embryos, die nicht für die in situ Technik zugänglich sind, mittels RT-PCR

Zusätzlich zu der per in situ Technik aufgezeigten Expression von *hb* in *Glomeris* konnte auch gezeigt werden, dass *hb* in allen jüngeren zygotischen Stadien (jünger als Stadium 0) aktiv ist. Dies geschah durch Amplifikation von *hunchback* mittels sequenzspezifischer Primer aus cDNA verschieden alter Embryos, die jünger waren als Stadium 0. Außerdem wurden maternale Transkripte in cDNA reifer Oozyten nachgewiesen (Abb. 3.70). Zusätzlich war es möglich, *hunchback* Transkripte mittels spezifischer Primer für die beiden unterschiedlichen 5'UTRs aus maternalen, sowie zygotischer cDNA zu amplifizieren (Abb. 3.71). Somit konnte gezeigt werden, dass im Vergleich zu *Drosophila* in *Glomeris* beide Transkripte sowohl maternal als auch zygotisch exprimiert werden.

#### 3.5.5 Das *Glomeris Krüppel* Gen

Wie auch *hunchback* zählt das Gen *Krüppel* (*Kr*) aus *Drosophila* zu den Lückengenen, und wie *hunchback* ist *Krüppel* ein Transkriptionsfaktor mit einer Zahl von C2H2 Zinkfingermotiven, die als DNA-bindende Domäne dienen (Rosenberg et al., 1985; Jäckle et al., 1985). Im Gegensatz zur Situation in *hunchback* scheint die Anzahl dieser Zinkfinger konstant fünf zu sein (Rosenberg et al., 1985; Jäckle et al., 1985; Schoppmeier, 2003). Sie befinden sich in enger räumlicher Nähe in der Mitte des Proteins (Abb. 3.72).

Außer aus *Drosophila* (z.B. Knipple et al., 1985; Wieschaus et al., 1984; Rosenberg et al., 1985) und anderen Insekten (Sommer und Tautz, 1991; Sommer und Tautz, 1993; Kraft und Jäckle, 1994; Rohr et al., 1999), so wie der Spinne *Cupiennius salei* (Schoppmeier, 2003), wo zwei *Krüppel*-Paraloge bekannt sind, stehen keine Daten zur Funktion oder Expression

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

von *Krüppel*-Orthologen zur Verfügung. Ein eindeutig orthologes *Krüppel*-Gen aus Nematoden, Anneliden oder Vertebraten ist nicht bekannt. Aus *Glomeris* konnte ein Fragment isoliert werden, das Ähnlichkeit zu dem Gen *Krüppel* aus *Drosophila* zeigt. Auch dieses Fragment besitzt fünf Zinkfinger (Abb. 3.72). In die phylogenetische Analyse sind die Orthologen aus den Insekten *Oncopeltus*, *Anopheles* und *Drosophila*, sowie der Spinne *Cupiennius* und zu *Krüppel* verwandte Gene aus dem Genom von *Drosophila* mit eingeflossen (Abb. 3.73). Mit hoher statistischer Signifikanz fallen die bekannten *Krüppel*-Orthologen mit der Sequenz aus *Glomeris* zusammen (RV 99). Innerhalb der Gruppe der *Krüppel*-Orthologen gruppieren die Sequenzen der Dipteren (*Anopheles* und *Drosophila*) zusammen (RV99). Mit weniger deutlicher Signifikanz (RV76) bilden die Sequenzen aus der Spinne und dem Myriapoden zusammen eine Gruppe. Die Orthologie des *Glomeris* Gens zu den Orthologen des *Drosophila* Gens *Krüppel* ist somit sehr wahrscheinlich.



Abb. 3.72 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *Krüppel* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.5.6 Die Expression von *Glomeris Krüppel* (*Kr*)

Die erste erkennbare Expression findet sich im Stadium 1.1 (Abb. 3.74A). Diese Expression umfasst das Postmaxillarsegment und alle dazu posterior gelegenen Segmente. In der Wachstumszone (gz) ist die Expression im Vergleich zu den bereits gebildeten Segmenten verstärkt. Die Abgrenzung zwischen solchen Segmenten, die *Kr* exprimieren, und solchen, die dies nicht tun, ist deutlich (Abb. 3.74A, Pfeilkopf). Auch in dem nachfolgenden Entwicklungsstadium (Stadium 1.2) ändert sich an diesen Verhältnissen nichts (Abb. 3.74B). Im Stadium 2 jedoch erscheint zusätzlich ubiquitäre Expression in den Segmenten des Kopfs. Allerdings erreicht diese Transkription nicht die Stärke des posterioren Expressionsprofils (Abb. 3.74C). Neben der ubiquitären Expression exprimieren die Anhänge des Kopfs und mit Abstrichen auch die des Rumpfs spezifisch *Krüppel*. Zusätzlich erscheinen zwei Expressionsdomänen im Kopflappen (Pfeilköpfe). Im Stadium 4 ist neben

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

einer ubiquitären Grundexpression ein erhöhtes Maß an Transkripten im Bereich des Neuroektoderms zu erkennen (Abb. 3.74D; Stern). Außerdem sind manche Teile des Kopflappens stark gefärbt (Pfeilkopf), während andere nahezu ungefärbt bleiben (Pfeil). Auffallend ist ebenfalls, dass die Bereiche der Wachstumszone (gz) und der jüngst gebildeten Segmente weniger stark bis gar nicht gefärbt sind (Abb. 3.74D, Punkt). Auch das Neuroektoderm exprimiert in diesem Bereich kein *Krüppel* (Abb. 3.74D/d). Im Vergleich zu den anterioren Segmenten ist *Krüppel* im hinteren Bereich des Embryos in weniger neuronalen Zellen exprimiert (Abb. 3.74d). Die Expression von *Krüppel* im Neuroektoderm scheint sich also reziprok zur Expression von *hunchback* im Neuroektoderm zu verhalten (vgl. Abb. 3.67).

#### 3.5.7 Das *Glomeris orthodenticle* Gen

Das Gen *orthodenticle* (*otd*) gehört zu den Lückengenen in *Drosophila*, die eine Rolle bei der Entwicklung des Kopfes spielen (Wieschaus et al., 1984; Cohen und Jürgens, 1990; Finkelstein und Perrimon, 1990; Mohler, 1995). Das heißt, dass Mutationen dieses Gens zu spezifischen Defekten im Kopfbereich des Embryos führen (Cohen und Jürgens, 1990; Finkelstein und Perrimon, 1990). *orthodenticle* ist essentiell für die Bildung des Antennensegments, wie auch für die Entwicklung der Augen und Teile des Gehirns. Ein weiteres gebräuchliches Synonym für *orthodenticle* ist *ocelliless* in Anspielung auf das Fehlen der Ocelli in entsprechender Mutanten (Finkelstein et al., 1990).

Das Gen *orthodenticle* gehört zu den Transkriptionsfaktoren mit einer Homöodomäne, welche Ähnlichkeit mit der Homöodomäne des *Drosophila paired* Gens aufweist und deshalb auch als „*paired* ähnliche Homöodomäne“ bezeichnet wird (Finkelstein et al., 1990). Diese befindet sich im N-terminalen Bereich des *orthodenticle* Gens (Abb. 3.75). Orthologe sind in einigen anderen verschiedenen Arthropoden wie z.B. dem Käfer *Tribolium castaneum* (Li et al., 1996; Schröder, 2003) oder der Spinne *Achaearanea tepidariorum* (Akiyama-Oda und Oda, 2003) untersucht worden. Allerdings fehlen bisher Daten aus einem Vertreter der Myriapoden.

Aus *Glomeris* ist ein Fragment isoliert worden, das Ähnlichkeit zu *otd* aus *Drosophila* aufweist. Neben der Homöodomäne mit den charakteristischen Aminosäuren Glutamin (E)

### Kapitel 3: Ergebnisse

an Position 4 und Lysin (K) an Position 50 (Galliot et al., 1999) teilt dieses Fragment weitere Merkmale mit den *otd* Orthologen aus Arthropoden und Vertebraten. So findet sich im C-terminalen Bereich des Genprodukts eine kurze Sequenz, die auch in Vertebraten, Lophotrochozoen und manchen Arthropoden vorhanden ist (WKFQVL). In den Insekten allerdings fehlt dieses Motiv. Ein weiteres Motiv ist die so genannte WSP-Domäne, die ihren Namen den konservierten Aminosäuren Tryptophan, Serin und Prolin in ihrem Zentrum verdankt (Müller et al., 1999). Dieses kurze Fragment (neun Aminosäuren) findet sich in einer Reihe von Orthologen der Vertebraten und Insekten (z.B. Li et al., 1996; Müller et al., 1999). In *Glomeris* ist nur der Kern (WSP) dieses Motivs konserviert. Die Vielzahl der hier aufgezeigten Ähnlichkeiten zwischen der Sequenz aus *Glomeris* und den *otd/otx* Sequenzen aus anderen Tieren suggeriert bereits, dass es sich bei dem *Glomeris* Gen um ein wirkliches Ortholog des *Drosophila* Gens *otd* handelt (siehe Anhang).

Zur phylogenetischen Analyse sind neben dem *otd* Gen aus *Drosophila* die entsprechenden orthologen Sequenzen aus *Tribolium castaneum*, *Anopheles gambiae* und *Achaearanea tepidariorum*, sowie verwandte Homöodomänen-Gene aus dem Genom von *Drosophila* herangezogen worden. Die Analyse zeigt, dass das *Glomeris* Fragment mit großer Unterstützung mit den *otd* Genen zusammenfällt (RV100). Damit ist die Orthologie von *Gm-otd* hinreichend gesichert (Abb. 3.76).

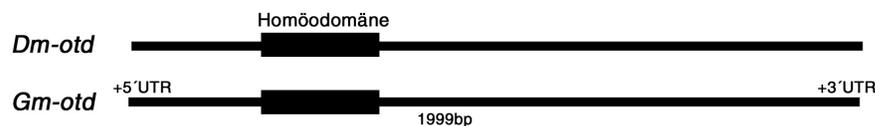


Abb. 3.76 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *orthodenticle* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.5.8 Die Expression von *Glomeris orthodenticle (otd)*

Die früheste durch die *in situ* Technik nachzuweisende Expression findet sich im frühen Blastodermstadium (oder Stadium 0). Zu diesem Zeitpunkt ist eine schwache Expression in Form einer Kappe zu erkennen, die den anterioren Teil des Embryos bedeckt (Abb. 3.77A). Diese anfänglich schwache Färbung nimmt im Lauf der nächsten Entwicklungsstadien (Stadien 0.1 und 0.2) zu (Abb. 3.77B/C/D). Innerhalb dieser Domäne weisen die optischen

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Loben (oc) eine stärkere Expression auf, die während der gesamten Embryonalentwicklung erhalten bleibt (Abb. 3.77B-I). Die Expression umfasst nicht den gesamten anterioren Bereich des sich entwickelnden Embryos. Die dem Keimstreifen gegenüberliegende „Unterseite“ weist eine schwächere Expression auf (Abb. 3.77C). Coexpression von *orthodenticle* und *engrailed* im Stadium 0.1 zeigt, dass sich die scharfe posteriore Grenze der Expression deutlich vor dem Mandibularsegment befindet (Abb. 3.78A). Da die *engrailed* Expression in den anterioren Kopfsegmenten (Prämandibularsegment und Antennensegment) zu diesem Zeitpunkt noch nicht vorhanden ist, lässt sich die posteriore Grenze der *orthodenticle* Expression nicht genau festlegen. Gleichzeitige Expression von *engrailed* und *orthodenticle* in späteren Stadien (Stadien 0.4 und 0.5) zeigt, dass die posteriore Grenze anterior zum *engrailed*-Streifen des Antennensegments liegt (Abb. 3.78B/C). Vermutlich ist die Expression von *orthodenticle* also auf den Bereich des Kopfs beschränkt, der die Primordien des Gehirns und des Labrums umfasst. Im Lauf der weiteren Entwicklung (Stadium 1) verschwindet die Expression im äußersten anterioren Bereich des Keimstreifens (Abb. 3.77E, Raute), wobei die Expression in den optischen Loben erhalten bleibt. Zu diesem Zeitpunkt erscheint eine schwache Expression entlang der ventralen Mittellinie (Abb. 3.77E, Pfeilköpfe). Im Lauf der Zeit (Stadium 1-4) verschwindet die ehemals als anteriore Kappe erkennbare Expression im Kopfbereich und lediglich klar definierte Bereiche im Gehirn exprimieren weiterhin *otd* (Abb. 3.77E-i). Die Expression entlang der ventralen Mittellinie wird mit einhergehender rechts-links Kontraktion des Keimstreifens schmaler (Abb. 3.77F-I). Auffallend ist das Fehlen dieser Expression im prämandibularen Segment, da alle anderen (bisher gebildeten) Segmente deutliche Expression entlang der ventralen Mittellinie aufweisen (Abb. 3.77H-i, Sterne). Auch die Wachstumszone bleibt frei von Transkripten (Abb. 3.77I, offener Kreis). Im Stadium 6 erscheinen zusätzlich zwei Punkte im Labrum (lb) (Abb. 3.77I/i, Pfeilkopf), und die ventrale Basis der Maxillen ist gefärbt (Pfeil).

#### 3.5.9 Nachweis maternalen *orthodenticle* Transkripte in jungen Oozyten

Die Durchführung einer *in situ* an ganzen Ovarien ermöglicht den Nachweis maternalen Transkripte in jungen Oozyten. Im Fall von *orthodenticle* sind keine Transkripte in den Oozyten nachweisbar (Abb. 3.79).

#### 3.5.10 Nachweis der Transkription von *otd* in Embryos, die nicht für die *in situ* Technik zugänglich sind, mittels RT-PCR

Zusätzlich zu der *per in situ* Technik aufgezeigten Expression von *otd* in *Glomeris* konnte noch mittels der RT-PCR Methode gezeigt werden, dass *otd* in allen jüngeren zygotischen Stadien (jünger als Stadium 0) aktiv ist; maternale Transkripte jedoch sind nicht nachweisbar (Abb. 3.80).

#### 3.5.11 Das *Glomeris/Cupiennius tailless* Gen

Das Gen *tailless* aus *Drosophila melanogaster* ist ein wichtiger regulativer Faktor für die Ausbildung der terminalen Strukturen (Acron und Telson) und somit auch des anterioren Bereichs des Kopfs (Strecker et al., 1986; Strecker et al., 1988; Pignoni et al., 1990). *tailless* ist im frühen Embryo in zwei Domänen exprimiert, die die terminalen Bereiche des Embryos in Form von Kappen umgeben (Pignoni et al., 1990). Das Gen wird zu den Gap Genen gezählt, da Mutationen dieses Gens zum Fehlen von sowohl anterioren wie auch posterioren Bereichen des Embryos führen. Ferner spielt *tailless* eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Gehirns (z.B. Rudolph, 1997; Hartmann et al., 2001). Wie bei allen Lückengenen handelt es sich auch bei dem Gen *tailless* um einen Transkriptionsfaktor. Zur DNA-Bindung dienen zwei C4-Zinkfinger Motive, die sich im N-terminalen Bereich des Proteins befinden (Abb. 3.81). Außerdem besitzt *tailless* eine hormonbindende Domäne. Daher wird *tailless* wie auch *knirps* zur Superfamilie der Steroid-Rezeptoren gezählt (Sevilla et al., 1994; Pignoni et al., 1990). Da es sich bei *tailless* um einen sogenannten "orphan"

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Nuklearrezeptor handelt, ist bisher noch kein Hormon identifiziert worden, das an diese Domäne bindet.

Im Rahmen dieser Arbeit sind Fragmente des Gens *tailless* aus dem Myriapoden *Glomeris marginata* und dem Cheliceraten *Cupiennius salei* isoliert worden (Abb. 3.81). Die Orthologie dieser Fragmente zum *Drosophila* Lückengen *tailless* ist mit Hilfe einer phylogenetischen Analyse untersucht worden (Abb. 3.82). In die Analyse sind die Sequenzen aus *Drosophila melanogaster*, *Tribolium castaneum*, sowie weitere nahe verwandte *Drosophila* C4 Zinkfinger Gene (*dissatisfaction*, *seven-up* und *HNF4*) eingeflossen. Der phylogenetische Baum zeigt eindeutig die Zugehörigkeit von *Glomeris* und *Cupiennius tailless* zu den Orthologen der Insekten (*Tribolium* und *Drosophila*) (RV 91). Innerhalb der Gruppe der *tailless* Orthologen fallen die Sequenzen aus *Cupiennius* und *Glomeris* zusammen (RV 84). Das zu den *tailless* Genen am nächsten verwandte C4 Zinkfinger Gen ist *dissatisfaction* (*dsf*). Weiter entfernte verwandte C4 Zinkfinger Gene sind *seven-up* (*svp*) und *HNF4* aus *Drosophila*, die im Baum deutlich getrennt von *tll* und *dsf* positioniert sind (RV100).



Abb. 3.81 Schematische Darstellung der proteinkodierenden Bereiche von *tailless* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* und *Cupiennius* isolierte Regionen.

#### 3.5.12 Die Expression von *Glomeris tailless* (*tll*)

Die früheste mit Hilfe der *in situ* Technik detektierbare Expression erscheint im Stadium 1.2 im vorderen Bereich des Kopfs. Es handelt sich hierbei um Expression im Gehirn (Abb. 3.83A). Innerhalb dieses Expressionsprofils befinden sich je zwei Bereiche intensiverer Färbung (Pfeile und Pfeilköpfe). Der größere dieser intensiv gefärbten Bereiche liegt ventral (Pfeil), der kleinere dorsal (Pfeilkopf). Die Expression zwischen den stark exprimierten Bereichen ist kaum erkennbar, aber zweifelsohne vorhanden. Eine Großaufnahme dieser Expression ist in Abb. 3.83a zu sehen.

Im weiteren Verlauf der Embryonalentwicklung bleibt die beschriebene Expression erhalten (Abb. 3.83B/b). Die Form und Expansion der Bereiche stärkerer Expression verändern sich allerdings, wobei sie jedoch durch den Bereich schwächerer Expression getrennt bleiben (Pfeile in b). Außer in den beschriebenen anterioren Regionen in *Glomeris* ist keine Expression von *tailless* während der Embryonalentwicklung vorhanden.

#### 3.5.13 Die Expression von *Cupiennius tailless (tll)*

Die Expression von *Cupiennius tll* ist der aus *Glomeris* sehr ähnlich (Abb. 3.84). Auch in der Spinne ist keine Expression in den jüngsten für die in situ Hybridisierung zugänglichen Entwicklungsstadien zu beobachten. Erst in einem Stadium, in dem bereits sieben opisthosomale Segmente gebildet worden sind, ist *tailless* im Gehirn exprimiert. Wie in *Glomeris* ist die Untergliederung der anterioren Expressionsdomäne in Bereiche stärkerer und schwächerer Expression deutlich erkennbar (Abb. 3.84A). Während der weiteren Embryonalentwicklung bleibt die Expression von *tll* auf das Gehirn beschränkt (Abb. 3.84B-D).

#### 3.5.14 Das *Glomeris cap'n'collar* Gen

Das Gen *cap'n'collar (cnc)* gehört zu den Transkriptionsfaktoren mit einem basischen Leucin-Zipper (bZIP) (Abb. 3.85). Der basische Leucin-Zipper der Gene, zu denen auch *cnc* gezählt wird, ist durch das Vorhandensein eines Cysteins (C) an Position -11 und eines Histidins (H) an Position 36 des bZIP Motives gekennzeichnet (Abb. 3.86). Im Normalfall sind hier fünf Wiederholungen (Tandemduplikationen) eines kurzen Peptidabschnitts bestehend aus sieben Aminosäuren (heptad repeat) vorhanden. Das *cnc* Gen besitzt ein bZIP Motiv, welches aus sechs „heptad repeats“ besteht (zusammengefasst in Mohler et al., 1991). Neben dem *cnc* Gen aus *Drosophila* gibt es auch ein wahrscheinliches Ortholog in dem Moskito *Anopheles gambiae*. Das Ortholog zu *cnc* in Vertebraten wird als *NRF-1* bezeichnet (z.B. Chan et al., 1998).

### Kapitel 3: Ergebnisse

Aus *Glomeris* ist ein Fragment isoliert worden, welches signifikante Ähnlichkeit mit dem *cnc* Gen aus *Drosophila* aufweist. Es besitzt ebenfalls sechs „heptad repeats“ und das charakteristische Cystein in Position –11 des Motivs (Abb. 3.85; siehe Anhang).

Auf Grund der Einzigartigkeit des *Drosophila* Gens im Genom von *Drosophila* (und auch von *Anopheles*) ist keine phylogenetische Analyse durchgeführt worden, da die Gefahr einer Verwechslung gering ist. Die Orthologie des *Glomeris* Fragments zum *Drosophila* Gen *cnc* ist auf Grund dieser Tatsache und der oben beschriebenen Ähnlichkeiten im bZIP Motiv sehr wahrscheinlich.

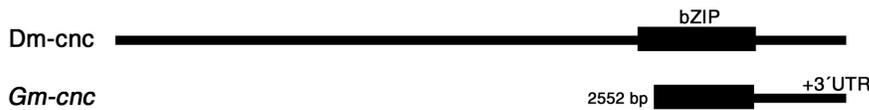


Abb. 3.85 Schematische Darstellung der proteinkodierenden Bereiche von *cap'n'collar* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

```

      .****.*.*.**.*****.*****.***.**.....*.*.....
Gm_cnc  RLSKYDLTEPQLALIRDIRRRGKNKVAQAQNCRRKRLDQILVLADEVTNMQSEKDLLSEQQSMAERQLKD
Dm_cnc  -----S-N--S-----T-E---NAVVKR-T--NQDRDHLES--K-ISN
Ag_cnc  -----S-T--S-----VT-----KD-KMR-ER-MRDREMVLS-HKKIR-
Hs_NRF1 L----Q-S-A--S-----M-----T--N-ER--EDL-RD-AR--R-KVEFLRSLRQM-Q

      *...*...*...*...*...*...*...*...*...*...*...*...*...
Gm_cnc  KFAQLYRHVFQTLRDPDGNPYSPEYSLQQAADGNILLVPH
Dm_cnc  ---M-H-----Y----E---C--AD-----SVY-L-R
Ag_cnc  --SM-----N---A-----QEH-----S---AVV---R
Hs_NRF1 --VQS--QE--GR--EN-R---SQ-A--Y-G-SV--I-R

```

Abb. 3.86 Sequenzvergleich der CNC Orthologen aus *Glomeris*, *Drosophila*, *Anopheles* und *Homo*.

#### 3.5. 15 Die Expression von *Glomeris cap'n'collar (cnc)*

Im Stadium 0.5 ist *cnc* in zwei Domänen exprimiert. Die erste, äußerst anterior gelegene besitzt die Form einer Kappe (cap), die im ventralen Bereich zwischen den optischen Loben (oc) liegt (Abb. 3.87A, Pfeil). Die zweite Expressionsdomäne umfasst das komplette Mandibularsegment in Form eines Kragens (collar) (Abb. 3.87A, Pfeilkopf). Mit zunehmender rechts-links Kontraktion des Keimstreifens im Bereich des Kopfs, verschmälert sich die „Kappe“ im nachfolgenden Stadium (Abb. 3.87B, Pfeil). Der „Kragen“ bleibt erhalten (Pfeilkopf). Im Stadium 2 sind einige Veränderungen zu

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

beobachten. So scheint sich die anteriore Domäne nun in zwei Bereiche unterschiedlich starker Expression zu unterteilen, wobei der anteriore Teil stärker gefärbt ist (Abb. 3.84C, Pfeil). Die Ursache dieser scheinbaren Unterschiede in der Intensivität der Expression kann in der Morphologie des Keimstreifens begründet sein, weil der anteriore Teil des Kopfs dichteres Gewebe aufweist, als der ventrale Mittelteil. Da sich die Domäne nach posterior ausgedehnt hat, liegt der posteriorer Teil dieser Expression zwischen den Anlagen des Antennensegments. Ferner scheint sich die Expression im Mandibularsegment in Gestalt zweier vom „Kragen“ abgegrenzter Domänen nach anterior zu schieben (Abb. 3.87C, schwarzer Pfeil). Durch die Veränderungen in den beiden Expressionsdomänen verringert sich jedoch der Abstand zwischen diesen (Abb. 3.87C). Man beachte, dass die Expansion der anterioren Domäne im Vergleich zum vorhergegangenen Stadium wieder zugenommen zu haben scheint. Dies ist auf die unregelmässige Embryonalentwicklung von *Glomeris marginata* zurückzuführen (Dohle, 1964; Prof. Wolfgang Dohle, persönliche Kommunikation; eigene Beobachtungen). Mit beginnender Invagination des Stomodäums in Stadium 2 verschmälert sich die anteriore Domäne zunehmend (Abb. 3.87D, Pfeil). Dies ist wohl darauf zurückzuführen, dass sich diejenigen Zellen, die hier *cnc* exprimieren, in den Embryo einwandern (invaginieren) und somit von der Oberfläche des Embryos verschwinden. Die kragenartige Expression bleibt in der beschriebenen Form erhalten (Pfeilkopf). Im Stadium 3 erscheint die Lücke zwischen der „Kappe“ und dem „Kragen“ als geschlossen (Abb. 3.87E, Stern). Da sich das Stomodäum vor dem Prämandibularsegment einstülpt (Dohle, 1964), würde dies bedeuten, dass entweder Teile des Prämandibularsegments *cnc* exprimieren, oder dass eine optische Täuschung vorliegt. Diese wäre darin begründet, dass die *cnc* exprimierenden Zellen der ursprünglichen „Kappe“ zu diesem Zeitpunkt der Entwicklung bereits so weit invaginiert sind, dass sie sich unter das Ektoderm des prämandibularen Segments geschoben haben, so dass bei Aufsicht der Eindruck entsteht, es handele sich um Expression im Prämandibularsegment selbst. Im nachfolgenden Verlauf der Entwicklung wird die zuletzt beschriebene Expression des Gens *cap'n'collar* beibehalten (Abb. 3.87F). Obwohl das gesamte Mandibularsegment *cnc* exprimiert, scheint zumindest der distale Teil der Mandibel frei von Transkripten zu sein (Abb. 3.87F, Pfeilkopf). Außerdem ist der anteriore Teil der Mandibel stärker gefärbt als der posteriore (Pfeilkopf).

#### 3.5.16 Das *Glomeris collier* Gen

Bei *collier (col)* handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor. Ein gebräuchliche Synonym in *Drosophila melanogaster* ist *knot (kn)*. Außer in der Taufliege sind noch Orthologe aus dem Moskito *Anopheles gambiae* und der Honigbiene *Apis mellifera* bekannt. Bisher ist allerdings lediglich das *Drosophila collier* Gen näher untersucht worden (Crozatier et al., 1996; Crozatier et al., 1999). Hier ist dieses Gen in die Entwicklung des Kopfes involviert und gilt als Kopf-Lückengen.

Orthologe aus Cheliceraten, Crustaceen und Myriapoden sind bisher nicht bekannt. Es gibt aber gut untersuchte Orthologe in Vertebraten, wo dieses Gen unter anderem die Bezeichnung *Early B Cell factor (EBF)* hat, da es ursprünglich als B-Lymphozyten spezifisches Protein identifiziert worden ist (Hagman et al., 1993). Unabhängig davon ist ein identisches Protein in olfaktorischen Neuronen entdeckt worden (Kudrycki et al., 1993). Daher ist ein weiteres Synonym für das Gen *collier* in Vertebraten *Olf-1 (Olfactory factor 1)*. Orthologe der COE Genfamilie besitzen zwei DNA-bindende Domänen. Neben einer N-terminalen DNA-Bindungsstelle, die über ein Zink koordinierendes Motiv (H-X3-C-X2-C-X5-C) verfügt (Hagman et al., 1995), gibt es noch eine C-terminale zweite DNA bindende Domäne, die ein Helix Loop Helix ähnliches Motiv besitzt (Hagman et al., 1993) (Abb. 3.88).

Aus dem Myriapoden *Glomeris marginata* ist ein Gen-Fragment isoliert worden, welches signifikante Ähnlichkeit zum *Drosophila* Gen *collier* aufweist. Ebenfalls konnte ein Ortholog aus der Hausspinne *Tegenaria atrica* isoliert werden. Im Fall des letztgenannten liegt bisher noch kein Expressionsmuster vor. Um die Orthologie der hier beschriebenen Gene aus *Glomeris marginata* und *Tegenaria atrica* zu *Drosophila collier* zu verdeutlichen, ist eine phylogenetische Analyse durchgeführt worden (Abb. 3.89). In die Analyse wurden die bekannten Orthologe aus Insekten (*Anopheles*, *Apis* und *Drosophila*) und dem Nematoden *Caenorhabditis* sowie je ein Ortholog aus der Maus und dem Huhn als Vertreter der Vertebraten mit einbezogen. Auf Grund der hohen Konserviertheit der COE Gene und der Einzigartigkeit dieses Gens im Genom von *Drosophila melanogaster* ist der Einbezug eines nahe verwandten Gens außerhalb der COE Gruppe nicht möglich und nicht von Nöten, um die Orthologie zu beweisen.

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Innerhalb des phylogenetischen Baums fallen die *EMB/OLF-1* Orthologe der Vertebraten (*Gallus gallus* und *Mus musculus*) zusammen (RV 100). Des weiteren ist eine deutliche phylogenetische Beziehung zwischen den Vertretern der Dipteren (*Drosophila* und *Anopheles*) zu erkennen (RV 100), welche zusammen mit der Hymenoptere (*Apis*) eine Verwandtschaftsgruppe bilden, die die Orthologen der Insekten umfasst (RV90). Die Zuordnung der Sequenzfragmente aus dem Myriapoden *Glomeris* und dem Cheliceraten *Tegenaria* sowie dem Nematoden *Caenorhabditis* sind wenig unterstützt (RV 63 bzw. RV 62) und zeigen innerhalb der *collier* Orthologen keine eindeutige Ähnlichkeit mit den Sequenzen aus Insekten oder Vertebraten, sondern bleiben unaufgelöst.



Abb. 3.88 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *collier* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* und *Tegenaria* isolierte Bereiche.

#### 3.5.17 Die Expression von *Glomeris collier (col)*

Bereits im frühesten zugänglichen Blastodermstadium (Stadium 0) ist die Expression von *collier* als einzelner transversaler Streifen deutlich erkennbar (Abb. 3.90A, Pfeilkopf). Verdeutlicht wird die Position dieses Streifens durch die relative Lage zum sich am hinteren Ende des zukünftigen Keimstreifens befindlichen Kumulus (cu). In diesem Stadium ist es nicht möglich, eindeutig zu bestimmen, welchen späteren Kopfsegmenten diese Expression zuzuordnen ist. Im Verlauf der weiteren Entwicklung verringert sich die Breite des Streifens (Abb. 3.90B-F, Pfeilköpfe). Ob dies auf eine Eingrenzung der tatsächlichen Expression zurückzuführen ist, oder ob sich der gesamte Keimstreifen (oder zumindest die Regio Germinalis) in der Länge kontrahiert ist hier nicht zu erkennen. Der primäre Streifen beschränkt sich in allen Stadien auf den Bereich der Regio Germinalis und bildet somit keinen geschlossenen den Embryo umlaufenden Ring (Abb. 3.90D). Dies entspricht den Beobachtungen in *Drosophila*, wo die Primordien des Mesoderms und der Amnioserosa kein *collier* exprimieren (Crozatier et al., 1993). Im Stadium 0.5 verringert sich die Expression im ventralen Bereich des Keimstreifens (Abb. 3.90E, Pfeil), der zu diesem

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Zeitpunkt deutlich mit Hilfe einer DAPI Gegenfärbung zu erkennen ist. Im Stadium 1.1 wird eine Auftrennung des ehemals durchgängigen, gleichmäßig intensiv gefärbten Streifens sichtbar (Abb. 3.90F, Pfeil). Zu diesem Zeitpunkt lässt sich die Expression mit Hilfe der DAPI Gegenfärbung dem anterioren Teil des Mandibular- und posterioren Teil des Prämandibularsegments zuordnen (Parasegment 0 von *Drosophila*). Die ventralen Bereiche weisen eine sehr viel schwächere Expression als die dorsalen auf (Abb. 3.90F, Pfeil). Man beachte, dass es sich hierbei um dorsale Bereiche des ventralen Keimstreifens handelt. Die echten dorsalen Teile des Embryos entwickeln sich zu einem späteren Zeitpunkt. Bis zum Stadium 2 einschließlich (Abb. 3.90G/H) ist das *Glomeris collier* Gen allein in diesem Bereich des Embryos exprimiert, wobei die Expression im Stadium 2 bereits sehr schwach ist (Abb. 3.90H, Pfeilkopf). Durch die Invagination des Stomodäums werden die *collier* exprimierenden Gewebe nach außen gedrängt, sodass die *collier* Streifen nicht mehr im rechten Winkel zur Längsachse des Keimstreifens stehen. Im nachfolgenden Entwicklungsstadium (Stadium 3) ist es nicht möglich, Transkripte von *collier* im Embryo mittels der in situ Technik nachzuweisen (Abb. 3.90I). Erst im Stadium 4 (nicht gezeigt) erscheint erneut Expression von *collier*. Diese ist im Stadium 4.1 deutlich zu erkennen (Abb. 3.90J). Es handelt sich um ein im Rumpf segmental wiederholtes Muster innerhalb der dorsalen Segmente, wo Kluster bestehend aus mehreren Zellen *collier* exprimieren (Abb. 3.90J, Pfeilkopf). Außerdem zeigt sich ein wiederum segmental wiederholtes Muster im ventral gelegenen zentralen Nervensystem (ZNS) (Pfeil), sowie Expression im Bereich des Prozäphalons (Stern). Da auch in *Drosophila* ein solches Expressionsprofil zu beobachten ist (Crozatier et al., 1993), scheint die Expression zwischen *Drosophila* und *Glomeris* generell äußerst konserviert zu sein. Die Intensität dieser Expression nimmt zu und überdauert die folgenden embryonalen Entwicklungsstadien bis einschließlich Stadium 6.1 (Abb. 3.90K/L).

#### 3.5.18 Das *Glomeris crocodile* Gen

Das zur DNA-Bindung verwendete Motiv von *crocodile* (*croc*) ist die Forkhead-Domäne (FH) (Abb. 3.91). *crocodile* ist bislang lediglich in *Drosophila* untersucht worden (Häcker et al., 1995). Hier ist es in die korrekte Bildung des anterioren Kopfs und interkalärer

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Strukturen verantwortlich (Häcker et al., 1995). Im Genom von *Anopheles gambiae* findet sich ein Gen mit signifikanter Ähnlichkeit zum *Drosophila* Gen *crocodile*. Im Rahmen dieser Arbeit ist aus *Glomeris* ein ähnliches Fragment isoliert worden. Zur Klärung der Orthologie ist eine phylogenetische Analyse durchgeführt worden, wobei das Fragment aus *Glomeris* in Beziehung zu *crocodile* aus *Drosophila* und *Anopheles* sowie den nächsten verwandten Genen aus dem Genom von *Drosophila* gesetzt worden ist (Abb. 3.92). Mit statistischer Signifikanz (RV 88) fallen die *crocodile* Orthologe mit der Sequenz aus *Glomeris marginata* zusammen, womit die Orthologie von *Glomeris crocodile* hinreichend gesichert ist.

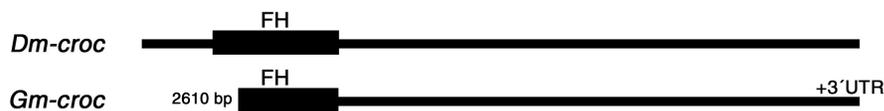


Abb.3.91 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *crocodile* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.5.19 Die Expression von *Glomeris crocodile* (*croc*)

Die früheste erkennbare Expression zeigt sich im Stadium 0.5 in Form zweier Expressionsdomänen ventral zu den optischen Loben (oc) im vorderen Bereich des Kopfs (Abb. 3.93A/B, Pfeile). Diese beiden Expressionsdomänen sind durch sehr schwache Expression verbunden, die das Primordium des Stomodäums umgibt, sodass eine Art geschlossener Kreis gebildet wird (Abb. 3.93A). Im Stadium 1.2 verschwinden die stärkeren lateralen Domänen und der Kreis schwächster Expression bleibt zurück (Abb. 3.93C, Pfeil), welcher bedingt durch die extreme rechts-links Kontraktion des Keimstreifens im Bereich des Kopfs kleiner ist als im Stadium 0.5. Es hat den Anschein, als invaginiere das Stomodäum im Zentrum dieser kreisförmigen Expression, sodass *crocodile* im Stadium 3 zu beiden Seiten des anterioren Teils des Stomodäums sowie im anterioren Teil des Stomodäums selber exprimiert zu sein scheint (Abb. 3.93D/d, Pfeil). Diese Expression bleibt auch in nachfolgenden Stadien bestehen (Abb. 3.93E), wobei sich die Expressionsdomäne (wahrscheinlich auf Grund morphologischer Veränderungen) leicht verändert (Abb. 3.93E, Stern; vgl. D, Stern). Zusätzlich zu der anterioren Expression im vorderen Bereich des Stomodäums (Pharynx) erscheinen Transkripte im posterioren Teil des Enddarms, der sich

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

zu diesem Zeitpunkt bis etwa unter den Bereich des dritten Rumpfsegments geschoben hat (Dohle, 1964; eigene Beobachtungen) (Abb. 3.93E, Punkt). Es ist nicht ganz auszuschließen, dass diese Färbung Folge unspezifischer Hintergrundfärbung ist, weil eine solche bei längerer Färbezeit auch im Fall mehrerer anderer verwendeter Sonden auftritt. Eine Expression im segmentalen Mesoderm, so wie sie für *Drosophila* beschrieben wird (Häcker et al., 1995) ist in *Glomeris* nicht zu sehen.

#### 3.5.20 Das *Glomeris forkhead* Gen

Bei dem Gen *forkhead* (*fkh*) aus *Drosophila melanogaster* handelt es sich um den Archetypus einen Transkriptionsfaktors mit einer Forkhead-Domäne (FH) (Abb. 3.94). *Drosophila forkhead* gehört zu den homöotischen Genen. Mutationen von *fkh* führen zu einer Transformationen des Vorder- und Hinterdarms in Strukturen des Kopfes (Weigel, 1989). Innerhalb der Arthropoden ist neben dem *forkhead* Gen aus *Drosophila* auch ein Ortholog aus *Tribolium* untersucht worden (Schröder et al., 2000). Ferner gibt es Orthologe aus Vertebraten. Diese werden unter Anderem als *HNF-3 alpha/beta/gamma* (hepatic nuclear factor) bezeichnet. Neben diesen *forkhead* Orthologen ist auch das Ortholog aus dem Nematoden *Caenorhabditis* bekannt (*Ce-fkh-1* bzw. *pha-4*) und gut untersucht (Kalb, 1998; Azzaria et al., 1996). Dort ist es in den Vorläuferzellen des Pharynx exprimiert und wird obligatorisch für die Ausbildung dessen benötigt.

Aus *Glomeris* ist ein Fragment isoliert worden, das Ähnlichkeit zur Sequenz von *Drosophila forkhead* aufweist. Die phylogenetische Analyse unter Einbezug der *forkhead* Orthologen aus *Drosophila* und *Tribolium*, sowie verwandter FH-Domänen Gene aus dem Genom von *Drosophila melanogaster*, hat die Orthologie des Fragments aus *Glomeris* zu *Drosophila* und *Tribolium forkhead* bestätigt (Abb. 3.92). Mit einer statistisch eindeutigen Signifikanz fällt die *Glomeris forkhead* Sequenz mit den *fkh* Sequenzen aus *Drosophila* und *Tribolium* zusammen (RV 90) und ist somit deutlich von verwandten nicht-*forkhead* Genen getrennt.



Abb. 3.94 Schematische Darstellung des proteinkodierenden Bereichs von *forkhead* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche.

#### 3.5.21 Die Expression von *Glomeris forkhead (fkh)*

*forkhead* ist in *Glomeris* erstmals im Stadium 0.3 nachweisbar. Es zeigt sich eine schwache Färbung posterior zur Wachstumszone (gz) (Abb. 3.95A (posteriore Ansicht), Pfeilkopf). Observation dieser Expression in nachfolgenden Stadien zeigt, dass diejenigen Zellen, die *fkh* exprimieren invaginieren und den Enddarm (Proktodäum) bilden. Im Stadium 1.2 ist dies deutlich zu erkennen (Abb. 3.95B/C). Neben der posterioren Expression zeigt sich nun auch eine anteriore Domäne (Abb. 3.95B/C; Pfeil). Diese befindet sich zwischen den Anlagen der optischen Loben im Kopflappen. Im Stadium 3 wird deutlich, dass auch diese Zellen invaginieren und das Stomodäum (Vorderdarm) bilden (Abb. 3.95D). Es scheint, als wüchsen der Enddarm und der Vorderdarm aufeinander zu (Abb. 3.95D, gestrichelte Pfeile), sodass sich der Bereich zwischen den beiden Domänen verkleinert (Stern). Im Stadium 5 schließlich kommt es zum Zusammenschluss der anterioren und posterioren *forkhead* exprimierenden Gewebe. Der Darm erscheint nun als geschlossener Schlauch (Abb. 3.95F). Außer in den Primordien des Proktodäums und des Stomodäums sowie dem Darm als Ganzes sind keine Transkripte von *forkhead* auszumachen. Lediglich in älteren Entwicklungsstadien (Stadium 6 und 6.1) erscheint eine schwache segmentale Expression im Bereich des Neuroektoderms (nicht gezeigt).

#### 3.5.22 Das *Glomeris E4(ems)/E5* Gen

Im Rahmen dieser Arbeit ist ein Fragment aus dem Transkriptom von *Glomeris* isoliert worden, das Ähnlichkeit zum Gen *empty spiracles (ems)* aus *Drosophila melanogaster* aufweist (Abb. 3.96). *ems* gehört zu den Kopf-Lückengenen in *Drosophila* (Dalton et al., 1989; Walldorf und Gehring, 1992). Außerdem spielt es eine Rolle während der Entwicklung des Gehirns in *Drosophila* (z.B. Hirth, 1995). Das vermutliche Ortholog aus

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Vertebraten (*emx*) ist an vergleichbarer anteriorer Position im zentralen Nervensystem (ZNS) exprimiert (Simeone et al., 1992).

Die Expression des Fragments aus *Glomeris* geht nicht mit einer möglichen konservierten Funktion im Myriapoden einher. Das Gen ist mehr oder minder ubiquitär exprimiert (nicht gezeigt).

Neben dem Gen *ems*, das auch unter dem Synonym *E4* bekannt ist, enthält das Genom von *Drosophila* noch ein weiteres sehr ähnliches Gen, welches im Genom in benachbarter Position zu *E4/ems* liegt. Wegen dieser räumlichen Nähe zu *E4/ems* wird es als *E5* bezeichnet (Dalton et al., 1989) (Abb. 3.96). Dieses Gen ist allerdings bisher nicht näher untersucht worden. Außer in *Drosophila* ist kein zu *empty spiracles* orthologes Fragment aus einem anderen Arthropoden identifiziert und untersucht worden. Die Suche nach möglichen Orthologen zu *E4* und *E5* im Genom von *Anopheles gambiae* ergab zwei mögliche Kandidatengene, die signifikante Ähnlichkeit mit dem *ems* Gen aus *Drosophila* aufweisen. Diese bisher nicht untersuchten Gene haben die Identifikationsnummern *Ag18123* und *Ag18139*.

Die phylogenetische Analyse zeigt, dass das Fragment aus *Glomeris* evolutiv an der Basis der Gene *E4(ems)* und *E5* aus *Drosophila* so wie deren Orthologen aus *Anopheles gambiae* steht (RV 99) (Abb. 3.97). Von verwandten Homöodomänen Genen aus dem Genom von *Drosophila* ist diese Gruppe deutlich abgetrennt (RV 100). Das Gen *E5* fällt in dieser Analyse mit dem *Anopheles* Ortholog *Ag18123* zusammen (RV 70), und das *Anopheles* Gen *Ag18139* weist signifikante Ähnlichkeit mit dem *ems/E4* Gen aus *Drosophila* auf (RV 96). Es ist also anzunehmen, dass eine Duplikation innerhalb der Insekten (oder zumindest innerhalb der Dipteren) stattgefunden hat. Eines dieser Duplikate könnte zum Kopf-Lückengen *ems/E4* in *Drosophila* evolviert sein, welches somit in primitiveren Arthropoden (*Glomeris*) nicht als solches vorhanden sein muss. Interessant wäre in diesem Zusammenhang die Analyse des *Anopheles* Gens *Ag18139* hinsichtlich der Frage, ob es eine ähnliche Expression/Funktion wie *Drosophila empty spiracles* hat.

Für *Glomeris* ist allerdings nicht völlig auszuschließen, dass ein weiteres Gen im Genom vorhanden ist, bei dem es sich um ein tatsächliches (auch funktionelles) Ortholog (Homolog) des *Drosophila empty spiracles* Gens handeln könnte. Die PCR zur Isolierung eines möglichen *ems* Orthologs ist sowohl auf Ebene von cDNA sehr junger Embryos (6-7 Tage Entwicklungszeit) als auch einem Mix verschiedener Entwicklungsstadien (1-12 Tage

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

Entwicklungszeit) durchgeführt worden. Außerdem ist versucht worden, ein *ems* Ortholog aus genomischer DNA zu isolieren. In allen Fällen konnte allerdings nur das eine zuvor beschriebene *Glomeris* Fragment gefunden werden. Insgesamt wurden etwa 70 Klone sequenziert.

Da das *Glomeris* Genfragment in der phylogenetischen Analyse an der Basis der Gene *ems/E4* und *E5* liegt, wird es von nun an *Gm-E4/E5* genannt.

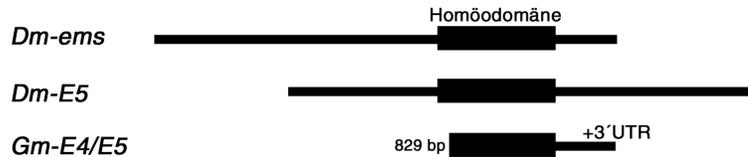


Abb. 3.96 Schematische Darstellung der proteinkodierenden Bereiche von *EMS(E4)* und *E5* aus *Drosophila* und des dazu korrespondierenden aus *Glomeris* isolierten Bereichs von *Gm-E4/E5*.

#### 3.5.23 Die *Glomeris* Gene *Sp1* und *CG5669*

Bei *buttonhead* (*btd*) handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor mit einer Zinkfingerdomäne, die aus drei C2H2 Einheiten besteht (Wimmer et al., 1993 (Abb. 3.98). Auffallend ist der zweite Zinkfinger. Dieser ist im Btd Protein um zwei Aminosäuren gegenüber verwandten Genen aus *Drosophila*, so wie *Anopheles* und *Tribolium*, verkürzt. Außerdem ist allen Genen dieser Gruppe eine kurze Sequenz N-terminal zu den Zinkfingern gemeinsam. Diese wird als Btd-Box bezeichnet und umfasst 11 Aminosäuren (Wimmer et al., 1993).

Aus *Glomeris* sind zwei Fragmente isoliert worden, die Ähnlichkeit zu *Drosophila buttonhead* aufweisen (Abb. 3.98). Die Expression beider legt jedoch nahe, dass es sich dabei nicht um Orthologe des *btd* Gens handelt. Die phylogenetische Analyse unter Einbezug der aus *Glomeris* ermittelten Sequenzen so wie des *btd* Gens aus *Drosophila* und dessen nächste Verwandte aus dem Genomen von *Drosophila* und *Anopheles* zeigt, dass eins der Fragmente aus *Glomeris* mit den *Sp1* Genen aus *Drosophila* und *Tribolium* eine Verwandtschaftsgruppe bildet (RV 82) (Abb. 3.99). Es gilt somit als *Glomeris Sp1* Ortholog (*Gm-Sp1*). Die Länge der Kante, die *Gm-Sp1* von den Orthologen aus *Tribolium* und *Drosophila* trennt verweist auf einen evolutiv abgeleiteten Zustand des *Gm-Sp1* Gens. Das andere *Glomeris*-Fragment fällt mit dem Gen *CG5669* aus *Drosophila* und dessen Ortholog aus *Anopheles* (*Ag16909*) zusammen (RV 100). Es wird daher als *Gm-CG5669* bezeichnet.

### Kapitel 3: Ergebnisse

---

*buttonhead* selbst bildet mit dem *Anopheles* Gen Ag-22566 ein Paar (RV 100). Interessant wäre in diesem Zusammenhang zu untersuchen, ob das Gen aus *Anopheles* bereits die selbe Rolle spielt, wie *btd* in *Drosophila*, denn die Länge des *btd*-Astes zeugt davon, dass die *btd* Sequenz vergleichsweise stark abgeleitet ist (Abb. 3.99).

Im Fall von *Glomeris* ist allerdings auch nicht auszuschließen, dass zumindest ein weiteres Gen im Genom existiert, bei dem es sich um ein wirkliches Ortholog (Homolog) zu *Drosophila buttonhead* handeln könnte. Insgesamt wurden mehrere PCR Ansätze durchgeführt, bei denen die Kombination der verwendeten Primer verschieden war. Außerdem ist als Template sowohl genomische DNA wie auch cDNA junger Embryos (6-7 Tage Entwicklungszeit) und eines Embryo-Mixes (1-12 Tage Entwicklungszeit) verwendet worden. Insgesamt sind etwa 80 Klone sequenziert worden. In allen Fällen konnten lediglich eins der oben beschriebenen bzw. beide zuvor beschriebene Fragmente isoliert werden.

Der für die initiale PCR verwendete Primer liegt in der sogenannten Btd-Box (BB). Das könnte bedeuten, dass diese auch in den entsprechenden N-terminalen Bereichen der *Glomeris* Gene enthalten ist.

Das Gen *Gm-Sp1* ähnelt im Expressionsprofil seinem Ortholog aus *Drosophila* (nicht gezeigt). Beiden gemeinsam ist die Expression im Gehirn und die spätere segmentale Expression (Wimmer et al., 1996). Auch das Ortholog aus *Tribolium* ist im Gehirn exprimiert (Beerman et al., 2004). Eine Funktion in der Entwicklung des Gehirns ist im übrigen auch für das humane Ortholog (*Hs-Sp1*) gezeigt worden (Kadonaga et al., 1987). Das zweite aus *Glomeris* isolierte Gen, *Gm-CG5669*, ist diffus bzw. ubiquitär exprimiert (nicht gezeigt). Daten aus *Drosophila* oder *Anopheles* liegen zurzeit nicht vor.

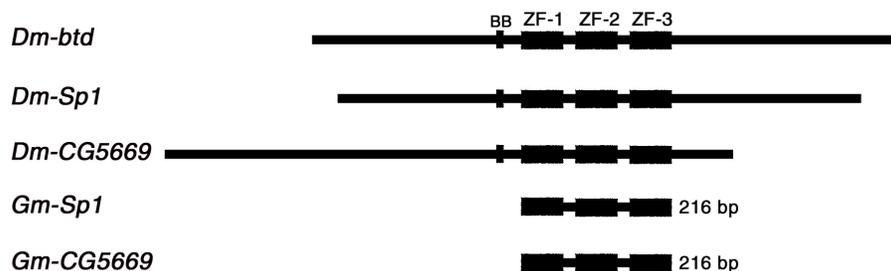
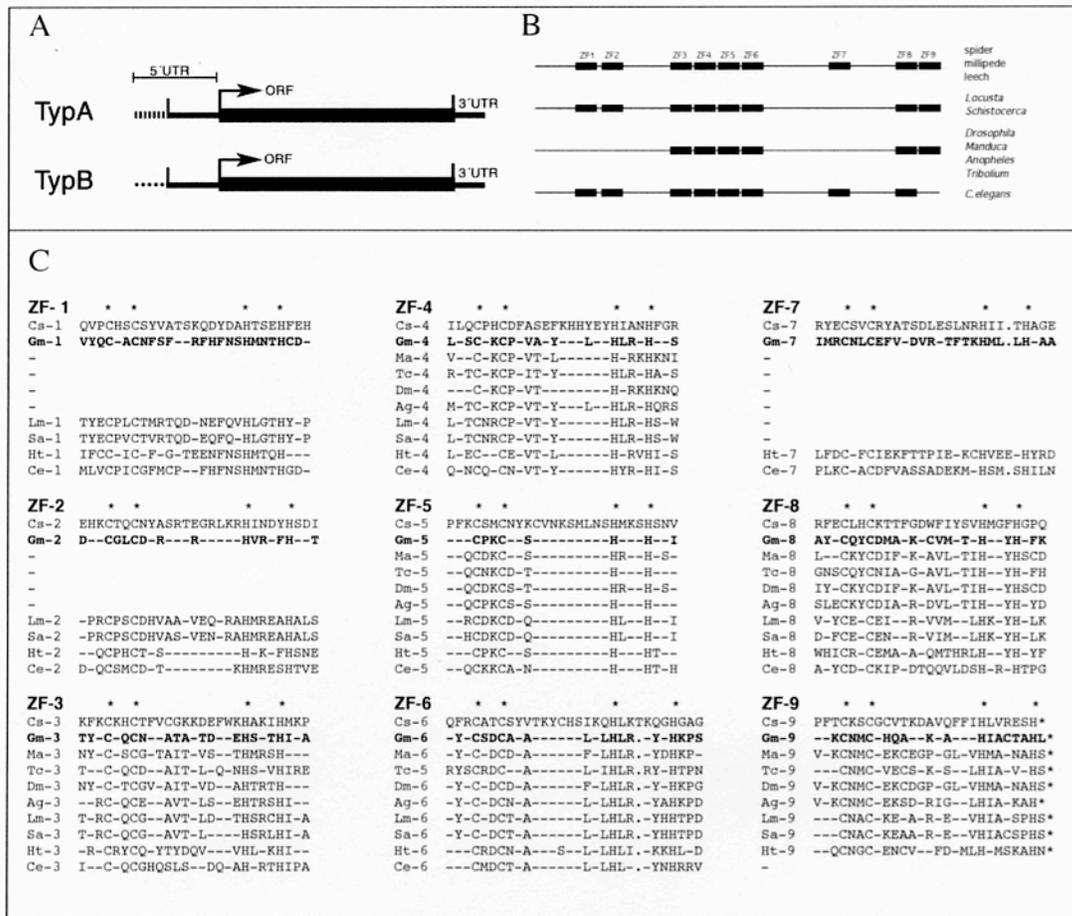


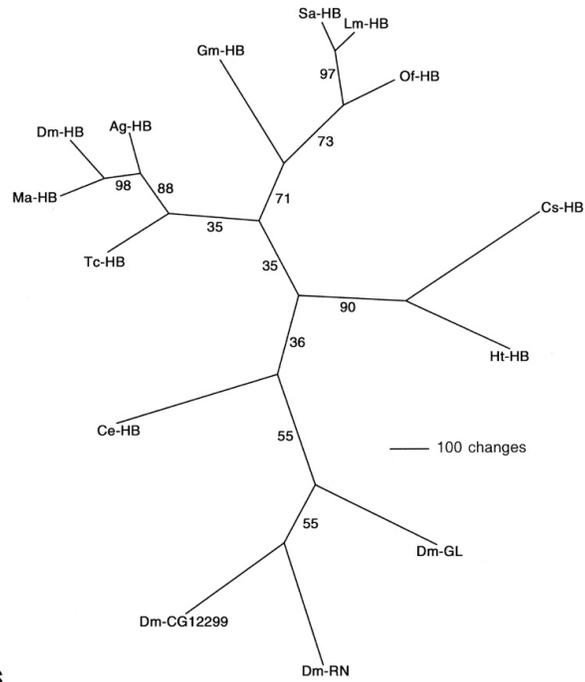
Abb. 3.98 Schematische Darstellung der proteinkodierenden Bereiche von *buttonhead* und *Sp1* so wie *Dm-CG5669* aus *Drosophila* und korrespondierende aus *Glomeris* isolierte Bereiche von *Gm-Sp1* und *Gm-CG5669*.

**Abb. 3.65** **A** Schematische Darstellung der beiden unterschiedlichen *Glomeris hunchback* Transkripte. **B** Schematische Übersicht über Anzahl und Lage der Zinkfinger in den *hunchback* Orthologen aus der Spinne *Cupiennius*, dem Tausendfüßer *Glomeris*, dem Clitellaten *Helobdella*, dem Nematoden *Caenorhabditis*, den niederen Insekten *Locusta* und *Schistocerca*, sowie den höheren Insekten *Drosophila*, *Anopheles*, *Manduca* und *Tribolium*. **C** Sequenz Alignment der Zinkfinger der *hunchback* Orthologen aus *Cupiennius salei*, *Glomeris marginata*, *Locusta migratoria*, *Schistocerca americana*, *Helobdella triserialis* und *Caenorhabditis elegans*.

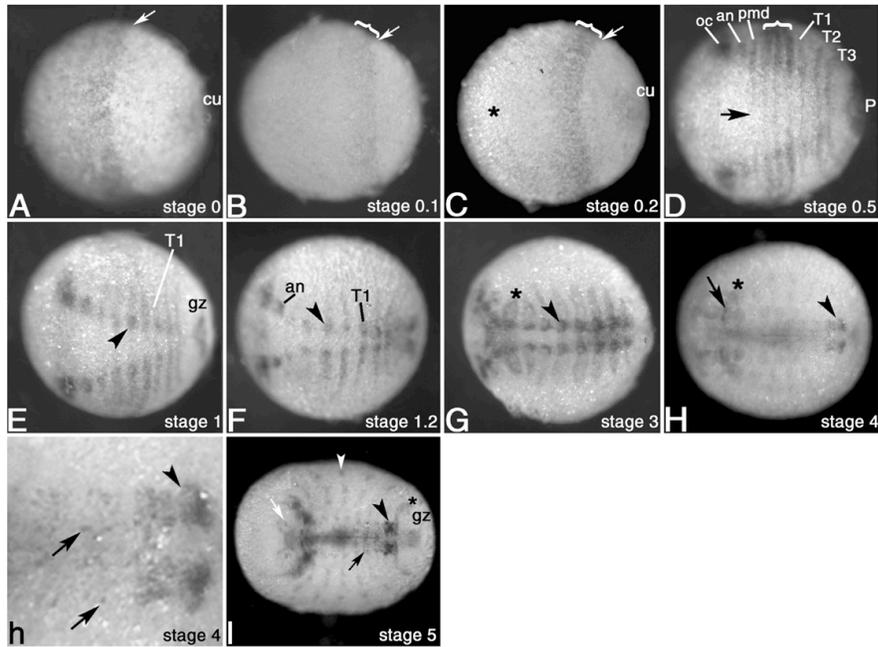


**Abb. 3.66** Phylogenetische Analyse von C2H2 Zinkfinger Proteinen aus *Drosophila melanogaster*, die Verwandtschaft zu Hunchback haben. Ebenfalls sind Hunchback Orthologa aus diversen anderen Arthropoden in die Analyse integriert worden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.67** Expression von *hunchback* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0. Pfeil deutet auf die Grenze der Expression. **B** Stadium 0.1. Pfeil wie in A. Klammer markiert Expression in den Primordien der gnathalen Segmente. **C** Stadium 0.2. Pfeil und Klammer wie in B. Stern deutet zurückgehende anteriore Expression an. **D** Stadium 0.5. Pfeil deutet auf schwache ventrale Expression. **E** Stadium 1. Pfeilkopf deutet auf Neuroektoderm. **F** Stadium 1.2. Pfeilkopf wie in E. **G** Stadium 3. Stern deutet auf verstärkte Expression im Mandibularsegment. **H** Stadium 4. Stern wie in G. Pfeil deutet auf Expression in der Mandibel. **h** Ausschnitt aus H. Pfeile deuten auf einzelne neuronale Zellen. **I** Stadium 5. Stern deutet auf anteriore Expression in der Wachstumszone; Pfeilkopf und schwarzer Pfeil wie in h; weißer Pfeil deutet auf Expression im Gehirn; weißer Pfeilkopf deutet auf dorsale Expression. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.66**



**Abb. 3.67**

**Abb. 3.68** Coexpression von *hunchback* und *engrailed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.3. Klammer deutet auf Lückendomäne (gnathale Segmente). Stern deutet auf Expression in Kumulus/Wachstumszone. **B**. Stadium 0.4. Klammer wie in A. **C**. Stadium 0.5. Klammer wie in A und B; **A' bis C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.69** Maternale Expression von *hunchback* in *Glomeris* Oozyten. **A** Gefärbtes Ovar. Stern deutet auf weiter entwickelte Oozyte. **B** Großaufnahme Ausschnitt Ovar. **C** Schematische Skizze Aufbau Oozyte.

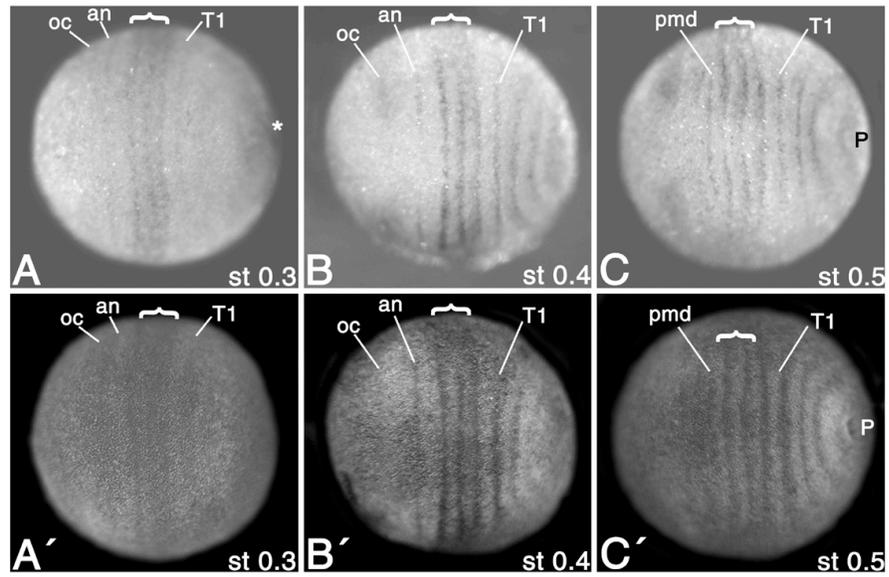


Abb. 3.68

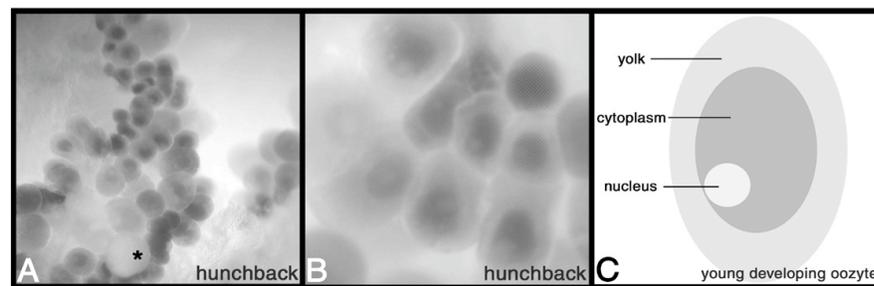


Abb. 3.69

**Abb. 3.70** Nachweis von *hunchback* Transkripten in maternalen und früher zygotischen mRNA aus *Glomeris marginata*. Das aus mRNA isolierte Fragment ist genau 500 bp groß. mRNA wurde aus Oozyten (mat. mRNA) und Embryonen von 1-7 Tagen Entwicklungszeit (bei Raumtemperatur) isoliert und als Grundlage für die Amplifikation verwendet. Bei der Negativkontrolle wurde Wasser anstelle von mRNA eingesetzt. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.71** Nachweis von TypA und TypB *hunchback* Transkripten in maternalen und zygotischen mRNA mittels RT-PCR. Das amplifizierte Fragment aus TypB ist ca. 190 bp groß. Das amplifizierte Fragment aus TypA ist ca. 230 bp groß. Verwendet wurde der 1kb+ Größenmarker von Invitrogen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

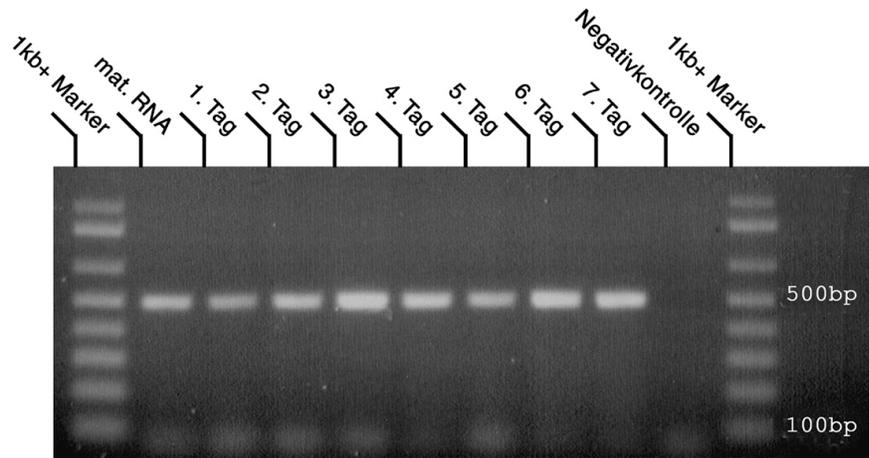


Abb. 3.70

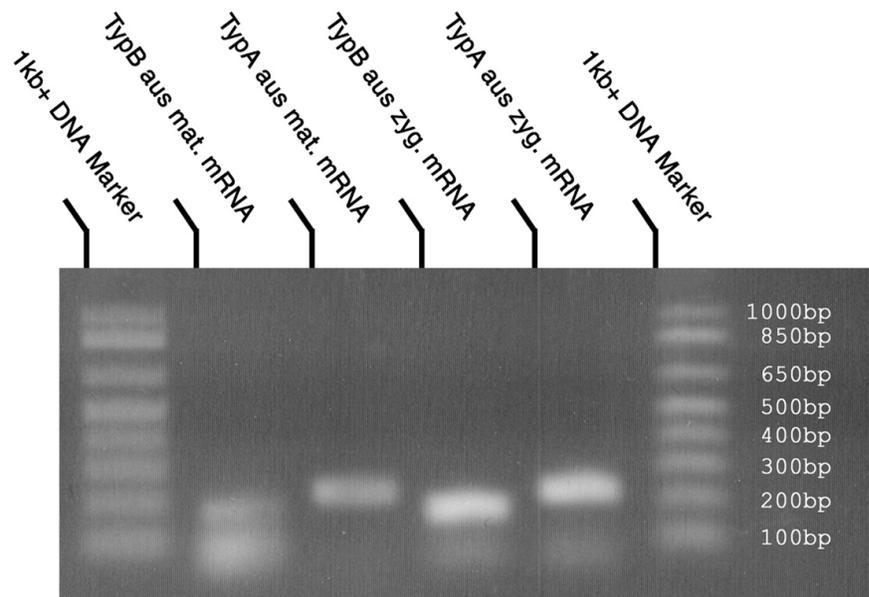
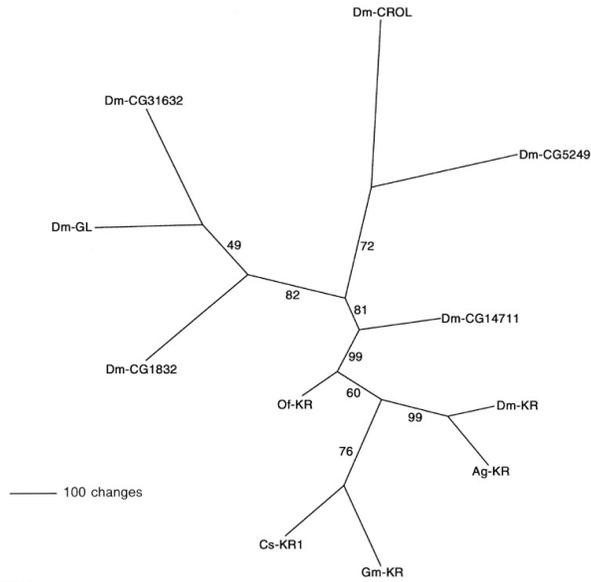


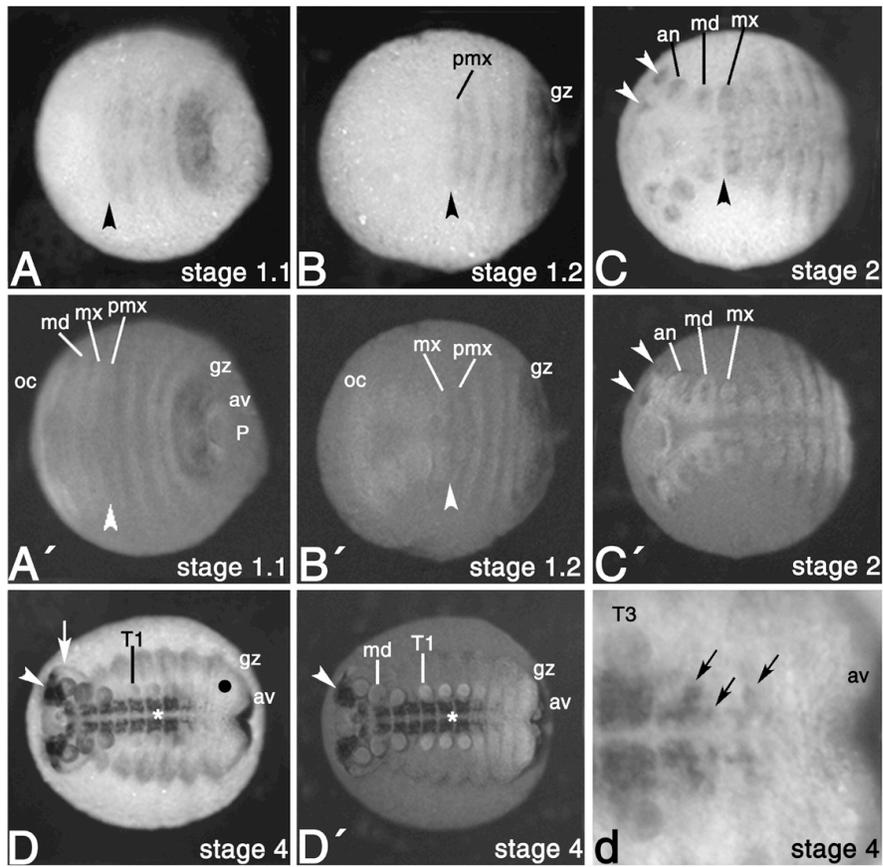
Abb. 3.71

**Abb. 3.73** Phylogenetische Analyse von Krüppel Proteinen aus diversen Arthropoden und verwandte Proteine aus dem Proteom von *Drosophila melanogaster*. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.74** Expression von *Krüppel* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 1.1. Pfeilkopf deutet auf Expressionsgrenze. **B** Stadium 1.2. Pfeilkopf wie in A. **C** Stadium 2. Schwarzer Pfeilkopf wie in A und B. Weiße Pfeilköpfe deuten auf Expression im Gehirn. **D** Stadium 4. Weißer Pfeilkopf wie in C. Pfeilkopf wie in D. Pfeil deutet auf ungefärbtes (schwach gefärbtes) Gewebe im Kopf. Stern deutet Expression im Neuroektoderm an. Punkt deutet auf fehlende (schwächere) Expression in der Wachstumszone. **d.** Großaufnahme aus D. Pfeile deuten auf einzelne *Krüppel* exprimierende Zellen in posterioren Segmenten. **A'-D'** Zu A-D korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



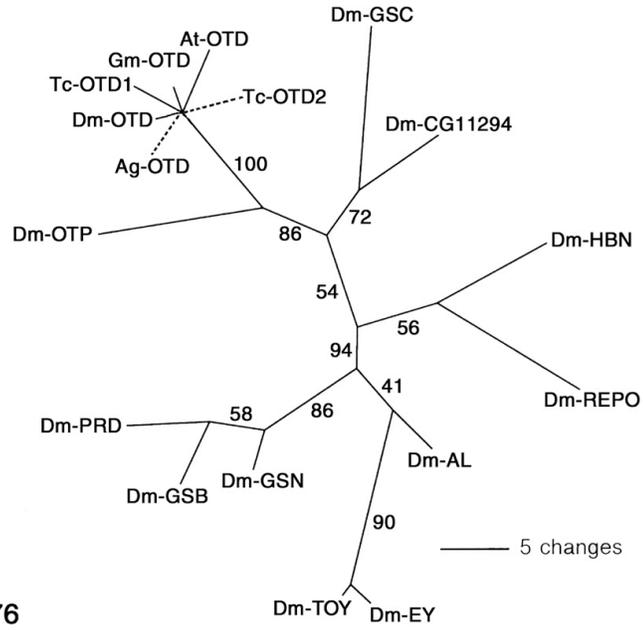
**Abb. 3.73**



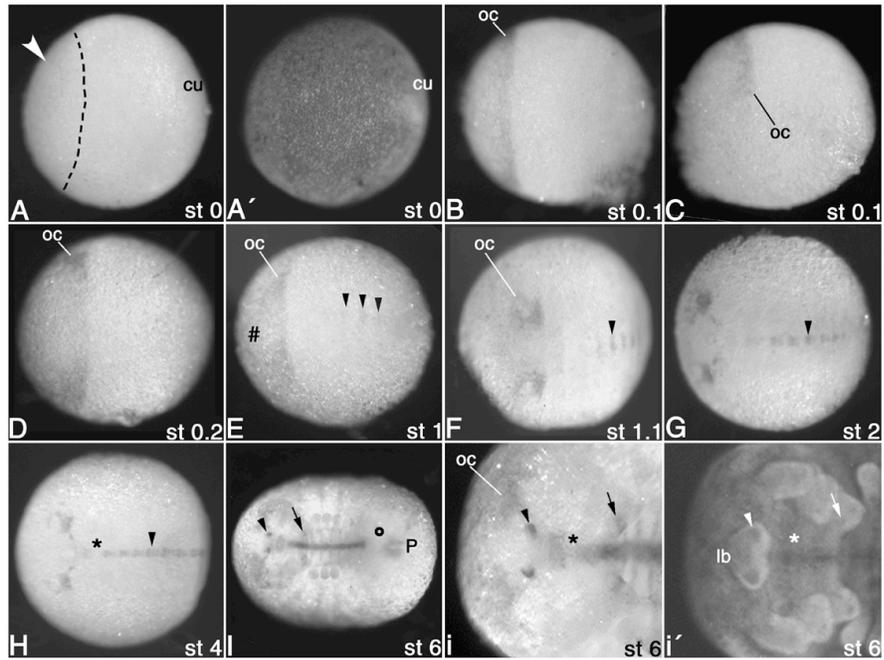
**Abb. 3.74**

**Abb. 3.76** Phylogenetische Analyse von Homöodomänen Proteinen aus *Drosophila melanogaster*, die Verwandtschaft zu *Orthodenticle* aufweisen, und *Orthodenticle* Orthologe aus verschiedenen anderen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.77** Expression von *orthodenticle* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0. Pfeilkopf deutet auf schwache anteriore Expression. **B** Stadium 0.1. Ventrale Ansicht. **C** Embryo wie in B. Laterale Ansicht. **D** Stadium 0.2. **E**. Stadium 1. Raute markiert verschwindende anteriore Expression. Pfeilköpfe deuten auf beginnende Expression entlang der ventralen Mittellinie. **F** Stadium 1.1 . Pfeilkopf wie in E. **G** Stadium 2. Pfeilkopf wie in E und F. **H** Stadium 4. Pfeilkopf wie in E-G. Stern deutet auf fehlende Expression im Prämandibularsegment. **I** Stadium 6. Pfeilkopf deutet auf Expression im Labrum. Pfeil deutet auf Expression in der Maxille. Kreis deutet auf fehlende Expression in posterioren Segmenten/Wachstumszone. **i** Großaufnahme des Kopfs aus I. Pfeilkopf wie in I. Pfeil deutet auf Expression in der Maxille. Stern wie in H. **A' und i'** Zu A und i korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.76**



**Abb. 3.77**

**Abb. 3.78** Coexpression von *orthodenticle* und *engrailed* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.1. **B** Stadium 0.4. **C** Stadium 0.5. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.79** *orthodenticle* in Oozyten. **A** Ganzes Ovar. **B** Großaufnahme einzelner Oozyten im Ovar. **C** „sense Sonde“ als Negativkontrolle.

**Abb. 3.80** Nachweis von *orthodenticle* Transkripten in maternaler und früher zygotischer mRNA aus *Glomeris marginata*. Das aus mRNA isolierte Fragment ist ca. 750bp groß. mRNA wurde aus Oozyten (mat. mRNA) und Embryos von 1-7 Tagen Entwicklungszeit (bei Raumtemperatur) isoliert und als Grundlage für die Amplifikation verwendet. Bei der Negativkontrolle wurde Wasser an Stelle von mRNA eingesetzt. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

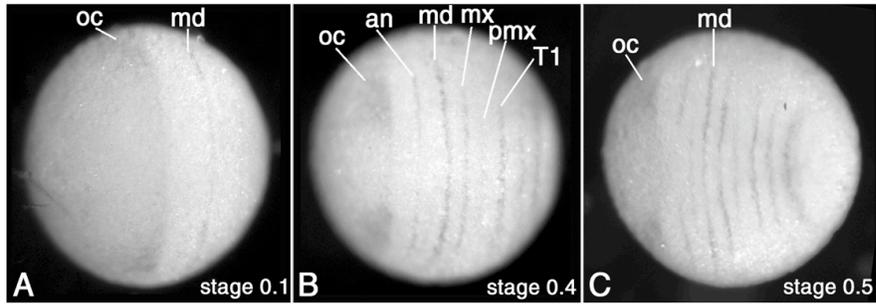


Abb. 3.78

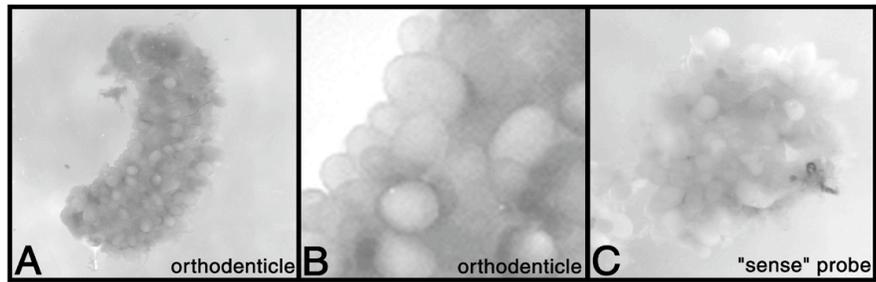


Abb. 3.79

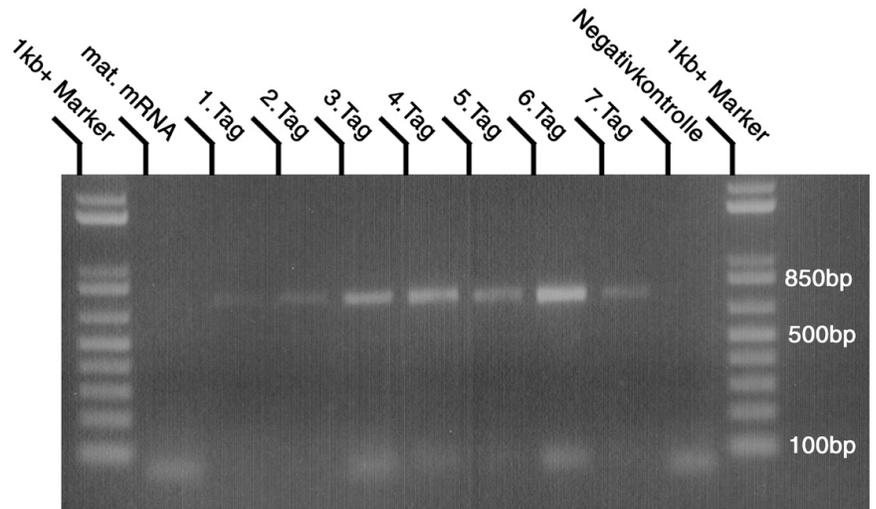
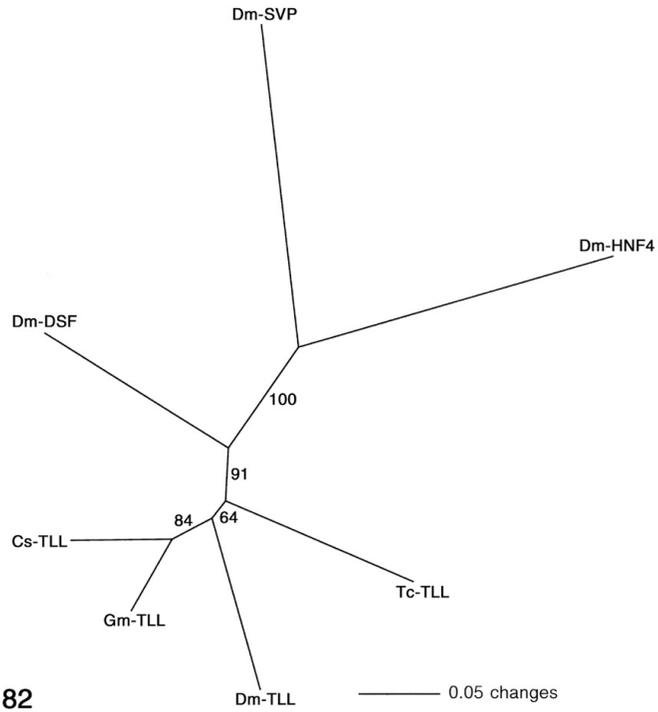


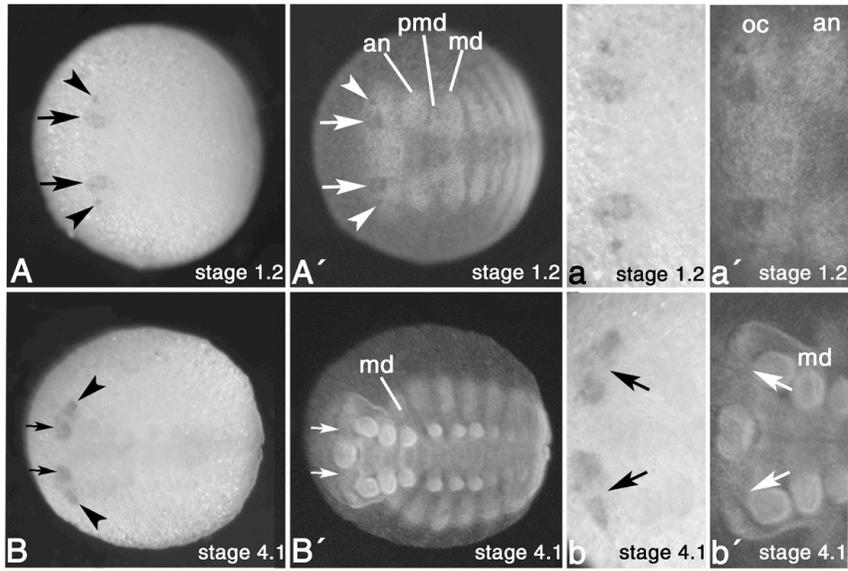
Abb. 3.80

**Abb. 3.82** Phylogenetische Analyse von C4 Zinkfinger Proteinen. Untersucht wurden *Tailless* Orthologe aus diversen Arthropoden und nahe verwandte C4 Zinkfinger Proteine aus *Drosophila*. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.83** Expression von *tailless* in *Glomeris* Embryos **A** Stadium 1.2. Pfeile und Pfeilköpfe deuten auf verschiedene Domänen starker Expression im Gehirn. **a** Großaufnahme des Gehirns aus A. **B** Stadium 4.1. Pfeile und Pfeilköpfe wie in A. **b** Großaufnahme des Gehirns aus B. Pfeile deuten auf Region schwächerer Expression. **A'**-**b'** Zu A-b korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

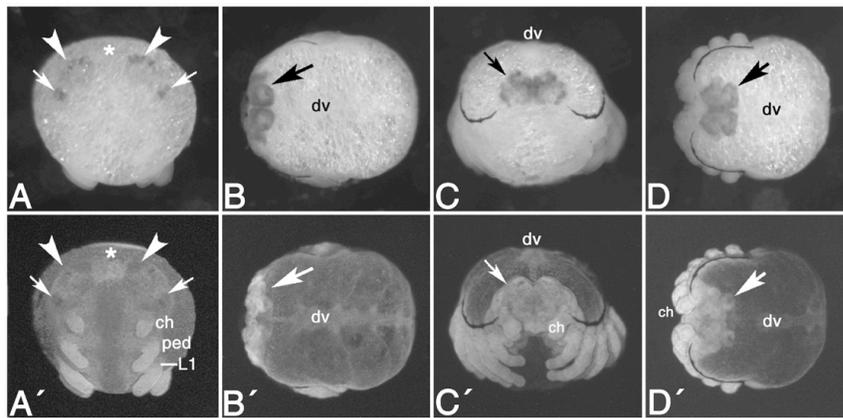


**Abb. 3.82**



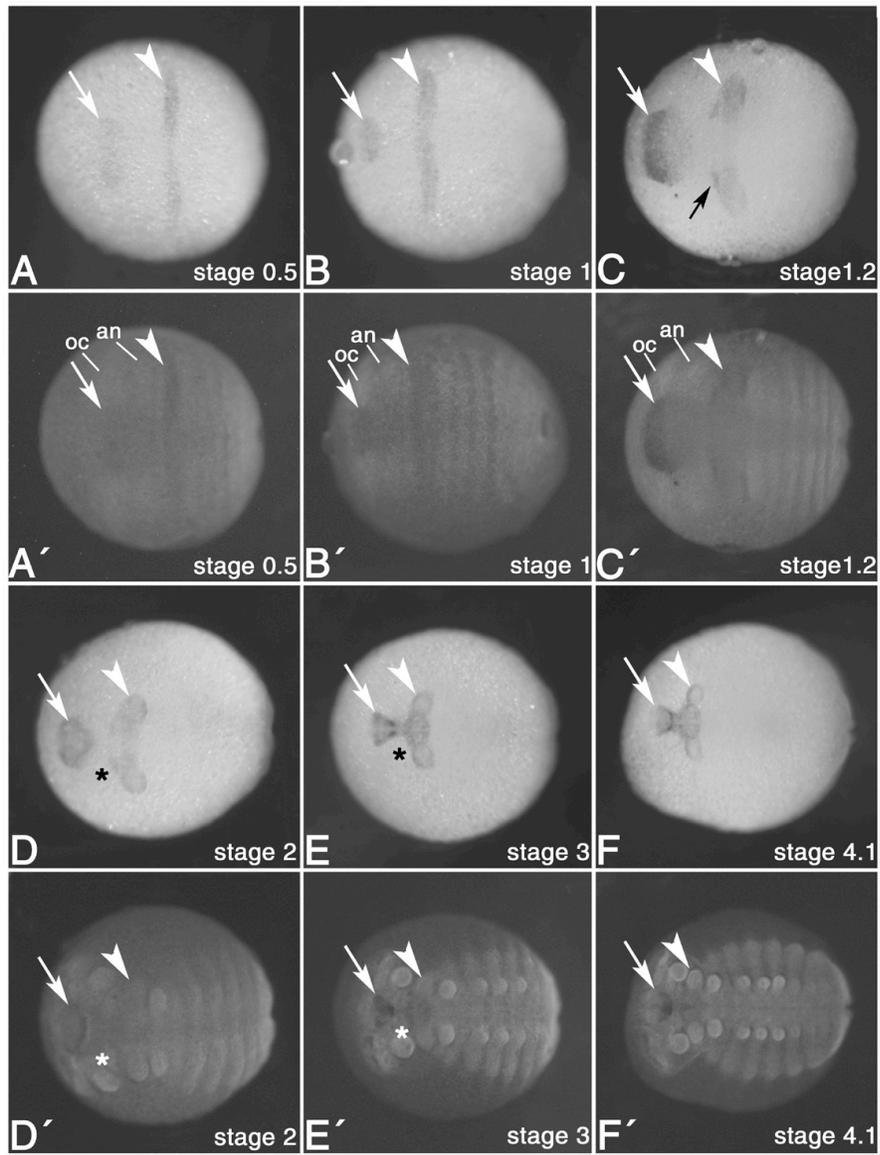
**Abb. 3.83**

**Abb. 3.84** Expression von *tailless* in *Cupiennius* Embryos **A** Anterior ist oben. Stadium: sieben opisthosomale Segmente gebildet. Pfeile und Pfeilköpfe deuten auf Bereiche stärkerer Expression im Gehirn. Stern deutet auf fehlende Expression im Labrum. **B** Anterior ist links. Stadium: dorsaler Rückenschluss. Pfeil deutet auf Expression im Gehirn. **C** Anterior ist oben. Stadium: älter als in B. Pfeil wie in B. **D**. Anterior ist links. Stadium wie in C. Pfeil wie in B und C. **A'-D'** Zu A-D korrespondierende DAPI Aufnahmen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.84**

**Abb. 3.87** Expression von *cap'n'collar* in *Glomeris* Embryos **A** Stadium 0.5. **B** Stadium 1. **C** Stadium 1.2. Schwarzer Pfeil deutet auf anteriore Struktur im Mandibularsegment. **D** Stadium 2. Stern deutet auf schmaler werdenden Raum zwischen anteriorer und posterior Expression. **E** Stadium 3. Stern wie in D; Erläuterungen siehe Text. **F**. Stadium 4.1. **A'-F'** Zu A-F korrespondierende DAPI Aufnahmen. Weiße Pfeile deuten auf anteriore Expression (Kappe); weiße Pfeilköpfe deuten auf posteriore Expression (Kragen). Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.87**

**Abb. 3.89** Phylogenetische Analyse der Proteine der Col/EBF/OLF1 Gruppe. Proteine aus verschiedenen Metazoa sind in die Analyse eingebunden worden. Zu *collier* verwandte Gene sind im Proteom von *Drosophila* nicht vorhanden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

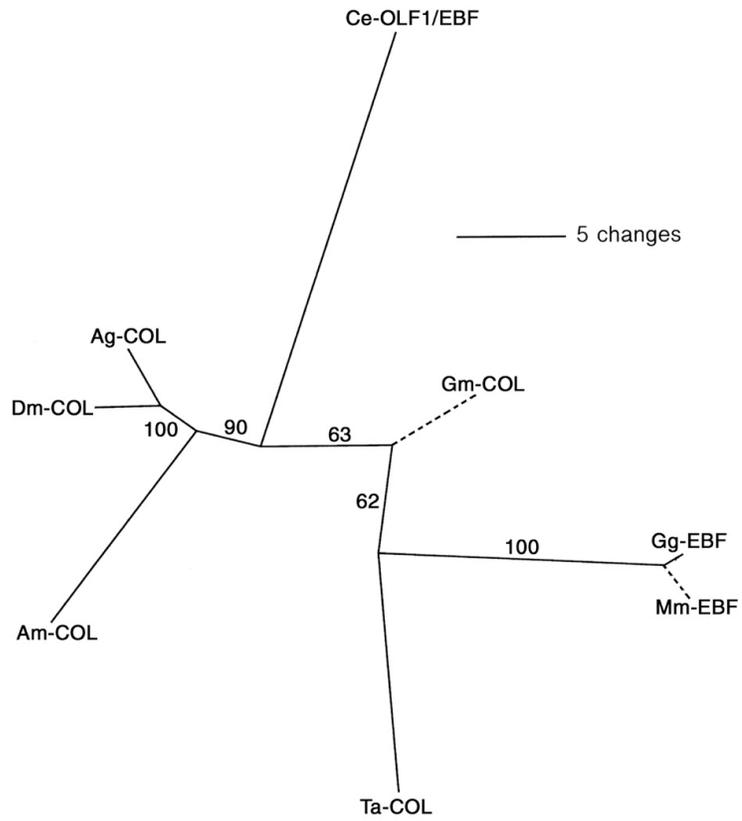


Abb. 3.89

**Abb. 3.90** Expression von *collier* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0. Pfeilkopf deutet auf Expression. **B** Stadium 0.2. **C** Stadium 0.3. Ventrale Ansicht. **D** Embryo aus C. Laterale Ansicht. Gestrichelte Linie markiert Übergang von Regio Germinalis (rg) zu Regio Dorsalis (rd). Pfeilkopf deutet auf Expression. **E** Stadium 0.5. Pfeil deutet auf schwächer werdende ventrale Expression. **F** Stadium 1.1. Pfeil wie in E. **G** Stadium 1.1. Pfeilkopf deutet auf Expression. **H** Stadium 2. Pfeilkopf wie in G. **I** Stadium 3. **J** Stadium 4.1. Pfeil deutet auf beginnende neuronale Expression. Pfeilkopf deutet auf dorsale Expression. Stern deutet Expression im Gehirn an. **K** Stadium 6. **L** Stadium 6.1. **A' bis L'** Zu A-L korrespondierende DAPI Färbungen. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

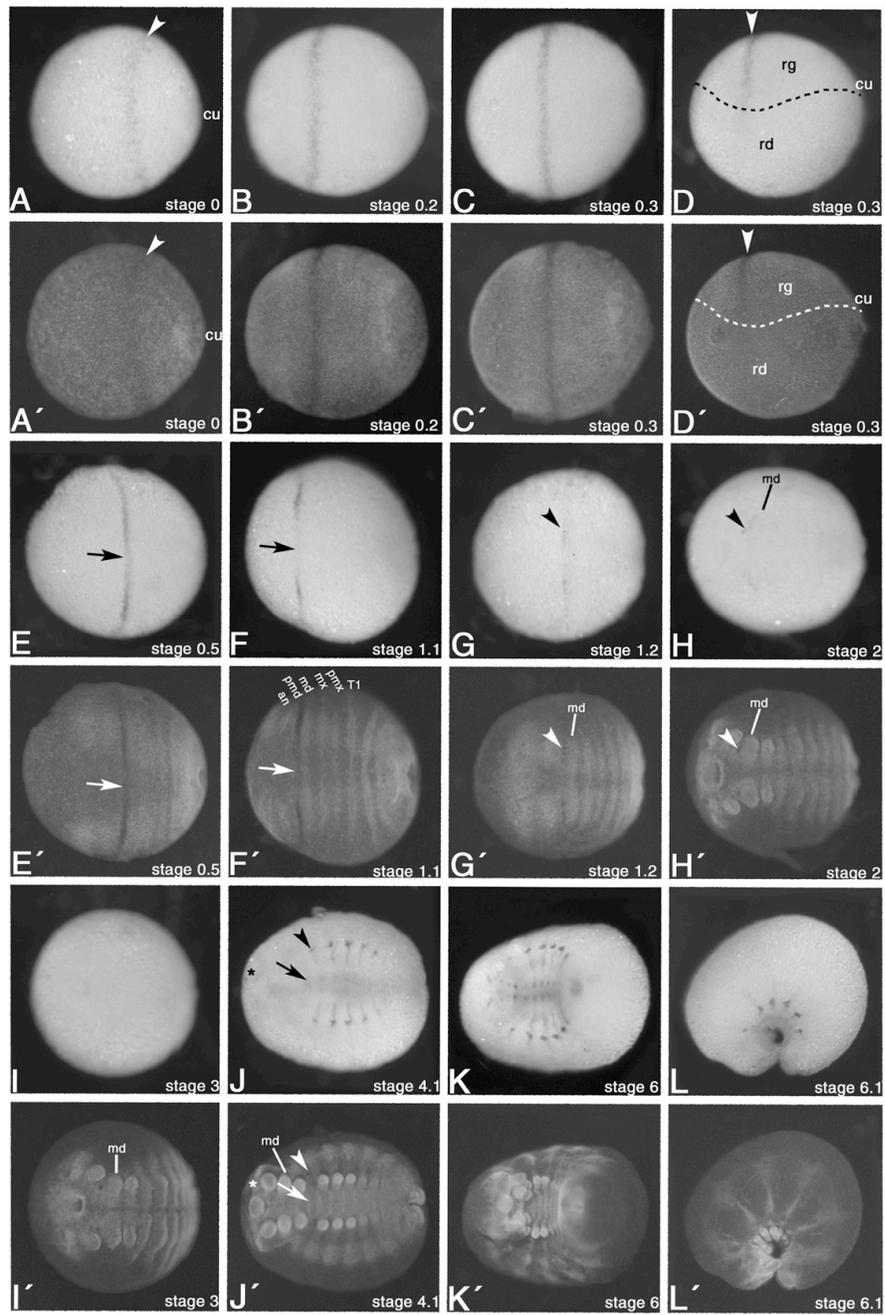


Abb. 3.90

**Abb. 3.92** Phylogenetische Analyse von Crocodile und Forkhead und anderen Genen der Forkhead-Gruppe. Neben Crocodile und Forkhead sind verwandte Proteine aus *Drosophila* in die Analyse mit einbezogen worden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensus-Phylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

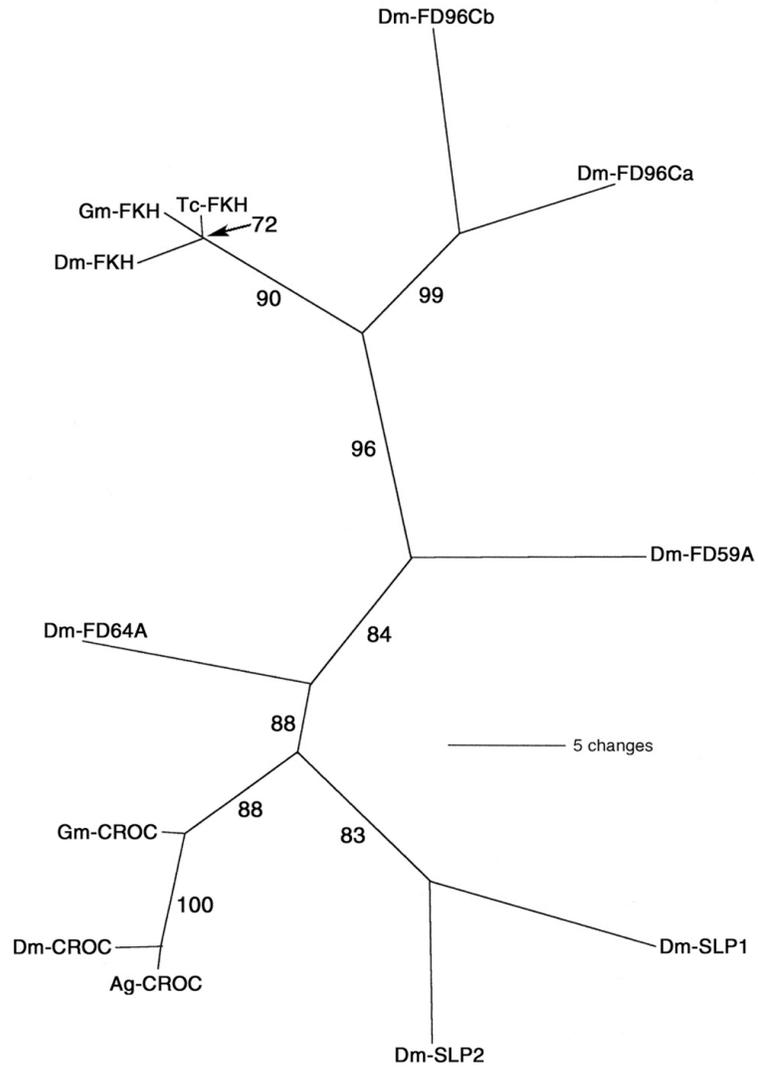
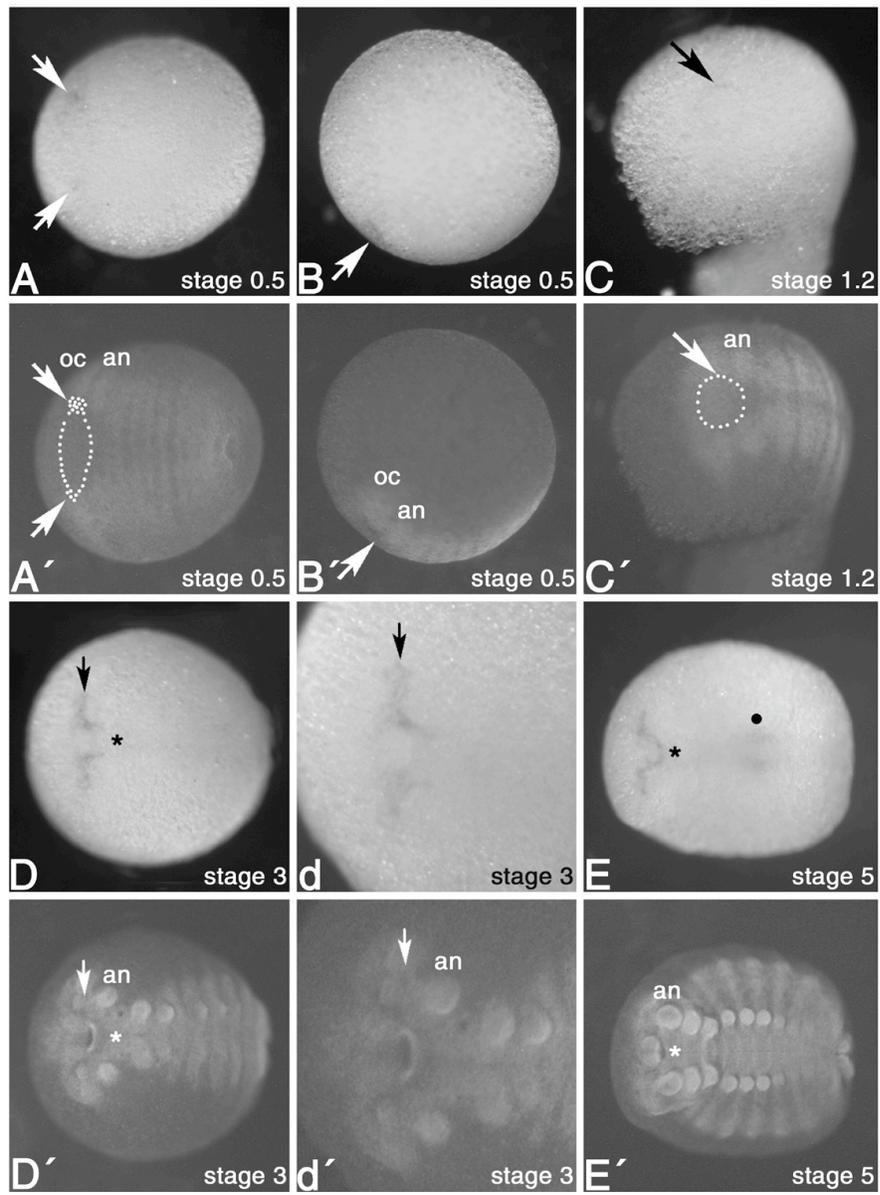


Abb. 3.92

**Abb. 3.93** Expression von *crocodile* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.5. Ventrale Ansicht. **B** Stadium 0.5. Laterale Ansicht des Embryos aus A. **C** Stadium 1.2. **D** Stadium 3. Stern deutet auf sich verändernde Expression (vgl. Stern in E). **d** Großaufnahme des Kopfs aus D. **E** Stadium 5. Punkt deutet Färbung im Darm an. Stern vgl. Stern in D. Pfeile deuten auf Expression im Kopf. **A'-E'** Zu A-E korrespondierende DAPI Färbung. Auf Grund der extrem schwachen Färbung in jungen Embryos (A/C) ist die Expression in den dazu gehörigen DAPI Färbungen (A'/C') nachgezeichnet worden. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.93**

**Abb. 3.95** Expression von *forkhead* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.3. Fokus auf anteriore Expression. Pfeilkopf deutet auf Expression in den Anlagen des Enddarms. **B** Stadium 1.2. Pfeil deutet auf Expression in den Anlagen des Vorderdarms. **C** Stadium 1.2. Gleicher Embryo wie in B. Fokus auf posteriore Expression. Pfeil wie in B. **D** Stadium 3. Stern deutet ungefärbte Region im Darm an. Pfeile deuten auf Ausweitung der Expressionsdomäne/Wachstumsrichtung von Vorder- und Enddarm. **E** Stadium 4. Stern wie in D. **F** Stadium 5. **A'-F'** Zu A-F korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

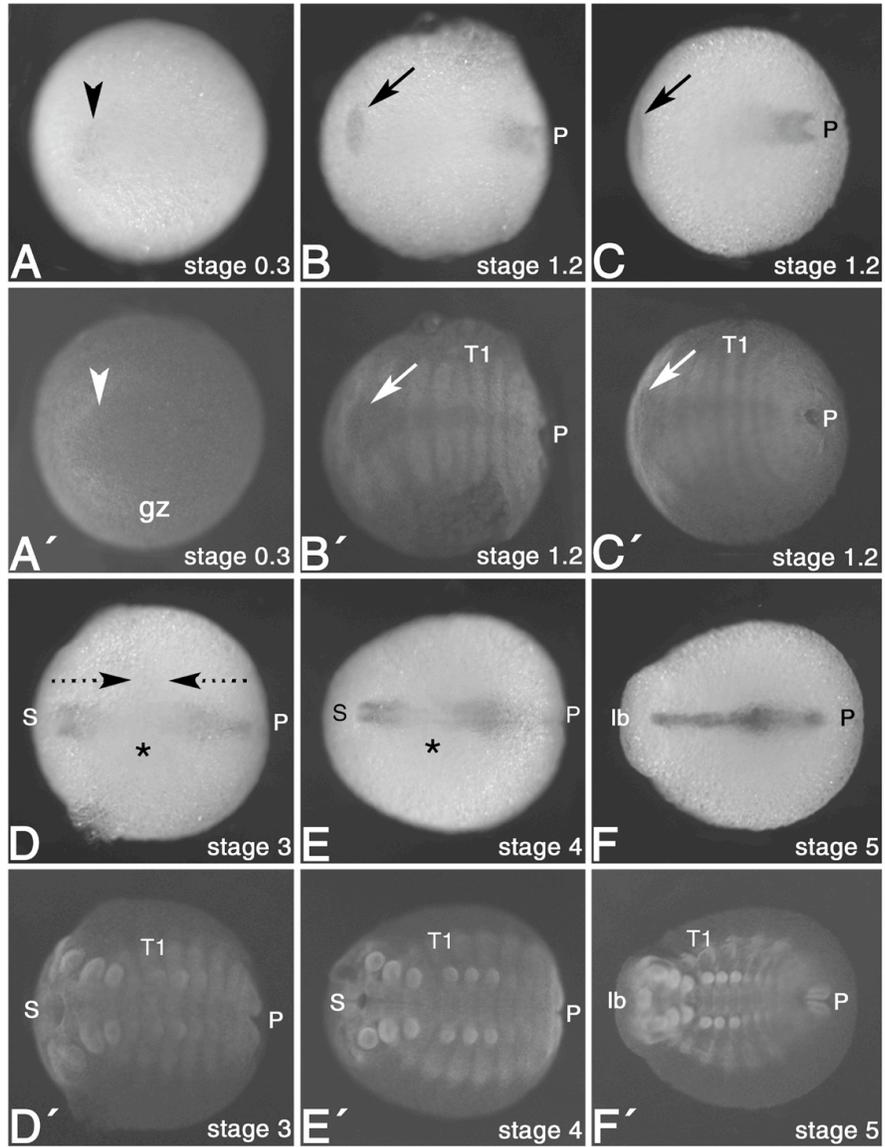
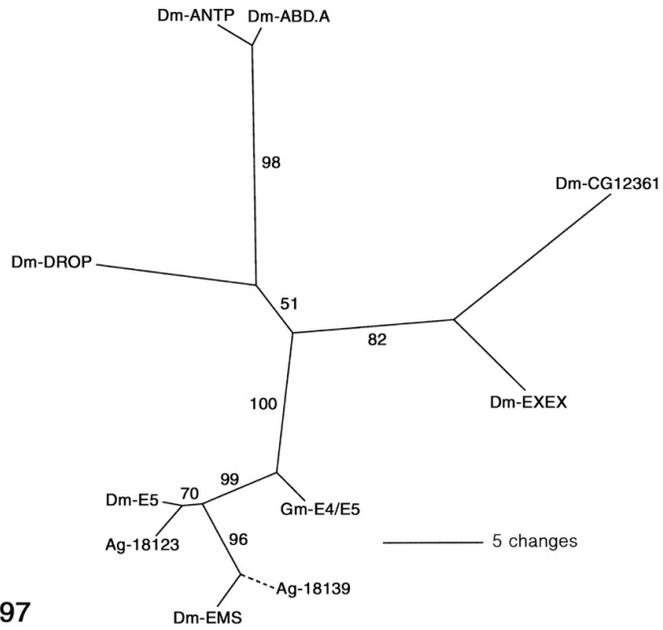


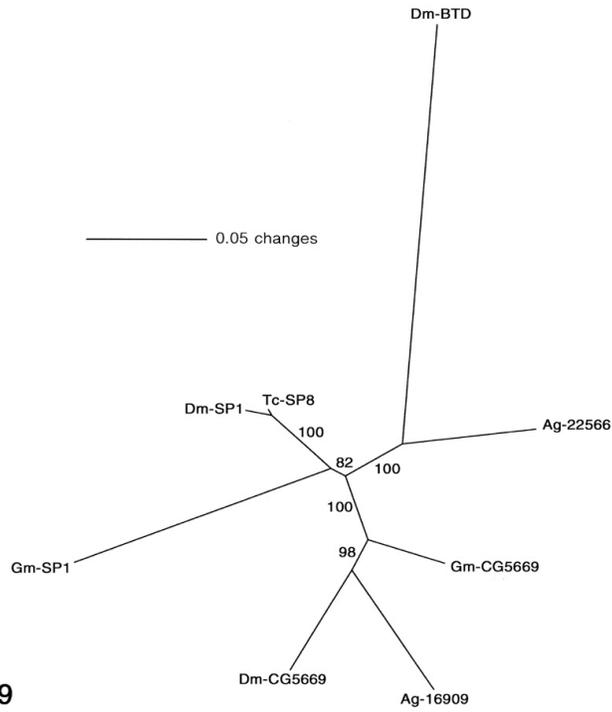
Abb. 3.95

**Abb. 3.97** Phylogenetische Analyse von Proteinen mit einer Homöodomäne, die Verwandtschaft zu *Empty spiracles* haben. Untersucht wurden Proteine aus *Drosophila* und anderen Arthropoden. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.99** Phylogenetische Analyse von C2H2 Proteinen, die Ähnlichkeit zu Buttonhead aufweisen. Untersucht wurden ähnliche Proteine aus diversen Insekten und dem Myriapoden *Glomeris*. Dargestellt ist das ungewurzelte Konsensusphylogramm, das nach der Quartet Puzzling Methode (Strimmer und von Haeseler, 1996) errechnet wurde (1000 Zwischenbäume). Die Werte der Kanten geben die sog. reliability values (RV) an. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



**Abb. 3.97**



**Abb. 3.99**

### 3.6 Die *Glomeris* Gene *Notch* und *Delta*

Auf Grund der Entdeckung, dass die *Notch*-Signalkaskade eine wichtige Rolle in der Segmentierung von ursprünglicheren Arthropoden („Kurzkeimer“) spielen könnte (Stollewerk et al., 2003), sind die Expressionsmuster des Rezeptors *Notch* und dessen Ligand *Delta* an dieser Stelle hinsichtlich einer möglichen Funktion während der Segmentierung untersucht worden. Beide Gene sind bereits zuvor unter dem Gesichtspunkt der Neurogenese in *Glomeris marginata* beschrieben und veröffentlicht worden (Dove und Stollewerk, 2003). Die Sonden zur Detektion der Expressionsmuster von *Notch* und *Delta* sind mir von Dr. Hilary Dove zur Verfügung gestellt worden und entsprechen den in Dove und Stollewerk (2003) beschriebenen Fragmenten.

#### 3.6 1 Die Expression von *Glomeris Notch*

Im Fall von *Notch* liegen zurzeit keine Expressionsdaten in Embryos vor, die jünger sind als Stadium 2. Eine umfassende Analyse des Expressionsprofils ist in Arbeit. In den vorliegenden Entwicklungsstadien ist *Notch* mehr oder minder ubiquitär im Keimstreifen transkribiert, wobei ein deutlich erhöhtes Expressionsniveau in der Wachstumszone zu erkennen ist (Abb. 3.100, Sterne). Der Vergleich dieser Domäne im Stadium 4 und Stadium 5 verdeutlicht, dass es sich um eine dynamische Expression handelt (Abb. 3.100B/C vgl. mit A), ähnlich wie sie für manche Paarregelgene und mit Beschränkung auf einige Segmente auch für *engrailed* beschrieben worden ist (Abb. 3.7, 3.39, 3.44, 3.48, 3.49). Resultat dieser Dynamik ist ein schmaler *Notch*-Streifen im jeweils neu gebildeten Segment, der sich gleich der für *engrailed* beschriebenen Situation in alternierenden posterioren Segmenten bis in die dorsalen Segmente erstreckt (Abb. 3.100C, Pfeil). Der ventrale Anteil dieses Streifens ist transient und bald nach dessen Entstehung nicht mehr zu erkennen. Wie *engrailed* und *hedgehog* liegt die dorsale Expression in der Mitte der morphologischen Blöcke (Abb. 3.100B/C, Pfeilköpfe). Ob diese in den dorsalen Segmenten der ersten vier Rumpfsegmente de novo erscheint ist wahrscheinlich, da im gezeigten Stadium 2 noch keine äquivalente dorsale Expression zu erkennen ist, obwohl die dorsalen Segmente bereits z.T. gebildet worden sind (Abb. 3.100A). Neben der für die Segmentierung relevanten Expression ist

deutlich verstärkte Expression im zentralen Nervensystem (ZNS), welches das Gehirn (Punkt) und das ventrale Neuroektoderm (langer Pfeil) umfaßt, zu erkennen (Abb. 3.100B/C). Die Expression von *Notch* reicht bis in die Dorsalmembran (Abb. 3.100A/B, schwarze Pfeile).

#### 3.6.2 Die Expression von *Glomeris Delta*

Im Stadium 1 ist *Delta* in Form eines breiten transversalen Streifens in dem Bereich exprimiert, in dem sich später die optischen Systeme (oc) bilden werden (Abb. 3.101A). Außerdem sind zu diesem Zeitpunkt drei weitere schwache Streifen vorhanden, die nur schwer bestimmten Segmenten zugeordnet werden können (Abb. 3.100A, Sterne). Im Stadium 5 ist die Expression in den optischen Loben erhalten geblieben, auch wenn sie jetzt auf Grund morphologischer Veränderungen nicht mehr in Form eines Streifens vorliegt (Abb. 3.101B, oc). Lediglich die hinteren Segmente exprimierten *Delta* in deutlichen Streifen. Da es sich nicht um die gleichen Streifen handeln kann wie im Stadium 1 und keine weiteren anterioren *Delta*-Streifen zu erkennen sind, ist daraus zu schlussfolgern, dass die segmentale Expression in älteren Segmenten verschwindet. Ab dem Stadium 2 sind keine posterioren Streifen mehr zu erkennen (Abb. 3.101C). Hier wird ersichtlich, dass *Delta* in den dorsalen Segmenten exprimiert ist. Das Expressionsprofil ist aber nicht wie im Fall von *Notch* auf die mittleren Zellen beschränkt, sondern nimmt den gesamten posterioren Teil der Lateralplatten ein (Abb. 3.101C, Pfeilkopf). Diese Expression reduziert sich im Verlauf der weiteren Entwicklung auf jeweils eine einzelne Zelle pro dorsalem Hemisegment (Abb. 3.101D, Pfeilkopf). Mit der Entwicklung des ZNS erscheint *Delta* Expression in ausgewählten Zellen des ventralen Neuroektoderms und des Gehirns (Abb. 3.101C-D). Zusätzlich ist *Delta* ab dem Stadium 2 im Proktodäum exprimiert (Abb. 3.101C-E)

**Abb. 3.100** Expression von *Delta* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 0.1. Sterne deuten Expression in unbestimmten posterioren Segmentprimordien an. **B** Stadium 0.5. Sterne wie in A. **C** Stadium C. Pfeilkopf deutet auf Lateralplatten. Pfeil deutet auf Neuroektoderm. **D** Stadium 4. Pfeilkopf und Pfeil wie in C. Stern deutet Lage des Gehirns an. **E** Stadium 5. Stern wie in D. **A'** Zu A korrespondierende DAPI Aufnahme. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 3.101** Expression von *Notch* in *Glomeris* Embryos. **A** Stadium 2. Pfeil deutet auf Expression in der Dorsalmembran. Stern deutet Wachstumszone an. **B** Stadium 4. Schwarzer Pfeil und Stern wie in A. Pfeilkopf deutet auf Expression in den Lateralplatten. Weißer Pfeil deutet auf das Neuroektoderm. **C** Stadium 5. Pfeilkopf wie in B. Punkt markiert das Gehirn. Stern markiert die Wachstumszone. Pfeil deutet auf transversalen Expressionsstreifen in der Wachstumszone. **A'-C'** Zu A-C korrespondierende DAPI Färbung. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

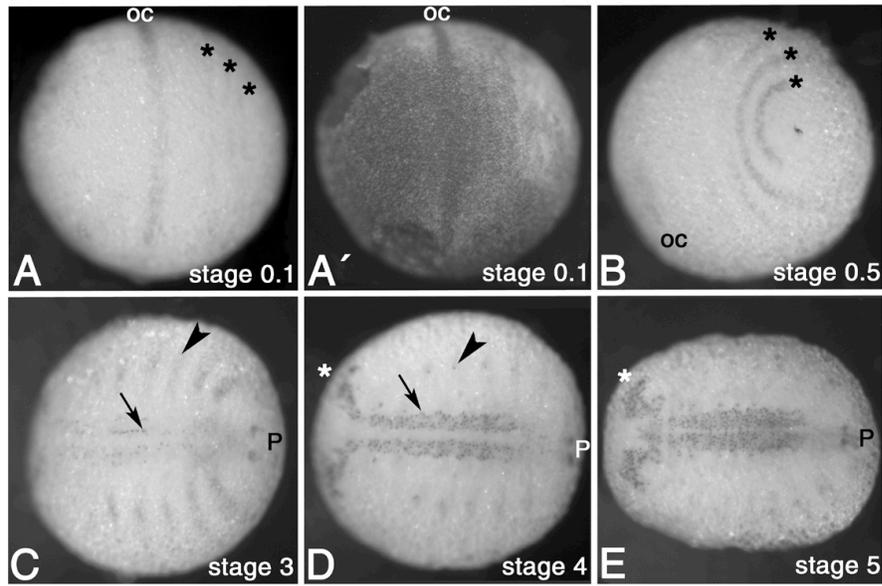


Abb. 3.100

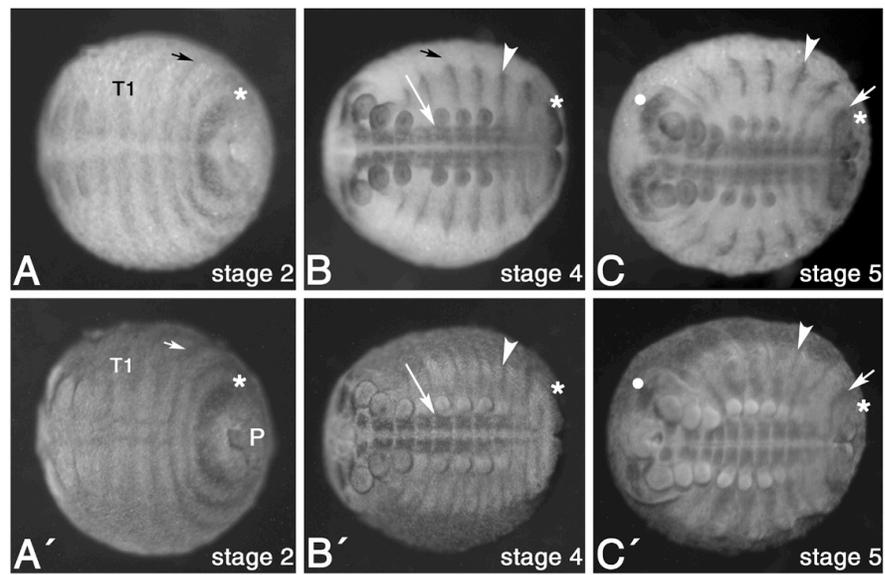


Abb. 3.101

### 4. Diskussion

#### 4.1 Die Rolle der Segmentpolaritätsgene in der Segmentierung: ventral konserviert, dorsal entkoppelt

Wie sich herausstellte sind die *Glomeris* Segmentpolaritätsgene *engrailed*, *hedgehog*, *wingless* und *cubitus interruptus* in den ventralen Segmenten so exprimiert, dass die für Arthropoden typische Interaktion dieser Gene Bestand zu haben scheint. So werden *engrailed* und *hedgehog* in den posterioren Zellen der Segmente coexprimiert, wohingegen *wingless* und *cubitus interruptus* in den dazu benachbarten anterioren Zellen eines jeden Segments exprimiert sind (Abb. 4.2A). Somit kann es auch in *Glomeris* zu einer Grenzbildung zwischen *wg/ci* und *en/hh* positiven Zellen kommen, was der Situation in *Drosophila* entspricht (zusammengefasst in Bate und Martinez Arias, 1993) (Abb. 4.3A) und für weitere Arthropoden angenommen werden kann (z.B. Hughes und Kaufman, 2002b; Damen, 2002a; French, 2001; Nagy und Carroll, 1994). Außerdem sind gleiche Bereiche der Segmente in allen Arthropoden einschließlich *Glomeris* durch die Expression der gleichen Gene charakterisiert (Abb. 4.2A). Im Bereich der Regio Germinalis erscheint die Expression der Segmentpolaritätsgene weder zeitgleich noch in einer antero-posterioren Reihenfolge, sondern in unregelmäßiger Abfolge in den einzelnen Segmenten (Abb. 3.3). Diese Sequenz stimmt für *engrailed* und *hedgehog* weitgehend überein (Abb. 3.11), was auf eine konservierte Interaktion von *engrailed* als Aktivator von *hedgehog* gedeutet werden kann. Die Expression von *wingless* erscheint später. Dies ist ein Hinweis darauf, dass *engrailed* (und somit auch *hedgehog*) anfänglich unabhängig von *wingless* reguliert werden, was der Situation in *Drosophila* entspräche (Heemskerk et al., 1991), wo es auch erst sekundär zu einer Aufrechterhaltung der *engrailed* Expression mittels des Wingless Signals kommt (Heemskerk et al., 1991). Das Verschwinden von *wingless* und *hedgehog* Transkripten in älteren, weiter entwickelten Segmenten lässt ferner darauf schließen, dass die *engrailed* Expression zu diesem Zeitpunkt autoregulatorisch sein könnte. Das entspräche dann wiederum der Situation in

## Kapitel 4: Diskussion

---

*Drosophila*, wo die Regulation von *engrailed* später während der Entwicklung ebenfalls unabhängig von *wingless* und *hedgehog* ist (Heemskerk et al., 1991).

Es fällt aber auf, dass sich die konservierten Verhältnisse, wie sie für die ventralen Segmente Bestand haben, nicht auf die dorsalen Bereiche des Keimstreifens in *Glomeris* übertragen lassen. Die dorsalen Bereiche der anterioren Segmente bis T4 einschließlich entwickeln sich erst später, nachdem die ventralen Segmente schon ausgebildet sind. Lediglich im posterioren Bereich des Embryos entwickeln sich die ventralen und dorsalen Segmente gleichzeitig (siehe Kap. 3.1). In den dorsalen Segmenten entspricht die Lage der Expression von *hedgehog* und *engrailed*, so wie die relative Lage von *cubitus interruptus* zu diesen, nicht derjenigen in den ventralen (Abb. 4.2) und ist nicht mit der Festlegung der dorsalen Segmentgrenzen korreliert, die deutlich auf Grund der Morphologie des Keimstreifens erkennbar sind. Desweiteren ist *wingless* nicht in den dorsalen Segmenten exprimiert (Abb. 4.2B). Daraus lässt sich schließen, dass sich die Festlegung der Segmentgrenzen in den dorsalen Segmenten grundsätzlich von der in den ventralen Segmenten unterscheidet, und die Interaktion, wie sie in ventralen Segmenten konserviert zu sein scheint, in dorsalen Segmenten nicht stattfinden kann. Es handelt sich bei den Grenzen, die durch die Segmentpolaritätsgene (siehe nächstes Kapitel) festgelegt werden, um diejenigen Grenzen, die zwischen den einzelnen dorsalen Panzerplatten, den Tergiten, eingezogen werden. Die Grenzen der morphologisch erkennbaren dorsalen Segmente werden nicht durch die „üblichen“ Segmentpolaritätsgene festgelegt. Eine mögliche, theoretisch denkbare Interaktion der Segmentpolaritätsgene in den dorsalen Geweben ist in Abb. 4.3B dargestellt. Die Coexpression von *engrailed* und *hedgehog* legt nahe, dass beide Gene auch dorsal miteinander interagieren könnten, dass also die Aktivität des Transkriptionsfaktors *engrailed* zur Aktivierung von *hedgehog* führt. Das anschließend sezernierte Hedgehog Signalprotein könnte dann in posterioren Zellen einen bisher unidentifizierten Faktor X mittels der Aktivierung des Transkriptionsfaktors *cubitus interruptus*, der in diesen Geweben exprimiert ist, aktivieren. Dieser Faktor X könnte das funktionelle Äquivalent zu *wingless* darstellen, und die Interaktion zwischen X und *cubitus interruptus* entspräche dann der von *wingless* und *cubitus interruptus*. Da die Gene der Wnt-Familie allesamt Signalproteine darstellen, liegt es nahe zu vermuten, dass ein bisher unentdecktes *Wnt*-Gen diese Funktion übernommen haben könnte. Im

Endeffekt wäre dann dieses Signalprotein X für die Aufrechterhaltung der Interaktion mit den Hedgehog sezernierenden Zellen durch die Aktivierung von *engrailed* verantwortlich. Im Fall der *Wnt* Gene lassen sich bereits zwei Kandidaten ausschließen, die auf Grund fehlender dorsaler Expression nicht als „Faktor X“ in Frage kommen. Dies sind die *Glomeris* Gene *Wnt5* und *Wnt7* (Abb. 3.16).

### 4.2 Untersuchungen zur Korrelation von Sterniten und Tergiten in *Glomeris marginata* und die Definition des Diplosegments

Eine anfängliche Vermutung, dass die für Diplopoden namengebenden Diplosegmente in einem ursächlichen Zusammenhang mit der ungewöhnlichen dorsalen Musterbildung in *Glomeris* stehen könnten, erwies sich als nicht haltbar. Der Prozess der Diplosegmentierung aber ist weitgehend unverstanden. Eine Theorie versucht die Diplosegmente durch das Verschmelzen zweier ursprünglich getrennter dorsaler Segmente zu erklären (Emerson und Schram, 1990). Eine andere begründet die Diplosegmente auf eine Teilung ventraler Segmente (Minelli, 2001). Molekulare Spuren eines solchen Vorgangs, handele es sich nun um eine Verschmelzung oder eine Spaltung, sind in *Glomeris* nicht zu erkennen. Meines Erachtens lassen sich beide Theorien weder durch die Ergebnisse dieser Arbeit belegen, noch widerlegen. Eine Spaltung ventraler Segmente (Minelli) würde unerkant bleiben, da die molekulare Regulation (Expressionsmuster) in beiden neu entstandenen Segmenten wahrscheinlich gleich wäre, also dem beobachteten Szenario entspräche. Für die Untersuchung der Schram-Theorie des Verschmelzens zweier dorsaler Segmente zu einem fehlt die molekulare Grundlage schon deshalb, weil für die dorsalen Segmente in *Glomeris* eine völlig andersartige Musterbildung angenommen werden muss. Nur so lassen sich nämlich die völlig verschiedene Lage der Segmentpolaritätsgen Expressionen in den dorsalen Segmenten erklären. Geht man aber von einer totalen „Entkopplung“ der ventralen und dorsalen Segmente aus, ist meines Erachtens wenig plausibel, warum im vorderen Bereich genau ein dorsales Segment mit einem ventralen korreliert bzw. im hinteren genau zwei ventrale Segmente mit je einer Lateralplatte (dorsaler Auswuchs bzw. Segment) einhergehen.

## Kapitel 4: Diskussion

---

Denn bei einer Entkopplung der Segmentbildung wäre auch jede andere Kombination möglich, wie z.B. ein dorsales und drei ventrale Segmente, oder ein dorsales und eine nicht ganzzahlige Anzahl ventraler Segmente, und so fort. Tatsächlich scheinen aber in Diplopoden immer zwei ventrale zu einem dorsalen Segment zu gehören. Zumindest liegen dazu bisher keine gegenteiligen Beobachtungen vor. Da die Diplosegmentierung an den aus *Drosophila* bekannten Paarregelmechanismus erinnert, liegt die Frage auf der Hand, ob in *Glomeris* ein ähnliches System an der Segmentierung und speziell der Ausbildung der Diplosegmente beteiligt sein könnte. Ein möglicher Zusammenhang wird im folgenden Kapitel der Diskussion erörtert.

Eine weitere interessante Feststellung ist, dass die dorsale Expression von *engrailed* und *hedgehog* mit der Grenze der Tergite zusammenfällt. Dies lässt darauf schließen, dass die Aufgabe der Segmentpolaritätsgene in dorsalen Segmenten die Etablierung der Tergitgrenzen sein könnte (Abb. 3.8). Auf Grund der Feststellung, dass sich die Grenzen der Tergite in der Mitte der dorsalen Segmente bilden, lässt sich postulieren, dass diese folglich weder immer mit den Grenzen der dorsalen noch der ventralen Segmente übereinstimmen (Abb. 4.4). Ein Problem vorausgegangener Studien bestand darin, das augenscheinliche Vorhandensein von drei exoskeletalen Ringen, die jeweils ein Beinpaar tragen (Haploringe), in abgeleiteten ringformenden Diplopoden (z.B. *Juliformia* und *Polydesmida*) (Abb. 4.5B) mit der Existenz von vier Segmenten in *Glomeris* in Einklang zu bringen, die jeweils ein Beinpaar tragen (Haplosegmente) (Abb. 4.5C). Das Vorhandensein von drei Haploringen in abgeleiteten Diplopoden ist deutlich zu erkennen (Abb. 4.5B/D/F) und wurde mit dem Vorhandensein von drei Haplosegmenten gleich gesetzt, auf die dann die Diploringe bzw. -segmente folgen sollten. Dohle aber konnte zeigen, dass vier Haplosegmente im Rumpf von *Glomeris* vorhanden sind (Dohle, 1964) (Abb. 4.5C). Um diese Situation auf ringformende Diplopoden übertragen zu können, wo das Collum, das nicht Teil eines Ringes ist, eindeutig das Postmaxillarsegment bedeckt, schlussfolgerte er, dass die Tergite in ringformenden Diplopoden mit den jeweiligen Sterniten des anterior gelegenen Segments fusionieren müssten (Abb. 4.5D). Ein Vorschlag, der im Widerspruch zu der Erkenntnis stand, dass sowohl die Muskulatur des

## **Kapitel 4: Diskussion**

---

Postmaxillar- als auch des ersten Rumpfsegments an das Collum inserieren (Dohle, 1964).

Das Resultat diese Arbeit, dass die Tergitgrenzen nicht mit den Segmentgrenzen in einem 1:1-Modus übereinstimmen, ist, dass dieses Problem behoben werden kann. Das Vorkommen von drei Haploringen in ringformenden Myriapoden steht nicht länger im Widerspruch zu den vier Haplosegmenten in *Glomeris*, da die Tergite nicht mit Segmenten gleichgesetzt werden dürfen. Die für *Glomeris* beschriebene Situation (Abb. 4.5E) lässt sich leicht auf abgeleitete (ringformende) Diplopoden übertragen (Abb. 4.5F), indem man annimmt, dass die Tergite mit den jeweils zu ihnen anterioren Sterniten verschmolzen sind. Da das Collum nun sowohl mit dem Prämandibularsegment als auch mit Teilen des ersten Rumpfsegments assoziiert ist, ist verständlich, warum die Muskulatur beider Segmente am Collum inseriert.

Die bis dato bestehende Definition eines Diplosegments als Struktur, bei der ein Tergit zwei Sternite bzw. Beinpaare überdeckt, ist folglich nicht korrekt. Vielmehr muss ein Diplosegment als eine Einheit verstanden und definiert werden, die dadurch gekennzeichnet ist, dass ein dorsales Segment zwei ventrale Segmente bedeckt. Dies ist in jedem Fall unabhängig von der Lage der Tergite zu betrachten.

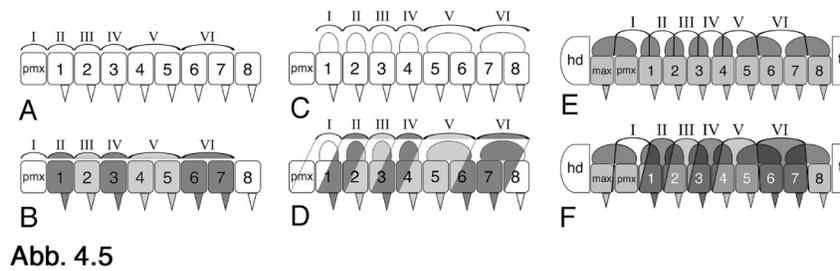
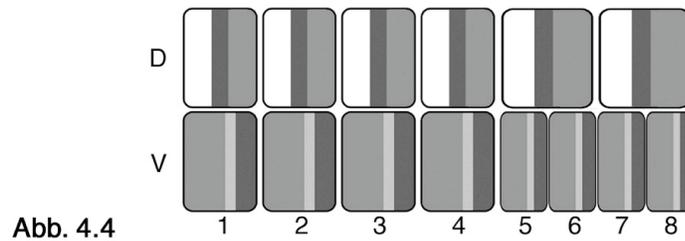
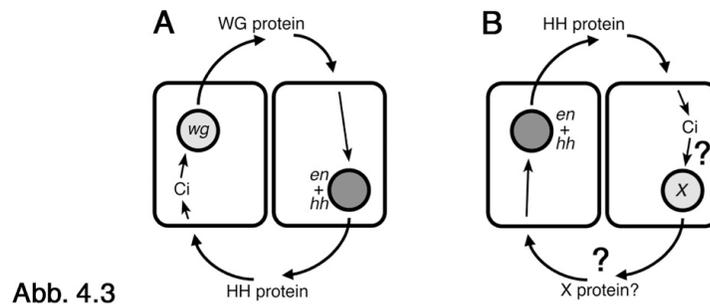
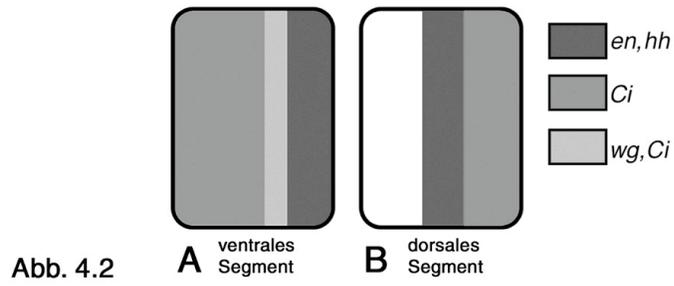


**Abb. 4.2** Schematische Zusammenfassung der Expression der Segmentpolaritätsgen-Orthologe in *Glomeris marginata*. **A** Expression in den ventralen Segmenten. **B** Expression in den dorsalen Segmenten. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 4.3** Interaktionen der *Glomeris* Segmentpolaritätsgene **A** Angenommene regulatorische Interaktion der untersuchten Segmentpolaritätsgene in den ventralen Segmenten basierend auf den bekannten Interaktionen in *Drosophila*. **B** Für die Segment-polaritätsgene hypothetisierte Interaktion in den dorsalen Segmenten. Vierecke symbolisieren Zellen. Kreise symbolisieren Zellkerne. X steht als Platzhalter für einen bisher unbekanntem hypothetisierten Faktor. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Abb. 4.4** Korrelation der dorsalen und ventralen Segmente und Expression der Segmentpolaritätsgene im Rumpf von *Glomeris*. Gezeigt sind die ventralen (V) Rumpfsegmente 1-8 und die korrespondierenden sechs dorsalen (D) Segmente. Es handelt sich um eine vereinfachte Darstellung und die Größe der Segmente entspricht nicht den tatsächlichen Proportionen.

**Abb. 4.5** Korrelation der Sternite und Tergite in basalen und abgeleiteten (ringformenden) Diplopoden. Tergite sind durch römische Zahlen gekennzeichnet (I-VI). Sternite und Beine sind durch arabische Zahlen in den Rumpfsegmenten gekennzeichnet (1-8). **A und B** Model basierend auf der Morphologie von Adulti. Darstellung der Art und Weise, in der die Tergite mit den Sterniten in ringformenden Diplopoden fusioniert sind (B, Elemente mit dem gleichen Gräuton formen einen Ring) und hypothetische Extrapolation zu nicht-ringformenden Diplopoden (A). **C und D** Model basierend auf dem Entwicklungs-Ursprung der dorsalen und ventralen segmentalen Einheiten in einem basalen Diplopoden (C) und hypothetische Extrapolation zu ring-formenden Diplopoden mit einer versetzten Fusion der Tergite und Sternite (D). **E und F** Model dieser Arbeit basierend auf Embryonalentwicklung und Genexpression. **E** Die Rumpfsegmente 5 und 6 bzw. 7 und 8 besitzen jeweils einen einzelnen dorsalen Anteil, was der wirklichen Lage der Doppelsegmente entspricht. Die Tergitgrenzen liegen in der Mitte der dorsalen Segmente. **F** Da keine direkte Korrelation zwischen den Grenzen der Tergite und der Segmente besteht, fusionieren die Tergite mit den anterior liegenden räumlich korrelierten Sterniten. Das entspricht der Situation in adulten ringformenden Diplopoden. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.



### 4.3 Die Ebene der Hox-Gene ist hochkonserviert

Der Vergleich der aus *Drosophila* bekannten Segmentierungsgene in anderen segmentierten Taxa hat gezeigt, dass die Funktion der Hox-Gene konserviert zu sein scheint. Diese könnte sowohl in Vertebraten als auch in Anneliden und Arthropoden darin bestehen, das Schicksal einzelner Segmente durch die Regulation segmentspezifischer Entwicklungsprogramme zu bestimmen. Daher soll das dritte Kapitel der Diskussion dieser womöglichen Gemeinsamkeit innerhalb der molekularen Vorgänge, die sich für die Segmentierung verantwortlich zeichnen, gewidmet werden.

Die Expressionsmuster der aus *Glomeris* isolierten Hox-Gene entsprechen den Erwartungen, die man im allgemeinen an ein Hox-Gen stellen kann, denn fast alle sind in bestimmten Segmenten des Embryos andauernd exprimiert, was mit einer möglichen Funktion der Differenzierung verschiedener Segmente in Einklang stünde. Eine Ausnahme bildet in diesem Zusammenhang das *Glomeris Hox3* Gen, dessen besondere Stellung innerhalb der Hox-Gene an späterer Stelle dieses Kapitels diskutiert wird. Auch das Prinzip der räumlichen Kolinearität, welches ein wichtiges Charakteristikum für die Hox-Gene ist, ist in *Glomeris* konserviert. In *Drosophila* und anderen Arthropoden spiegelt die Anordnung der Hox-Gene im Genom den Ort ihrer Expression entlang der antero-posterioren Achse im Embryo wider. Obwohl nicht klar ist, wie die Position der *Glomeris* Hox-Gene zueinander im Genom ist und ob die Hox-Gene in *Glomeris* überhaupt in einem Cluster organisiert sind, sind sie in der gleichen Reihenfolge entlang der antero-posterioren Achse exprimiert wie in anderen Arthropoden (zusammengefasst in Kaufman und Hughes, 2002c).

Die Hox-Gene sind zur Homologisierung von Segmenten in den unterschiedlichen Arthropoden-Klassen herangezogen worden. Dies führte dazu, dass die Cheliceren der Cheliceraten mit den Antennen der Insekta und Myriapoda bzw. mit den ersten Antennen der Crustacea homologisiert worden sind (Damen et al., 1998; Telford und Thomas, 1998a). Die in *Glomeris* beobachteten Expressionsprofile der anterioren Hox-Gene (zusammengefasst in Abb. 4.1) (*labial, proboscipedia, Hox3, Deformed, Sex combs reduced* und *fushi tarazu*) unterstützen die zuvor erwähnte Homologisierung der Kopfsegmente in den verschiedenen Arthropoden-Klassen und lassen somit wenig

## Kapitel 4: Diskussion

---

Zweifel an deren Homologie bestehen. In Cheliceraten gehen die posterioren Expressionsgrenzen der gleichen Gene mit dem Übergang des Prosomas in das Opisthosoma einher. Daraus wurde eine mögliche Funktion der Hox-Gene in der Tagmosis abgeleitet (Damen et al., 1998; Damen und Tautz, 1999a). Ob dies eine generelle Funktion in Cheliceraten ist, ist schwer zu sagen, da Daten aus der Milbe nicht zur Klärung dieser Frage herangezogen werden können. Die opisthosomalen Segmente werden hier erst nach der Embryonalentwicklung angelegt (Telford und Thomas, 1998a). Die Daten aus den Myriapoden *Lithobius* und *Glomeris* und den Insekten (zusammengefasst in Hughes und Kaufman, 2002c) lassen darauf schließen, dass die Funktion der Hox-Gene in den Mandibulata jedenfalls nicht mit der Tagmosis korreliert zu sein scheint.

Das in Abbildung 4.1 gezeigte Schema gewährt einen Überblick über die Lage der Expression der einzelnen Hox-Gene im *Glomeris* Embryo. Man sollte sich aber dessen bewusst sein, dass es sich hierbei um eine vereinfachte Darstellung des Gesamt-Expressionsprofils handelt. Die Darstellung der Expression zweier unterschiedlicher Hox-Gene in ein und demselben Segment sagt nichts darüber aus, ob sie auch in den selben Bereichen im Segment exprimiert sind. Daher können sich zwei Segmente obwohl sie die gleichen Hox-Gene exprimieren dadurch voneinander unterscheiden, dass sie dies in unterschiedlichen Bereichen/Zellen tun. Trotzdem fällt auf, dass lediglich die Segmente des Kopfs und die ersten drei Rumpfsegmente durch eine jeweils unterschiedliche Kombination von Hox-Genen in *Glomeris* charakterisiert zu werden scheinen. Die Rumpfsegmente vier bis acht hingegen teilen die selbe Kombination von Hox-Genen. Dies ist allerdings auch in den übrigen Arthropoden (Insecta, Chelicerata und Crustacea) der Fall (zusammengefasst in Hughes und Kaufman, 2002c). Dies kann im Zusammenhang mit der weniger spezialisierten Morphologie der Rumpfsegmente stehen. Andererseits ist nicht auszuschließen, dass weitere homöotische Faktoren für eine Unterscheidung der posterioren Rumpfsegmente verantwortlich sein könnten (vgl. Rolle von *cnc* im Mandibularsegment (Kap. 3.5.14/15)). Warum aber exprimieren die ersten drei Rumpfsegmente von *Glomeris* eine unterschiedliche Kombination von Hox-Genen? Zum einen entwickeln sich die ersten drei Beinpaare, relativ zu den weiter posterior gelegenen, wesentlich schneller (siehe Kap. 3.1). Dies könnte eventuell auf das frühe

## Kapitel 4: Diskussion

---

Fehlen von *abdominal-A* in diesen drei Segmenten zurückzuführen sein. Zum anderen fällt auf, dass die ersten drei Rumpfsegmente von *Glomeris* homolog zu den thorakalen Segmenten der Insekten sind (Damen et al., 1998; Telford und Thomas, 1998a). Die variierende Kombination von Hox-Genen in den entsprechenden Segmenten von *Glomeris* könnte folglich Voraussetzung für eine Spezialisierung dieser Segmente sein. Hypothesiert man aber für einen Myriapoden das Fehlen der hinteren Laufbeine (ab Rumpfsegment vier einschließlich), und die Bildung einer morphologischen Abgrenzung der ersten drei Rumpfsegmente gegen die hinteren, so hätte man den Bauplan eines Insekts vor sich. Eine Vorstellung, die nicht im Gegensatz heutiger Vorstellungen stünde, dass die Crustaceen die Schwestergruppe der Insekten darstellen, sondern vielmehr dafür sprechen würde, dass die Cheliceraten weniger eng mit den Myriapoden verwandt sind, als es Sequenzanalysen zu belegen scheinen (Hwang et al., 2001; Cook et al., 2001).

Für *fushi tarazu* wird angenommen, dass dessen Funktion als Hox-Gen auf Cheliceraten und Myriapoden begrenzt sein könnte (Damen, 2002b; Hughes und Kaufman, 2002a). Diese Funktion wird *fushi tarazu* in niederen Insekten abgesprochen, da die Expression hier auf das Neuroektoderm begrenzt ist, und die Expression das gesamte Abdomen umfasst (Dawes et al., 1994). Ähnlich verhält es sich für Crustaceen (Mouchel-Vielh et al., 2002). Ich möchte dieser Annahme entgegen halten, dass *fushi tarazu* auch in *Glomeris* im gesamten Rumpf exprimiert ist (Abb. 3.29), und dass die Expression in der Spinne *Cupiennius salei* nahezu ausschließlich auf neuronale Zellen beschränkt ist (Abb. 3.20). Zusätzlich findet sich Expression von *Cupiennius fushi tarazu* in jeweils einer Zelle pro Hemisegment im Opisthosoma. Wenn also *fushi tarazu* in Crustaceen und niederen Insekten im gesamten hinteren Teil im Neuroektoderm exprimiert ist, dann steht das nicht im Widerspruch zu einer Funktion als Hox-Gen, sondern spiegelt eher die Situation in *Cupiennius* wider. Zusätzlich liegt in allen Fällen die anteriore Grenze der Expression von *fushi tarazu* im Maxillar-segment (bzw. dem dazu homologen Segment). Wenn *fushi tarazu* lediglich als pan-neurales Gen fungiert, ist nicht ersichtlich, warum es z.B. in *Schistocerca* nicht auch weiter anterior exprimiert ist (Dawes et al., 1994). In *Lithobius* ist *fushi tarazu* transient in transversalen segmentalen Streifen exprimiert, was als Hinweis darauf gedeutet wird, dass die Situation in Myriapoden intermediär hinsichtlich des Funktionswechsels vom Hox- zum Segmentierungsgen (Paarregelgen)

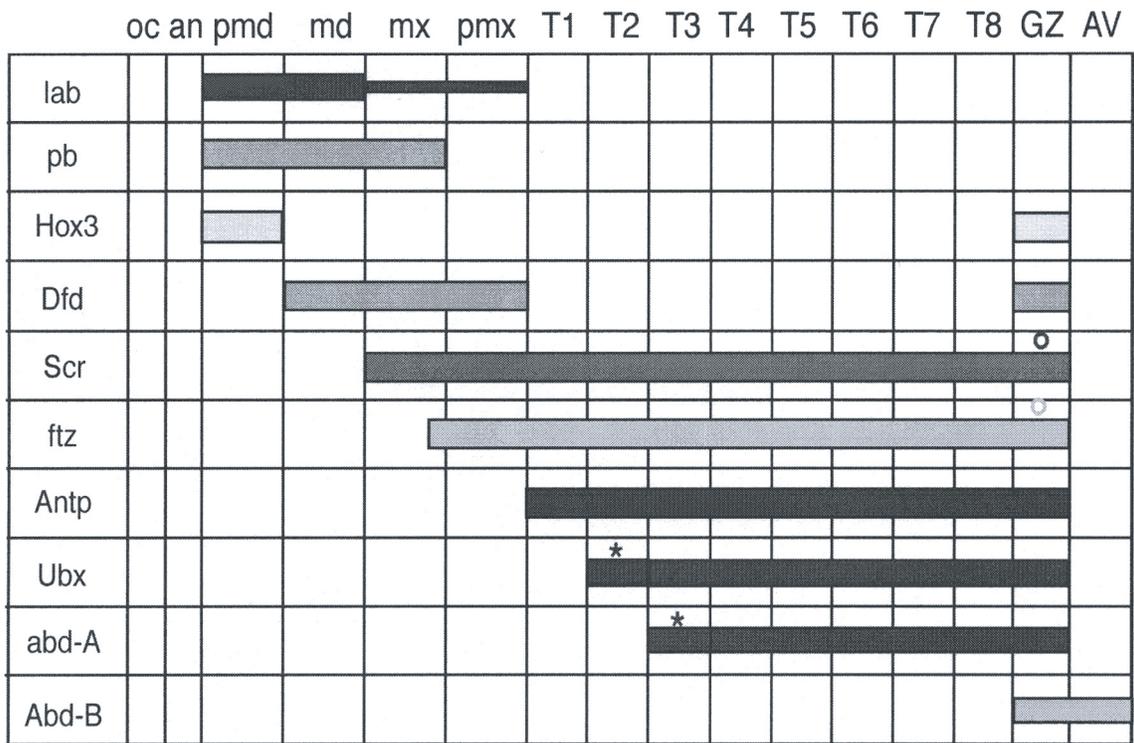
## **Kapitel 4: Diskussion**

---

von *fushi tarazu* sein könnte (Hughes und Kaufman, 2002a; Damen, 2002b). Ein ähnliches Expressionsprofil von *fushi tarazu* ist auch zeitlich begrenzt in *Glomeris* zu erkennen. Allerdings ist nicht klar, ob dies bereits als Beweis für eine sich entwickelnde Funktion als Segmentierungsgen dienen kann. Letztendlich stünde das im Widerspruch zu der oben gemachten Hypothese, dass *fushi tarazu* sehr wohl ein Expressionsmuster in Crustaceen und niederen Insekten zeigt, das mit einer Funktion als Hox-Gen korrelieren könnte.

**Abb. 4.1** Schematische Übersicht über die Expressionsprofile der *Glomeris marginata* Hox-Gene. Dicke Balken symbolisieren starke Expression, dünne Balken schwache. Offene Kreise deuten an, dass im entsprechend gekennzeichneten Bereich des Keimstreifens verstärkte Expression vorliegt. Sterne deuten an, dass die Expression im entsprechend gekennzeichneten Bereich anfänglich nicht vorhanden ist, sondern erst zeitlich versetzt erscheint. Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis auf Seite 2-5.

**Kapitel 4: Diskussion**



### 4.4 Die Ebene der Paarregelgene: Gibt es ein Paarregel-System in *Glomeris*?

Ein wichtiger Bestandteil der *Drosophila* Segmentierungskaskade ist die Ebene der Paarregelgene, mit deren Wirken die erste metamere Unterteilung des Embryos einhergeht. Die Antwort auf die Frage, ob es einen doppelsegmentalen Mechanismus, ähnlich dem Paarregelmechanismus in *Drosophila*, auch außerhalb der Dipteren oder gar außerhalb der Insekten gibt, wird vielfach widersprüchlich diskutiert. Während in höheren Insekten ein deutliches alternierendes Expressionsmuster der Paarregelgen Orthologen als Hinweis für den Paarregelmechanismus vorliegt (Sommer und Tautz, 1991, Rohr et al., 1999; Bullock et al., 2004; Sommer und Tautz, 1993; Brown et al., 1997), und zumindest in *Tribolium* auch weitere Arbeiten darauf hindeuten, dass das System der Paarregelgene auch hier konserviert ist (Schröder et al., 1999; Maderspacher et al., 1998), ist der Nachweis eines solchen Systems in ursprünglicheren Insekten nicht so deutlich zu erkennen. Zu einem Paarregelsystem korrespondierende Expressionsdaten wurden aber auch in dem primitiveren Insekt *Schistocerca* entdeckt, wo sich anfänglich einzelne Expressionsdomänen durch Auftrennung in zwei Domänen unterteilen, die dann jeweils mit je einem Segment korreliert sind (Davis et al., 2001). Eine solche Unterteilung von Expressionsdomänen wird als Hinweis auf ein Paarregelsystem angesehen. In *Glomeris* ist im Fall von *even-skipped* ein ähnliches Aufteilen eines zunächst breiten Expressionsstreifens in je zwei Einzelstreifen, die dann später auch einzelnen Segmenten zuzuordnen sind, zu erkennen (Abb. 3.39). Und auch *hairy-2* und *sloppy paired* sind anfänglich teilweise in einer breiten Domäne exprimiert, die in etwa dem Primordium des Prämandibular- und Mandibularsegments, also zweier Segmente, entspricht (Abb. 3.44/3.63). In beiden Fällen spaltet sich diese Expression erst mit der verspäteten Formation des Prämandibularsegments auf, und ist daher eher als Ursache der besonderen Entwicklung dieses Segments (vgl. Kap. 3.1), als als Hinweis auf einen Paarregelmechanismus zu deuten.

Ein deutliches doppelsegmentales Muster, so wie es in *Drosophila* typisch für die Paarregelgene ist, liegt in *Glomeris* nur für eines der beiden möglichen *paired* Orthologen, nämlich *Gm-pby1*, vor. Dieses wird im Kopf zunächst nur im Prämandibular-, im Maxillar- und im ersten Rumpfssegment stark exprimiert. Erst später

## Kapitel 4: Diskussion

---

erscheint *pby1* Expression in den dazwischen liegenden Segmenten (Abb. 3.58A/B). Ein entsprechendes Expressionsprofil ist auch für ein *PaxIII* Gen aus der Milbe *Tetranychus urticae* bekannt (Dearden et al., 2002). Die Expression in *Glomeris* erscheint allerdings erst zu einem Zeitpunkt, zu dem sich die Kopfsegmente bereits gebildet haben. Es ist daher fraglich, ob dieses doppelsegmentale Muster auch primär etwas mit der Segmentbildung zu tun haben kann. Auch wenn aber nicht angenommen werden kann, dass die doppelsegmentale Expression von *pairberry-1* direkt mit der Bildung entsprechender Segmente korreliert, ist jedoch nicht auszuschließen, dass dieses das Resultat eines unterliegenden, noch nicht entdeckten, doppelsegmentalen Mechanismus sein könnte.

Wie bereits im Kapitel über die Segmentpolaritätsgene angedeutet, könnte ein Zusammenhang zwischen den Diplosegmenten der Diplopoden und dem Paarregelmechanismus bestehen. Die Frage, die dieser Annahme zu Grunde liegt ist die, warum die dorsalen Auswüchse (Segmente) im posterioren Teil des Rumpfs von *Glomeris* immer genau doppelt so groß sind, wie die ventralen. Das Naheliegendste wäre in diesem Zusammenhang ein doppelsegmentaler Mechanismus.

Im Zebrafisch *Danio rerio* entstehen die Somiten, also die segmentalen Mesodermblöcke, aus dem unsegmentierten präsomitischen Mesoderm (PSM). In diesem Gewebe findet keine Zellteilung statt. Im Jahre 1996 konnten Müller et al. scheinbar nachweisen, dass die Expression des *Danio hairy* Homologs (*her1*) in alternierenden Somiten liegt (Müller et al., 1996). Er markierte dazu jeweils Zellen im zuletzt gebildeten Somiten (bzw. der dazu gehörenden *her1* Expression) eines Embryos und im Bereich des dazu anterior gelegenen *her1* Expressionsstreifens in Embryos gleichen Alters und somit gleicher Entwicklungsstufe. Das Resultat war, dass die markierten Zellen später in alternierenden Somiten lagen. Dies wurde als Hinweis auf einen doppelsegmentalen Mechanismus gewertet. Spätere Studien standen in einem scheinbaren Widerspruch zu dieser Annahme, da gezeigt werden konnte, dass die Expressionsstreifen von *her1* zykeln, sich also von Zelle zu Zelle innerhalb des PSM fortbewegen (Holley et al., 2000). Da jeder Expressionsstreifen von *her1* in der Bildung eines Somiten endet, wurde die von Müller erbrachte Schlussfolgerung eines doppelsegmentalen Mechanismus verworfen. Meines Erachtens ist dieses Vorgehen völlig unverständlich, da die Ergebnisse beider Arbeiten

## Kapitel 4: Diskussion

---

(Müller et al., 1996 und Holley et al., 2000) tatsächlich die gleiche Aussage zulassen, nämlich dass *her1* initial in einem doppelsegmentalen Abstand im PSM exprimiert wird. Müllers Daten wurden in Zweifel gezogen, weil von der falschen Annahme ausgegangen wurde, dass die Expressionsstreifen von *her1* zu jeder Zeit mit alternierenden Somiten assoziiert sein müssten. Nach der Feststellung aber, dass die *her1* Streifen zykeln (Holley et al., 2000), war klar, dass dies nicht der Fall sein konnte. Allerdings ist die ursprüngliche Aussage von Müller insofern richtig, als dass von ihm immer Zellen im posterioren Teil des PSM markiert wurden (1. Markierung), die tatsächlich in einen doppelsegmentalen Abstand zu dem zuletzt neu gebildeten Somiten (2. Markierung) liegen. Hätte Müller Zellen markiert, die weiter anterior im PSM liegen (2. Markierung), dann hätte er diese auch im auf den Somiten der ersten Markierung nachfolgenden Somiten gefunden. Dies allerdings entspricht genau den von Holley präsentierten Daten, nämlich dass der Abstand zwischen dem zuletzt gebildeten Somiten (bzw. dessen *her1* Expression) und dem posterioren *her1* Streifen im PSM genau doppelt so groß ist wie zwischen zwei bereits gebildeten Somiten (Holley et al., 2000). Dementsprechend findet er intermediäre Abstände zwischen der *her1* Expression im letzten Somiten und dem nachfolgenden *her1* Streifen, der sich bereits durch das Zykeln nach anterior verschoben hat. Meines Dafürhaltens legen beide Arbeiten folglich den Schluss nahe, dass die Expression von *her1* (in Streifen) im Zebrafisch initial doppelsegmental angelegt wird.

Die Expression des jeweils neuen (posterioren) *her1* Streifens wandert so lange nach anterior, bis sie von der so genannten „Wave-Front“ das Signal dazu bekommt, an Ort und Stelle zu verbleiben (Dubrulle et al., 2001, Dubrulle und Pourquie, 2002). An diesem Ort etabliert sich die neue Somitengrenze. Das Resultat, dass Expression von *her1* also immer am Ende des PSM in einem einzelnen Somiten endet, ist weder ein Beweis noch ein Hinweis darauf, dass die Expression nicht initial in doppelsegmentalem Abstand (in letztendlich alternierenden Somiten) eingeleitet worden ist. Vielmehr könnte ein anfänglich doppelsegmentaler Abstand der Expression solcher Gene, die zykeln, erforderlich sein, um in Abstimmung mit der sich in die Gegenrichtung bewegenden „Wave-Front“ Somiten der richtigen Größe zu definieren.

Die Frage, die sich nun für *Glomeris* und andere Arthropoden stellt ist die, ob auch hier möglicherweise zykelnde Gene vorkommen. Eine Voraussetzung wäre ein dynamisches

## Kapitel 4: Diskussion

---

Expressionsmuster innerhalb der Wachstumszone, wie es bereits für die Spinne *Cupiennius* und den Centipeden *Strigamia* gezeigt werden konnte (Stollewerk et al., 2003; Chipman et al., 2004b; Tautz, 2004), welche funktionell dem PSM entsprechen könnte. Und tatsächlich zeigen die Orthologen der *Drosophila* Paarregelgene *even-skipped*, *runt* und *hairy-2* in *Glomeris* ein dynamisches Expressionsmuster (Abb. 3.39/3.44/3.48). Um zu beweisen, dass die Expression dieser Gene tatsächlich im doppelsegmentalen Abstand iniiert wird, müsste man den Abstand zwischen den Zellen, die das entsprechende Gen exprimieren, zu verschiedenen Zeitpunkten messen. Sollte der initiale Abstand eines neu in der Wachstumszone auftauchenden Streifens zur Expression des gleichen Gens im bereits gebildeten Segment anfänglich doppelt so groß sein wie das später daraus resultierende Segment, dann kann dies als Beweis dafür angesehen werden, dass anfänglich ein doppelsegmentales Muster vorgelegen haben muss. Ein solches Experiment ist in *Glomeris* nur schwer durchführbar, da die Vorgänge, die sich in der Wachstumszone abspielen, recht unübersichtlich sind. Außerdem findet in der Wachstumszone von *Glomeris*, anders als im PSM von *Danio*, Zellteilung statt (Abb. 3.4). Daher bleibt das Vorhandensein eines solchen doppelsegmentalen Mechanismus in *Glomeris* hypothetisch.

Eine Korrelation zwischen den Diplosegmenten und einem möglichen posterioren Paarregel-System könnte aber ursächlich dafür sein, dass dorsale Elemente doppelter Größe entstehen, wenn man annimmt, dass das Auswachsen der Lateralplatten zeitlich synchronisiert ist. Dies scheint in *Glomeris* der Fall zu sein, da erst zu dem Zeitpunkt die Lateralplatten der anterioren Rumpfsegmente auswachsen, zu dem auch in der Wachstumszone Segmente einschließlich der dorsalen Gewebe gebildet werden (siehe Kap. 3.1). Wenn das Signal zur Bildung der Lateralplatten von den ventralen Geweben ausgeht, was sehr wohl möglich erscheint, dann würden solche Segmente, die sich noch in der Wachstumszone „aufhalten“, dorsale Gewebe bilden, die doppelt so groß sind, wie die späteren ventralen Segmente, da sich diese Segmente aus der Wachstumszone erst durch eine angenommene Verlagerung der Expression nach anterior auf „normale“ Größe reduzieren würden. Die Lateralplatten der ersten vier Rumpfsegmente wären genau so groß wie die der ventralen, da sie erst auswachsen, wenn das ventrale Gegenstück bereits auf die einfachsegmentale Größe festgelegt ist. Das Verständnis der hier angeführten

## Kapitel 4: Diskussion

---

hypothetischen Herleitung eines posterioren doppelsegmentalen Systems entbehrt sicherlich nicht eines gewissen Abstraktionsvermögens. Allerdings erscheint mir der Nachweis, dass alle Segmente einzeln von der Wachstumszone abgegeben werden, nicht als Beweis dafür, dass kein doppelsegmentaler Mechanismus in der Wachstumszone vorliegen kann, sondern lediglich als Resultat des zuvor beschriebenen Mechanismus. In Abb. 4.6 ist ein solcher möglicherweise zu Grunde liegender Mechanismus schematisch dargestellt.

Mit etwas Wohlwollen kann man also drei Systeme in *Glomeris* finden, die in irgend einer Form mit einem Paarregelmechanismus in Verbindung stehen könnten. Man sieht sich spaltende Genexpression wie in primitiveren Insekten (Davis et al., 2001; Damen, persönliche Mitteilung), ein doppelsegmentales Muster wie in *Drosophila* und *Tribolium* (z.B. Bate und Martinez Arias, 1993; Sommer und Tautz, 1993; Brown et al., 1997) und posteriore Segmente, die möglicherweise in einem doppelsegmentalen Modus angelegt werden (siehe oben). Ob die Hinweise, die sich in *Glomeris* finden lassen hinreichend sind, um auf einen Paarregelmechanismus zu schließen, bleibt meines Dafürhaltens an dieser Stelle leider unbeantwortet. Es müssten zunächst weitere Fakten geschaffen werden, die für einen echten Paarregelmechanismus sprechen würden. Zum einen könnten solche in funktionellen Studien bestehen, die leider zurzeit aus technischen Gründen noch nicht möglich sind, zum anderen wäre aber auch eine genauere Untersuchung der Vorgänge, die sich in der Wachstumszone abspielen nötig, um hier eventuell Hin- oder Beweise für einen doppelsegmentalen Mechanismus zu finden. Letztendlich könnte aber auch die Entdeckung von spontanen Mutanten, die einen Paarregel-Phänotyp zeigen, für einen Paarregelmechanismus sprechen.

In *Drosophila* unterteilt man die Paarregelgene in zwei (bis drei) Klassen. Die sogenannten primären Paarregelgene, bei denen es sich um *runt*, *even-skipped* und *hairy* handelt, stehen an oberster Position der Hierarchie innerhalb der Paarregelgene. Ihnen obliegt teilweise die Kontrolle der sekundären Paarregelgene (*odd-paired*, *odd skipped*, *fushi tarazu* und *paired*). Das *paired* Gen wird auch als tertiäres Paarregelgen betrachtet, da es zusätzlich von den sekundären Paarregelgenen gesteuert wird (Ingham, 1988; Baumgartner und Noll, 1990; zusammengefasst in Bate und Martinez Arias, 1993).

## Kapitel 4: Diskussion

---

Ein Vergleich der segmentalen Expressionsmuster der aus *Glomeris* isolierten Paarregelgene zeigt, dass grundlegende Unterschiede hinsichtlich der Lage der einzelnen Genexpression in der Wachstumszone vorliegen (Abb. 4.7).

So zeigen lediglich die Gene *even-skipped*, *runt* und *hairy-2* ein dynamisches Expressionsmuster, das die gesamte Wachstumszone von posterior nach anterior durchläuft. Dies könnte darauf hindeuten, dass diese Gene eine primäre Rolle während der Segmentierung spielen könnten, da sie bereits während der eigentlichen Bildung des jeweils neuen Segments aktiv sind. Wie oben bereits erwähnt, könnten diese Gene auch Faktoren für ein mögliches doppelsegmentales System in der Wachstumszone darstellen. Die übrigen Paarregelgene in *Glomeris* scheinen ebenfalls an der Segmentierung beteiligt zu sein. Im Fall von *odd-paired* und *sloppy paired* ist dessen frühestes Erscheinen auf den anterioren Bereich der Wachstumszone beschränkt (Abb. 4.7). Expression von *pairberry-1* hingegen erscheint erst in Form von segmentalen Streifen in neu gebildeten Segmenten (Abb. 4.7). Das legt den Schluß nahe, dass *pairberry-1* eher eine Funktion während der Differenzierung der Segmente als während ihrer Entwicklung einnehmen könnte. Eine Besonderheit zeigt sich im Expressionsprofil von *odd skipped*. Wie die primären Paarregelgene zeigt es eine dynamische Expression in der Wachstumszone. Allerdings handelt es sich dabei nicht um eine antero-posteriore Dynamik, sondern um eine dorso-ventrale. Das soll heißen, dass sich die Expression in der Wachstumszone nicht nach anterior, sondern nach dorsal bewegt, was darin gipfelt, dass *odd skipped* aus den ventralen Geweben verschwindet und nur in den dorsalen verbleibt (Abb. 3.52). Daher scheint mir *odd skipped* ein für dorsales Gewebe spezifischer Segmentierungsfaktor zu sein.

Alles in allem fällt jedoch auf, dass gerade diejenigen Gene in *Glomeris* eine Hauptrolle in der Segmentbildung zu spielen scheinen, die als primäre Paarregelgene aus *Drosophila* bekannt sind. In diesem Zusammenhang spiegelt die Situation in *Glomeris*, wo *pairberry-1* keine wichtige Rolle bei der Segmentbildung zu spielen scheint, sogar den aus *Drosophila* bekannten Umstand wider, dass *paired* als tertiäres Paarregelgen gilt. Obwohl zurzeit kein Paarregelmechanismus zweifelsfrei für *Glomeris* nachweisbar ist, könnte doch zumindest die hierarchische Stellung der Paarregelgene zwischen *Drosophila* und *Glomeris* erhalten geblieben sein. Um das in *Drosophila* vorliegende System des

## **Kapitel 4: Diskussion**

---

„Langkeimers“ zu verwirklichen war es wahrscheinlich nötig, Gene zu rekrutieren, die ursprünglich keine primäre Rolle in der Segmentierung gespielt haben, wie die sekundären und tertiären Paarregelgene, oder auch das ursprüngliche Hox-Gen *fushi tarazu*.



**Abb. 4.6** Schematische Darstellung eines möglichen doppelsegmentalen Mechanismus in der Wachstumszone von *Glomeris marginata*. Reihen symbolisieren nachfolgende Stadien mit einhergehender Zellteilung (jedes Feld steht für „eine“ Zelle). Die dynamische Expression eines möglicherweise zykelnden Gens ist durch grau unterlegte Felder markiert. Das +-Zeichen gibt an, dass die Expression des zuvor dynamischen Gens an dieser Stelle gestoppt wird. Damit geht die Bildung der neuen Segmentgrenze einher. Die Position einer sich von anterior nach posterior bewegende „wave-front“ ist durch Sternchen (\*) angedeutet. Punkte in den Feldern deuten den Zeitpunkt bzw. die Zellen an, die gemeinsame dorsale Auswüchse ausbilden. Zahlen geben die gebildeten Segmente (z.B. 5) bzw. die Primordien der Segmente in der Wachstumszone an (z.B. 5/6).

**Abb. 4.7** Schematische Darstellung des Erscheinens der Paarregelgene in der Wachstumszone bzw. dem zuletzt gebildeten Segment von *Glomeris marginata*. Die Expression ist in grau dargestellt und zusätzlich mit einem Stern (\*) gekennzeichnet.

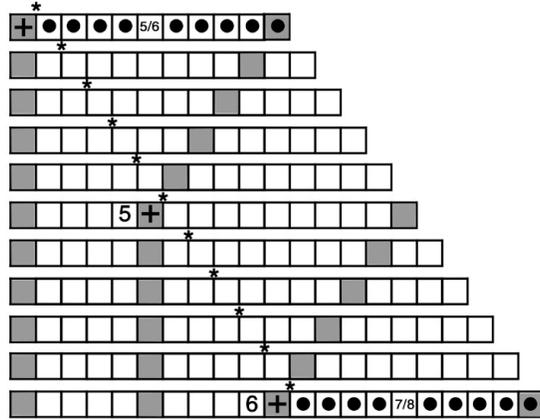


Abb. 4.6

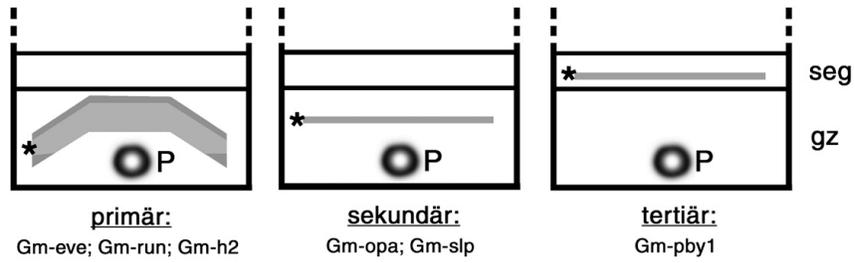


Abb. 4.7

### 4.5 Die Ebene der Lückengene

Bisherige Untersuchungen zu den Lückengenen in „Kurzkeimern“ beschränken sich weitgehend auf die Gene *hunchback* und *Krüppel* in Insekten. Anhand von Expressionsprofilen und funktioneller Studien ist versucht worden, die Funktion der Lückengene zu entschlüsseln. Die ausführlichsten Resultate stammen aus der Wanze *Oncopeltus fasciatus* und dem Mehlkäfer *Tribolium castaneum*. Die Frage, die sich stellt, ist die, wie ein Lückengen in einem „Kurzkeimer“ im Vergleich zu *Drosophila* exprimiert sein müsste, um dort die gleiche Aufgabe zu erfüllen. Im anterioren Bereich des Keimstreifens, der in „Kurzkeimern“ ähnlich dem *Drosophila* Blastoderm segmentiert wird, ist eine konservierte Expression zu erwarten. Im Fall von *hunchback* wäre dies eine breite transversale Expressionsdomäne, die mit der Lage der gnathalen Segmente übereinstimmt. Und dies entspricht genau der Situation, welche man in primitiveren Insekten (Kurzkeimer) vorfindet (Patel et al., 2001; Wolff et al., 1995; Liu und Kaufman, 2004a).

In *Glomeris* ist ebenfalls eine anteriore Expression von *hunchback* in der Regio Germinalis in Form einer breiten transversalen Domäne vorhanden, die die Primordien der gnathalen Segmente umfasst (Abb. 3.67). Ein weiterer konservierter Aspekt der anterioren *hunchback* Expression ist darin zu sehen, dass jeweils auch der Bereich vor der eigentlichen Lücken-Domäne (gnathale Domäne) *hunchback* exprimiert, bzw. dass *hunchback* Transkripte in allen untersuchten Arthropoden bereits maternal im unbefruchteten Ei (oder der Oozyte) vorliegen. Die daraus zu ziehenden Schlußfolgerungen werden im nächsten Kapitel der Diskussion im Zusammenhang mit der Rolle der maternalen Faktoren erörtert (Kap. 4.6).

Komplizierter aber wird es, wenn man Voraussagen hinsichtlich der Expression der Orthologen posteriorer *Drosophila* Lückengene treffen will. Man sollte annehmen, dass ein solches Gen bereits in der Wachstumszone, also zu dem Zeitpunkt, zu dem die Segmente gebildet werden, aktiv ist. Daten aus *Tribolium* und *Oncopeltus* aber widerlegen diese Annahme, da *Krüppel* hier nicht in der Wachstumszone exprimiert wird, obwohl in Mutanten (*jaws* ist auf eine Mutation von *Krüppel* zurückzuführen; Bucher, 2002) bzw. RNAi behandelten Embryos (*Oncopeltus*) auch solche Segmente fehlen, die der Wachstumszone entstammen (Bucher, 2002; Liu und Kaufman, 2004b). Dies kann darin begründet liegen, dass der Ausfall von *Krüppel* in anterioren Segmenten eine negative

## Kapitel 4: Diskussion

---

Auswirkung auf die Bildung angrenzender posteriorer Segmente hat, auch wenn ein solcher Mechanismus vollständig unverstanden ist (Bucher und Klingler, 2004; Liu und Kaufman, 2004b).

Der Nachweis spezifischer Genaktivität mittels der *in situ* Technik gestaltete sich für *Glomeris Krüppel* als sehr schwierig. Dies kann an der starken ubiquitären Expression dieses Gens liegen. Vor allem der Nachweis spezifischer Expression in jungen Stadien hatte unter diesem Umstand zu leiden, weshalb zurzeit nur verlässliche Expressionsdaten von älteren Stadien zur Verfügung stehen (Abb. 3.74). Wie in den bisher untersuchten Insekten findet sich Expression in einer Domäne, die mehrere Segmente umfasst (Abb. 3.74A/B). Diese sind anfänglich das Postmaxillarsegment, sowie die dazu posterioren Segmente (erstes bis drittes Rumpfsegment) einschließlich der Wachstumszone. Später expandiert die Expression dann aber anterior bis in das Maxillarsegment und eventuell sogar bis in den posterioren Teil des Mandibularsegments. Ein Umstand, der so auch in *Oncopeltus* zu beobachten ist (Liu und Kaufman, 2004b). Die deutliche Expression von *Krüppel* in der Wachstumszone von *Glomeris* kann als Indiz dafür gelten, dass *Krüppel* auch in den weiter posterior gelegenen Rumpfsegmenten (posterior zu Rumpfsegment drei), wie in *Tribolium* und *Oncopeltus*, eine Rolle als Lückengen spielen könnte (s.o.). Außerhalb der Insekten liegen Daten zu *Krüppel* nur aus der Spinne *Cupiennius salei* vor. Die Expressionsprofile der beiden *Krüppel* Paraloge aus der Spinne entsprechen in ihrer Gesamtheit etwa der Expression von *Glomeris Krüppel*, was darauf schließen läßt, dass es nach einer Duplikation des *Krüppel* Gens in *Cupiennius* zu einer Subfunktionalisierung gekommen sein könnte (Damen, persönliche Mitteilung). RNAi Experimente führten in der Spinne im Fall des einen Paralogs (Cs-Kr1) zum Abbruch der Segmentierung nach dem fünften bzw. sechsten opisthosomalen Segment (Schoppmeier, 2003). Homöotische Transformationen konnten in keinem Fall gezeigt werden. Eventuell sind diese Ergebnisse auf Redundanz oder eine nur teilweise funktionierende RNAi zurückzuführen.

Eine Ursache dafür, dass sich die *Krüppel* Expression in *Glomeris* und *Cupiennius* weiter nach posterior erstreckt als in *Tribolium* und *Oncopeltus*, könnte sein, dass der für letztere hypothetisierte Mechanismus, der dafür sorgen soll, dass sich das Fehlen von Transkription auf posteriore Segmente auswirkt, außerhalb der Insekten nicht vorhanden ist. Deshalb könnte es hier nötig sein, dass *Krüppel* in allen Segmenten exprimiert wird, in denen es eine

Auswirkung auf die Entwicklung haben soll. Dies würde zu der Hypothese führen, dass in *Glomeris* und *Cupiennius* im Vergleich zu Insekten Lückengene fehlen könnten. Das würde mit der bisher vergeblichen Suche nach möglichen Orthologen von *giant* und *knirps* in diesen Organismen einhergehen (Janssen, 2001), würde jedoch nicht erklären, welche Gene für die Bestimmung der posterioren Segmentschicksale verantwortlich sind. Da die Lückengene in „Kurzkeimern“ nicht wie in *Drosophila* über das Wirken von Proteingradienten und deren Konzentrationsschwellenwerte wirken können, wäre es eher denkbar, dass mehr Lückengene als in *Drosophila* benötigt werden. Mutante Phänotypen und Expressionsmuster noch unbekannter bzw. nicht näher untersuchter Gene aus *Tribolium* liegen vor, die diese Annahme stützen könnten (Maderspacher et al., 1998; Savard, persönliche Mitteilung). In *Tribolium* ist auch das Ortholog des *Drosophila* Gens *giant* identifiziert und untersucht worden (Bucher und Klingler, 2004). Eine *giant* Expressionsdomäne liegt in *Tribolium* vor der von *Krüppel*. In *Oncopeltus* und *Glomeris*, wo noch kein *giant* nachgewiesen werden konnte, dehnt sich die *Krüppel*-Domäne in diesen Bereich aus, während sie dies in *Tribolium* auf Grund angenommener Repression durch *giant* nicht in dem Maße tut (Bucher und Klingler, 2004). Eine Repression von *Krüppel* durch *giant* ist auch für *Drosophila* gezeigt worden (Capovilla et al., 1992; Kraut und Levine, 1991b). Eine Verschiebung der Expressionsdomäne eines möglichen *giant* Orthologs nach anterior könnte in *Glomeris* also ursächlich für die Ausdehnung der *Krüppel* Expression nach anterior sein.

Insgesamt scheint die Frage zurzeit aber unbeantwortet bleiben zu müssen, inwiefern die Umstellung des „Kurzkeim-Systems“ zum „Langkeim-System“ auf Ebene der Lückengene bewerkstelligt worden ist.

### 4.6 Welche Rolle spielen die aus *Drosophila* bekannten maternalen Faktoren in *Glomeris*?

Im Rahmen dieser Studie sollte auch untersucht werden, ob ein konserviertes System zur Festlegung der Körperachse innerhalb der Arthropoden vorliegen könnte. Ein wichtiges anteriores Morphogen in *Drosophila* ist das Produkt des Homöobox-Gens *bicoid*. Dieses ist

in *Drosophila* maßgeblich an der Ausbildung anteriorer Strukturen beteiligt. Lange ist daher angenommen worden, dass ein solches *bicoid* Ortholog in Arthropoden konserviert sein müsste, obwohl *bicoid* außerhalb der höheren Dipteren (Cyclorrhapha) nicht nachzuweisen ist (Stauber et al., 1999 und 2002; Wolff et al., 1998). Erst jüngste Studien scheinen zu belegen, dass das Zusammenwirken der Gene *hunchback* und *orthodenticle* die Funktion von *bicoid* in *Tribolium* ersetzt haben könnte (Schröder, 2003). In *Drosophila* fungiert *orthodenticle* als Kopf-Lückengen und Mutationen führen zum fehlen anteriorer Strukturen (optische Loben, Antennen- und Interkalarsegment) (Cohen und Jürgens, 1991). Außerhalb der Insekten ist das Zusammenspiel von *orthodenticle* und *hunchback* noch nicht hinsichtlich dieses Aspekts untersucht worden. Dies liegt einerseits daran, dass dazu bisher wenig Anlass bestanden hat. Andererseits ist es außerhalb der Insekten vielfach schwierig, entsprechend junge Embryonalstadien für in situ Experimente zu erhalten (z.B. *Cupiennius*, *Tegenaria*, *Lithobius*, *Artemia* (alles eigene Beobachtungen)), die es ermöglichen würden, die Expressionsprofile von *hunchback* und *orthodenticle* hinsichtlich der oben gestellten Frage zu untersuchen.

Die aus *Glomeris* erhaltenen Resultate weisen darauf hin, dass die Funktion von *hunchback* und *orthodenticle* tatsächlich auch hier in der Festlegung anteriorer Strukturen, bzw. des anterioren Körperpols liegen könnte. Beide Gene sind im Blastodermstadium in Form einer anterioren Kappe exprimiert (Abb. 3.67/3.77). Die Expression von *hunchback* erstreckt sich dabei weiter nach posterior als die von *orthodenticle*, was den Verhältnissen in *Drosophila* und *Tribolium* entspricht (Li et al., 1996; zusammengefasst in Cohen und Jürgens, 1991 und Finkelstein und Perrimon, 1991). Des weiteren sind beide Gene in *Glomeris* in allen zygotischen Entwicklungsstadien aktiv (Abb. 3.70/3.80), wobei *hunchback* im Gegensatz zu *orthodenticle* zusätzlich maternal in den Oozyten zu finden ist (Abb. 3.69/3.79). Beide Gene sind demzufolge bereits zu einem Zeitpunkt aktiv, zu dem die Festlegung der anterioren Achse vermutlich stattfindet, bzw. die Bildung der anterioren Segmente eingeleitet wird. Daher ist anzunehmen, dass der für *Tribolium* postulierte Mechanismus (Schröder, 2003) ein generelles System für die Mandibulata darstellen könnte.

Eine Determinante des posterioren Systems in *Drosophila* ist unter anderem das Produkt des Gens *caudal*. Dieses ParaHox-Gen ist in einer Vielzahl von Arthropoden untersucht worden. In allen ist es im posterioren Bereich des Embryos exprimiert (Dearden und Akam, 2001;

## Kapitel 4: Diskussion

---

Schulz et al., 1998; Xu et al., 1994; Mlodzik und Gehring, 1987; Copf et al., 2003; Damen, persönliche Mitteilung). Ein solches Expressionsprofil ist auch für *Glomeris* während der Elongation des Keimstreifens konserviert (Abb. 3.36). Die Funktion dieser Expression könnte darin bestehen, in neu gebildeten Segmenten jeweils bestimmte Faktoren (z.B. Lückengene) während der Verweildauer dieser Segmente in der Wachstumszone zu regulieren, oder lediglich posteriore Strukturen wie in *Drosophila* zu definieren (Moreno und Morata, 1999). Da diese späte Expression von *caudal* in allen Arthropoden sehr ähnlich ist, ist die Aussage, die man treffen kann, darauf reduziert, dass Expression und Funktion in diesen Stadien essentiell und konserviert zu sein scheinen. Zusätzlich ist eine posteriore Funktion von *caudal* auch in Vertebraten gezeigt worden (z.B. Lohnes, 2003), was vermuten läßt, dass die Funktion des ParaHox-Gens *caudal* ähnlich hochkonserviert ist, wie die der Hox-Gene (siehe Kapitel 4.1 der Diskussion).

In *Glomeris* ist bisher noch nicht untersucht worden, ob *caudal* wie in Insekten maternal (Macdonald und Struhl, 1986; Mlodzik und Gehring, 1987; Schulz et al., 1998; Dearden und Akam, 2001; Xu et al., 1994) und in sehr jungen Stadien exprimiert ist. Expression im Stadium 0.5 läßt erkennen, dass *caudal* zu diesem Zeitpunkt nicht auf die Wachstumszone reduziert ist, sondern (wenn auch sehr schwach) in den posterioren Segmenten der Regio Germinalis exprimiert ist. Dies könnte Überbleibsel einer früheren starken Expression im hinteren Teil des Blastoderms sein, ähnlich wie dies in *Tribolium* und *Schistocerca* der Fall ist (Dearden und Akam, 2001; Schulz et al., 1998). Es scheint in Insekten eine negative Regulation der *caudal* Transkription durch *hunchback* vorzuliegen, da *caudal* meist nur dort exprimiert ist, wo *hunchback* nur schwach oder gar nicht aktiv ist (Schulz und Tautz, 1995; Schulz et al., 1998; Dearden und Akam, 2001). Dies könnte auch für *Glomeris* zutreffen, da im Stadium 0.5 *caudal* genau dort stark exprimiert ist, wo *hunchback* Transkripte fehlen (Vgl. Abb. 3.67D mit Abb. 3.36A). Dies korrespondiert auch mit den Expressionsprofilen in älteren Stadien, wo *caudal* im posterioren Bereich der Wachstumszone, *hunchback* jedoch lediglich in einem anterioren Streifen in der Wachstumszone, exprimiert ist (Vgl. Abb. 3.67C/ mit Abb. 3.67I, Stern). Ein anteriorer *caudal*-Streifen in *Glomeris* erinnert an ein ähnliches Expressionsprofil in *Drosophila* und *Tribolium*. Für diesen Aspekt der *caudal* Expression konnte gezeigt werden, dass er durch *hunchback* nicht reprimiert wird (Schulz und Tautz, 1995).

### 4.7 Stellt die Segmentierung der Regio Germinalis ein ursprüngliches System dar?

Wenn man sich die generell unterschiedliche Etablierung der Segmente in den „Langkeimern“ und „Kurzkeimern“ vor Augen führt, dann wird leicht ersichtlich, dass sich hieraus auch auf molekularer Ebene Unterschiede ergeben müssen. Eine Idee ist, dass solche Abweichungen nicht für solche Segmente zutreffen müssten, die dem Blastoderm entstammen, da die Segmente hier, ähnlich wie in „Langkeimern“ nahezu gleichzeitig etabliert werden (z.B. Cohen und Jürgens, 1991). Deshalb ist die Expression der aus *Drosophila* bekannten Segmentierungsgene in der Regio Germinalis untersucht worden. Sollten die Interaktion der Segmentierungsgene hier wie in *Drosophila* sein, dann könnte man daraus schlussfolgern, dass es sich bei der Segmentierung der Regio Germinalis um ein ursprüngliches System handelt, welches für die Segmentierung des Blastoderms in *Drosophila* übernommen worden sein könnte.

Wie bereits im Kapitel 4.3 erläutert trifft dies im Fall der Paarregelgen Orthologen allenfalls für das *Glomeris* Gen *pairberry-1* zu, da allein dieses in einem zu *Drosophila* vergleichbaren Paarregelmuster exprimiert ist.

Die konservierte Expression von *hunchback* und *orthodenticle* und die besondere Funktion von *bicoid* in „Langkeimern“ ist bereits im vorhergegangenen Kapitel besprochen worden (Kap. 4.5).

Ist aber auch die Expression anderer anteriorer Lückengene zwischen *Drosophila* und *Glomeris* konserviert?

Das Gen *tailless* fungiert in *Drosophila* als Komponente des terminalen Systems, dem die Ausbildung anteriorer und posteriorer terminaler Strukturen obliegt (Strecker et al., 1986; Strecker und Lengyel, 1988). Entsprechend ist es im Blastodermstadium an beiden Enden des Embryos exprimiert (Pignoni et al., 1990). In *Tribolium* ist diese Funktion wahrscheinlich weitgehend verloren gegangen. Posteriore Expression im Blastodermstadium wird mit einer möglichen Festlegung spezifischer Zellen, die terminale Strukturen ausbilden, in Verbindung gebracht (Schröder et al., 2000). In *Glomeris* ist keine posteriore Expression von *tailless* vorhanden, woraus sich schließen läßt, dass hier wohl keine Funktion in der

## Kapitel 4: Diskussion

---

Festlegung posteriorer terminaler Strukturen vorliegt. Da desweiteren eine frühe anteriore Expression sowohl in *Tribolium* als auch in *Glomeris* fehlt, ist anzunehmen, dass die Funktion von *tailless* als terminaler Faktor erst schrittweise in höheren Insekten entstanden ist. Die ursprüngliche Funktion von *tailless* scheint die Differenzierung des Gehirns zu sein, da sowohl in *Drosophila* und *Tribolium* als auch in *Glomeris* und *Cupiennius* ein konserviertes komplexes Expressionsprofil in diesem vorliegt (Abb. 3.83/3.84) (z.B. Rudolph et al., 1997; Pignoni et al., 1990; Schröder et al., 2000).

Wichtige, für die Segmentierung des *Drosophila* Kopfs benötigte Lückengene sind neben *orthodenticle* noch *buttonhead* und *empty spiracles* (Cohen und Jürgens, 1990 und 1991). Die Expression dieser Gene ist um jeweils ein Segment versetzt, woraus geschlossen wurde, dass sie in einem kombinatorischen System direkt für die Differenzierung cephaler Segmente sorgen könnten (Cohen und Jürgen, 1990 und 1991). Obwohl die Idee der kombinatorischen Wirkungsweise auf Grund späterer Studien teilweise aufgegeben werden musste (Wimmer et al., 1997), sollte man in *Glomeris* erwarten, dass die Expressionsprofile dieser Gene weitgehend übereinstimmen. Um so überraschender ist die Tatsache, dass keine eindeutigen Orthologe von *empty spiracles* und *buttonhead* isoliert werden konnten (Kap. 3.5.22 und 3.5.23) und die Expressionsmuster der nächstverwandten isolierten *Glomeris* Gene (*Gm-E4/E5* und *Gm-SPI*) nicht im Einklang mit der Funktion von Kopf-Lückengenen stehen (nicht gezeigt). Die phylogenetische Analyse der *empty spiracles* und *buttonhead* Gene bzw. deren nächste Verwandte scheint das Fehlen funktioneller Orthologe in *Glomeris* zu bestätigen. Da das *Glomeris* Gen *Gm-E4/E5* an der Basis der Gene *empty spiracles* (*E4*) und *E5* von *Drosophila* und *Anopheles* steht, könnte dies bedeuten, dass in *Glomeris* nur ein ursprünglicheres Gen existiert. In Dipteren ist dieses dupliziert worden (sie liegen direkt nebeneinander im Chromosom (3R)), wobei dann zumindest ein Paralog (*ems*) in *Drosophila* die Funktion als Kopf-Lückengen übernommen hat. Da auch in *Anopheles* zwei Paraloge vorliegen, wäre es in diesem Zusammenhang interessant, die Funktion beider Gene in *Drosophila* und *Anopheles* zu erforschen, um so festzustellen, ob zumindest in Dipteren ein funktionelles *empty spiracles* Ortholog vorliegt, und ob die Funktion des zweiten Paralogs in *Drosophila* (*E5*) und *Anopheles* die gleiche sein könnte wie die von *Gm-E4/E5*. Im Fall von *Drosophila buttonhead* ist dessen Sequenz so abgeleitet (Länge des Astes im phylogenetischen Baum), dass eine ebenfalls abgeleitete Funktion angenommen werden kann. Untersuchungen eines möglichen *Anopheles* Orthologs (*Ag22566*) könnte klären, ob

## Kapitel 4: Diskussion

---

die Funktion in Dipteren konserviert ist. Sowohl für *empty spiracles* als auch für *buttonhead* scheint es folglich möglich zu sein, dass funktionelle Orthologe in *Glomeris* oder außerhalb von *Drosophila* (oder der Dipteren) fehlen.

Das anscheinende Fehlen der Funktion wichtiger cephaler Faktoren könnte mit dem Fehlen von *bicoid* einhergehen, da diese Gene in *Drosophila* von *bicoid* reguliert werden (Cohen und Jürgens, 1991). Die Funktion von *bicoid* jedoch könnte in „Kurzkeimern“ durch *orthodenticle* und *hunchback* ersetzt worden sein (siehe Kap. 4.5). In diesem Fall könnten entweder andere (unbekannte) Faktoren durch *hb* und *otd* reguliert werden, die dann allerdings auch die Zielgene der primären Kopf-Lückengene *ems* und *btd* regulieren müssten, oder *otd* und *hb* regulieren direkt die sekundären Kopf-Lückengene. Um dies zu überprüfen ist das Vorhandensein und die Expression der als sekundäre Kopf-Lückengene geltenden Faktoren *collier* und *cap'n'collar* überprüft worden (Crozatier et al., 1996 und 1999; Mohler et al., 1991 und 1995). Da beide Gene ein konserviertes Expressionsprofil im Kopf von *Glomeris* zeigen (Abb.3.87 und 3.90), scheint zumindest diese Ebene in der Kopfsegmentierung ursprünglich für Arthropoden zu sein. Bei einem Ausfall von *cnc* entwickeln sich in *Drosophila* Strukturen des Maxillar- anstatt des Mandibularsegments. Diese homöotische Funktion liegt darin begründet, dass *cnc* im Mandibularsegment bestimmte Zielgene von *Deformed* reprimiert (Mohler et al, 1995). Da *cap'n'collar* im Mandibularsegment von *Glomeris* das gleiche Expressionsmuster zeigt wie *Deformed*, könnte eine solche Funktion folglich auch in *Glomeris* vorliegen, was ein weiterer Hinweis auf konservierte Verhältnisse darstellen würde (Abb. 3.26/3.27). Ein weiteres *Drosophila* Gen, das homöotische Funktion im Kopf besitzt, ist *crocodile* (*croc*). In *Drosophila* unterliegt *croc* der direkten Kontrolle maternaler Faktoren (z.B. *bcd*), während im mutanten Hintergrund die Expression der terminalen und präcephalen Lückengene (z.B. *tll* und *otd*) nicht beeinträchtigt ist (Häcker et al., 1995). Es ist in den Anlagen des posterioren Clypeolabrum exprimiert und Mutationen führen zu Defekten des Pharynx (Häcker et al., 1995). Dies wird in *Drosophila* zwei getrennten Expressionsprofilen, einem frühen transienten im Clypeolabrum und einem späteren in den Bereichen des Pharynx zugeschrieben. Ein sehr ähnliches Expressionsmuster ist in *Glomeris* zu beobachten, obwohl die Ausprägung dieses Gens sehr schwach ist, sodass in situ Färbungen nur schwer zu dokumentieren sind (Kap. 3.5.19). Das zu beobachtende Expressionsprofil liegt am

anterioren Pol zwischen den sich entwickelnden Augenlappen und könnte mit den Bereichen des posterioren Clypeolabrum in *Drosophila* homolog sein (Abb. 3.93A/B). Zu diesem Zeitpunkt besteht zwischen den *croc* positiven Zellen und dem Prämandibularsegment noch keinerlei Verbindung (Abb. 3.93A/B). Daraus kann man schlussfolgern, dass die pharyngeale Muskulatur, die *croc* exprimiert, nicht Derivat des Interkalar- bzw. Prämandibularsegments, wie für *Drosophila* beschrieben, sondern vom anterioren Pol des Embryos stammt. Auf die morphologische Verschiebung des Antennensegments nach ventral ist es zurückzuführen, dass die *crocodile* positiven Zellen vom anterioren Pol in die räumliche Nähe zum Interkalarsegment kommen. Unterstützt wird diese Annahme durch die Expression von *forkhead*. Dieses Gen ist für die Ausbildung von Prokto- und Stomodäum in Insekten verantwortlich. Die Zellen, die *forkhead* exprimieren, invaginieren und bilden Teile des Darms (Weigel et al., 1989; Schröder et al., 2000). Diese Aufgabe scheint auch in *Glomeris* erhalten zu sein (Abb. 3.95). Die *forkhead* exprimierenden Zellen des Stomodäums aber liegen anfänglich ebenfalls deutlich vor dem Antennensegment, so dass sie deutlich vom Interkalarsegment getrennt sind. Zusätzlich umgeben die *crocodile* exprimierenden Zellen die *forkhead* Expressionsdomäne kreisförmig (vgl. Abb. 3.93 mit Abb. 3.95). Daher ist die Annahme, es handele sich bei den *crocodile* positiven pharyngealen Strukturen um Derivate des Interkalarsegments (Häcker et al., 1995) eventuell falsch. Die Expression von *crocodile* ist wahrscheinlich zwischen *Drosophila* und *Glomeris* konserviert.

Abschließend läßt sich vermuten, dass die Zielgene der primären Kopf-Lückengene (*otd*, *btd* und *ems*) in *Glomeris* ähnliche Funktion innehaben wie in *Drosophila*. Daher scheint das mögliche Fehlen von *buttonhead* und *empty spiracles* als mögliche Konsequenz des Fehlens von *bicoid* keinen Einfluss auf deren Zielgene zu haben. Daraus ist zu folgern, dass *otd* und *hb* (bzw. bisher unbekannte Faktoren) für die gleiche Regulation der Zielgene (*col*, *cnc*, *croc*) sorgen.

Die Ausprägung solcher Faktoren, die für die Bildung des Kopfs verantwortlich sind, scheint zwischen *Drosophila* und ursprünglicheren Arthropoden, trotz mancher Unterschiede, prinzipiell konserviert zu sein. Die Annahme, dass solche Systeme, die die Segmentierung der Regio Germinalis regulieren, die gleichen sind, die für die Segmentierung des *Drosophila* Blastoderms zuständig sind, lässt sich nicht bestätigen, da weder auf Ebene der Paarregulogene noch der Lückengene eine direkte Übereinstimmung zu finden ist. Allerdings

könnte die Segmentierung des Kopfs in allen Arthropoden (bis auf einzelne Gesichtspunkte) generell konserviert sein, da gleiche Faktoren in *Glomeris* und *Drosophila* beteiligt sind.

### 4.8 Segmentierung: Homologie oder Analogie?

Hinsichtlich der Fragestellung, welche Ebenen der *Drosophila* Segmentierungskaskade in „Kurzkeimern“ konserviert sind, unterstützen die Daten aus *Glomeris* die Erkenntnis, dass dies für die Funktion der Segmentpolaritäts- und Hox-Gene zutrifft.

Die Ebenen der Paarregel- und Lückengene sind auf Grund der Umstellung vom „Kurz“- zum „Langkeimer“ weniger deutlich erhalten, obwohl die orthologen Gene beider Ebenen in beiden Systemen eine Rolle spielen. Ob es aber einen Paarregelmechanismus gibt, der ursprünglich für Arthropoden ist, bleibt fraglich. Genauso ist nicht geklärt, welchen Einfluss die Umstellung von „Kurz“- zu „Langkeimern“ auf das System der Lückengene hatte. Die Homologie der Segmentierung aller Arthropoden ist aber wenig zweifelhaft.

Innerhalb der Arthropoden scheinen mir die Fakten, die für eine Gruppe der Mandibulata sprechen (Besitz von Mandibeln; Aufbau der Ommatidien; Häutungsdrüse; biochemische Eigenschaften) (zusammengefasst in Westheide und Rieger, 1996), überzeugender als solche, die für eine Gruppe der Myriochelata sprechen (DNA-Sequenzdaten; Arrangement der tRNA im mitochondrialen Genom) (Hwang et al., 2001; Boore et al., 1998). Wobei dies natürlich eine „Glaubensfrage“ darstellt. Vertraut man morphologischen Synapomorphien oder der Sequenzanalyse? Der umfassende Vergleich von Expressionsdaten, wie sie Grundlage dieser Arbeit ist, scheitert oft daran, dass gerade frühe Entwicklungsstadien schwer zugänglich für die *in situ* Technik sind (Crustacea, Chelicerata) und sich spätere Entwicklungsstadien in allen Klassen der Arthropoden („phylotypic state“) generell sehr ähnlich sind (z.B. Tautz und Schmid, 1998).

Da die Segmentierung der „Kurzkeimer“ der ursprüngliche Modus sein dürfte, muss man Erkenntnisse, die man aus diesen gewonnen hat, mit den Mechanismen der Segmentierung in anderen segmentierten Phyla vergleichen, um eventuell über Homologie oder Analogie entsprechender Segmentierungsmechanismen entscheiden zu können. Das Vorhandensein gleicher genetischer Faktoren (Gene) bzw. deren Regulation und Interaktion kann Auskunft darüber erteilen, ob die Segmentierung in Arthropoden, Anneliden und Vertebraten auf

## **Kapitel 4: Diskussion**

---

einen gemeinsamen Ursprung zurück zu führen sein könnte. In diesem Zusammenhang ist es entscheidend, zwischen Homologie und Analogie (bzw. Homokratie) unterscheiden zu können. Man sollte nicht voreilig die Segmentierung aller segmentierter Phyla auf einen gemeinsamen Ursprung zurückführen, wenn diese Annahme auf dem Vorhandensein einzelner molekularer Marker oder Genkaskaden beruht, da es sich dabei leicht um Homokratie und nicht zwangsläufig um Homologie handelt. Ein Beispiel aus dieser Arbeit ist die Rekrutierung von *engrailed* und *hedgehog* zur Etablierung der Tergitgrenzen. Obwohl hier z.T. gleiche molekulare Faktoren zur Festlegung einer Zellgrenze benötigt werden, ist diese Grenze nicht homolog zur ventralen oder dorsalen Segmentgrenze. Ebenso könnte es sich für die Segmentierung allgemein verhalten. Obwohl manche Faktoren in die Segmentierung sowohl der Arthropoden, als auch der Anneliden und Vertebraten involviert sind, läßt sich erst mit Sicherheit sagen, dass der Ursprung der Segmentierung der gleiche ist, wenn eine Vielzahl dieser Faktoren bzw. deren Interaktionen konserviert ist. Bis dahin läßt die Verschiedenheit der Segmentierung (auf morphologischer Ebene) in Arthropoden, Anneliden und Vertebraten (siehe Einleitung) auch die Vermutung zu, dass die Segmentierung als erfolgreicher Mechanismus der Evolution unabhängig in diesen Phyla entstanden sein könnte. Insgesamt ist meines Erachtens die Datenlage noch immer zu ungenügend, um deutlich Stellung für eine Homologie oder Analogie der Segmentierung beziehen zu können.

## **5. Literaturverzeichnis**

Aguinaldo, A.M., Turbeville, J.M., Linford, L.S., Revera, M.C., Garey, J.R., Raff, R.A., Lake, J.A., 1997. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature*, 387, 489-93.

Akiyama-Oda, Y., Oda, H., 2003. Early patterning of the spider embryo: a cluster of mesenchymal cells at the cumulus produces *Dpp* signals received by germ disc epithelial cells. *Development*, 130, 1735-47.

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. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389-402.

Azzaria, M., Goszczynski, B., Chung M.A., Kalb, J.M., McGhee, J.D., 1996. A *fork head* /*HNF-3* homolog expressed in the pharynx and intestine of the *Caenorhabditis elegans* embryo. *Dev. Biol.*, 178, 289-303.

Baron, M., Aslam, H., Flasz, M., Fostier, M., Higgs, S.L., Wilkin, M.B., 2002. Multiple levels of *Notch* signal regulation. *Mol. Memb. Biol.*, 19, 27-38.

Bate, M., Marines Arias, A., 1993. The development of *Drosophila melanogaster*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Volume 1.

Baumgartner, S., Noll, M., 1990. Network of interactions among pair-rule genes regulating paired expression during primordial segmentation of *Drosophila*. *Mech. Dev.*, 33, 1-18.

Beermann, A., Aranda, M., Schröder, R., 2004. The *Sp8* zinc-finger transcription factor is involved in allometric growth of the limbs in the beetle *Tribolium castaneum*. *Development*, 131, 733-42.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Bessho, Y., Kageyama, R., 2003. Oscillations, clocks and segmentation. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 13, 379-84

Boore, J.L., Lavrov, D.V., Brown, W.M., 1998. Gene translocation links insects and crustaceans. *Nature*, 392, 667-8.

Brooke, N.M, Garcia-Fernandez, J., Holland, P.W.H., 1998. The ParaHox gene cluster is an evolutionary sister of the Hox gene cluster. *Nature*, 392, 920-2.

Brown, S.J., Parrish, J.K., Beeman, R.W., Denell, R.E., 1997. Molecular characterization and embryonic expression of the *even-skipped* ortholog of *Tribolium castaneum*. *Mech. Dev.*, 61, 165-73.

Bucher, G., Scholten, J., Klingler, M., 2002. Parental RNAi in *Tribolium* (Coleoptera). *Curr. Biol.*, 12, R85-6.

Bucher, G., 2002. Doktorarbeit. The evolution of gap gene orthologues. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Bucher, G., Klingler, M., 2004. Divergent segmentation mechanism in the short germ insect *Tribolium* revealed by *giant* expression and function. *Development*, 131, 1729-40.

Bullock, S.L., Stauber, M., Prell, A., Hughes, J.R., Ish-Horowicz, D., Schmidt-Ott, U., 2004. Differential cytoplasmic mRNA localisation adjusts pair-rule transcription factor activity to cytoarchitecture in dipteran evolution. *Development*, 131, 4251-61.

Burke, A.C., Nelson, C.E., Morgan, B.A., Tabin, C., 1995. Hox genes and the evolution of vertebrate axis morphology. *Development*, 121, 333-46.

Capovilla, M., Eldon, E.D., Pirrotta, V., 1992. The *giant* gene of *Drosophila* encodes a b-ZIP DNA-binding protein that regulates the expression of other segmentation gap genes. *Development*, 114, 99-112.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Chang, J.Y., Kwong, M., Lu, R., Chang, J., Wang, B., Yen, T.S., Kan, Y.W., 1998. Targeted disruption of the ubiquitous CNC-bZIP transcription factor, *Nrf-1*, results in anemia and embryonic lethality in mice. *EMBO J.*, 17, 1779-87.

Chipman, A.D., Arthur, W., Akam, M., 2004a. Early development and segment formation in the centipede, *Strigamia maritima* (Geophilomorpha). *Evol. Dev.*, 6, 78-89.

Chipman, A.D., Arthur, W., Akam, M., 2004b. A double segment periodicity underlies segment generation in centipede development. *Curr. Biol.*, 14, 1250-5.

Cisne, J.L., 1974. Trilobites and the evolution of arthropods. *Science*, 186, 3-18.

Cohen, S.M., Jürgens, G., 1990. Mediation of *Drosophila* head development by gap-like segmentation genes. *Nature*, 346, 482-5.

Cohen, S., Jürgens, G., 1991. *Drosophila* headlines. *Trends. Genet.*, 7, 267-72.

Cook, C.E., Smith, M.L., Telford, M.J., Bastianello, A., Akam, M., 2001. Hox genes and the phylogeny of the arthropods. *Curr. Biol.*, 15, 759-63.

Copf, T., Rabet, N., Celniker, S.E., Averof, M., 2003. Posterior patterning genes and the identification of a unique body region in the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Development*, 130, 5915-27.

Crozatier, M., Valle, D., Dubouis, L., Ibsouda, S., Vincent, A., 1996. *collier*, a novel regulator of *Drosophila* head development, is expressed in a single mitotic domain. *Curr. Biol.*, 6, 707-16.

Crozatier, M., Valle, D., Dubois, L., Ibsouda, S., Vincent, A., 1999. Head versus trunk patterning in the *Drosophila* embryo; *collier* requirement for formation of the intercalary segment. *Development*, 126, 4385-94.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Dalton, D., Chadwick, R., McGinnis, W., 1989. Expression and embryonic function of *empty spiracles*: a *Drosophila* homeo box gene with two patterning functions on the anterior-posterior axis of the embryo. *Genes Dev.*, 3, 1940-56.

Damen, W.G.M., Hausdorf, M., Seyfarth, E.A., Tautz, D., 1998. A conserved mode of head segmentation in arthropods revealed by the expression pattern of Hox genes in a spider. *Proc. Natl. Acad. USA*, 95, 10665-70.

Damen, W.G.M., Tautz, D., 1999a. Comparative molecular embryology of arthropods: the expression of Hox genes in the spider *Cupiennius salei*. *Invert. Repr. Dev.*, 36, 203-9.

Damen, W.G.M., Tautz, D., 1999b. *Abdominal-B* expression in a spider suggests a general role for *Abdominal-B* in specifying the genital structure. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, 285, 85-91.

Damen, W.G.M., Weller, M., Tautz, D., 2000. The expression patterns of *hairy*, *even-skipped*, and *runt* in the spider *Cupiennius salei* imply that these genes were segmentation genes in a basal arthropod. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 4515-9.

Damen, W.G.M., 2002a. Parasegmental organization of the spider embryo implies that the parasegment is an evolutionary conserved entity in arthropod embryogenesis. *Development*, 129, 1239-50.

Damen, W.G.M., 2002b. *fushi tarazu*: a Hox gene changes its role. *Bioessays*, 24, 992-5.

Davis, G.K., Patel, N.H., 1999. The origin and evolution of segmentation. *Trends. Cell Biol.*, 9, M68-72.

Davis, G.K., Jaramillo, C.A., Patel, N.H., 2001. Pax group III genes and the evolution of insect pair-rule patterning. *Development*, 128, 3445-58.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Davis, G.K., Patel, N.H., 2002. Short, long, and beyond: molecular and embryological approaches to insect segmentation. *Annu. Rev. Entomol.*, 47, 669-99.

Dawes, R., Dawson, I., Falciani, F., Tear, G., Akam, M., 1994. *Dax*, a locust Hox gene related to *fushi-tarazu* but showing no pair-rule expression. *Development*, 120, 1561-72.

Dearden, P.K., Akam, M., 2001. Early embryo patterning in the grasshopper, *Schistocerca gregaria*: *wingless*, *decapentaplegic* and *caudal* expression. *Development*, 128, 3435-44.

Dearden, P.K., Donly, C., Grbic, M., 2002. Expression of pair-rule gene homologues in a chelicerate: early patterning of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Development*, 129, 5461-72.

Detera-Wadleigh, S.D., Fanning, T.G., 1994. Phylogeny of the steroid receptor superfamily. *Mol. Phyl. Evol.*, 3, 192-205.

DiNardo, S., Kuner, J.M., Theis, J., O'Farrell, P.H., 1985. Development of embryonic pattern in *D. melanogaster* as revealed by accumulation of the nuclear *engrailed* protein. *Cell*, 43, 59-69.

Dohle, W., 1964. Die Embryonalentwicklung von *Glomeris marginata* (Villers) im Vergleich zur Entwicklung anderer Diplopoden. *Zool. Jb. Anat.*, 81, 241-310.

Dohle, W., 1974. The segmentation of the germ band of Diplopoda compared with other classes of arthropods. *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 32, 143-61.

Dohle, W., 1996. Progoneata. In: Westheide, W., Rieger, R. (eds.) *Spezielle Zoologie, Teil 1, Einzeller und Wirbellose Tiere*. Pp. 592-600.

Dove, H., Stollewerk, A., 2003. Comparative analysis of neurogenesis in the myriapod *Glomeris marginata* (Diplopoda) suggests more similarities to chelicerates than to insects. *Development*, 130, 2161-71.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Dubrulle, J., McGrew, M.J., Pourquie, O., 2001. FGF signaling controls somite boundary position and regulates segmentation clock control of spatiotemporal Hox gene activation. *Cell*, 106, 219-32.

Dubrulle, J., Pourquie, O., 2002. From head to tail: links between the segmentation clock and antero-posterior patterning of the embryo. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 12, 519-23.

Emerson, M.J., Schram, F.R., 1990. The origin of crustacean biramous appendages and the evolution of Arthropoda. *Science*, 250, 667-9.

Finkelstein, R., Perrimon, N., 1990. The *orthodenticle* gene is regulated by *bicoid* and *torso* and specifies *Drosophila* head development. *Nature*, 346, 385-8.

Finkelstein, R., Smouse, D., Capaci, T.M., Spradling, A.C., Perrimon, N., 1990. The *orthodenticle* gene encodes a novel homeo domain protein involved in the development of the *Drosophila* nervous system and ocellar visual structures. *Genes Dev.*, 4, 1516-27.

Finkelstein, R., Perrimon, N., 1991. The molecular genetics of head development in *Drosophila melanogaster*. *Development*, 112, 899-912.

Fire, A., Xu, S.Q., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E., Mello, C.C., 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 391, 806-11.

Fjose, A., McGinnis, W.J., Gehring, W.J., 1985. Isolation of a homeo box-containing gene from the *engrailed* region of *Drosophila* and the spatial distribution of its transcripts. *Nature*, 313, 284-9.

French, V., 2001. Insect segmentation. Genes, stripes and segments in "Hoppers". *Curr. Biol.*, 11, R910-3.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Friedrich, M., Tautz, D., 1995. Ribosomal DNA phylogeny of the major extant arthropod classes and the evolution of myriapods. *Nature*, 376, 165-7.

Galliot, B., de Vargas, C., Miller, D., 1999. Evolution of homeobox genes: Q50 *paired*-like genes founded the *paired* class. *Dev. Genes Evol.*, 209, 186-97.

Giribet, G., Edgecombe, G.D., Wheeler, W.C., 2001. Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology. *Nature*, 413, 157-60.

Gonnet, G.H., Cohen, M.A., Brenner, S.A., 1992. Exhaustive matching of the entire protein sequence database. *Science*, 256, 1443-45.

Grenier, J.K, Garber, T.L., Warren, R., Whittington, P.M., Carroll, S., 1997. Evolution of the entire arthropod Hox gene set predated the origin and radiation of the onychophoran/arthropod clade. *Curr. Biol.*, 7, 547-553.

Häcker, U., Kaufmann, E., Hartmann, C., Jürgens, G., Knöchel, W., Jäckle, H., 1995. The *Drosophila* fork head domain protein *crocodile* is required for the establishment of head structures. *EMBO J.*, 14, 5306-17.

Hagman, J., Belanger, C., Travis, A., Turch, C.W., Grosschedl, R., 1993. Cloning and functional characterization of early B-cell factor, a regulator of lymphocyte-specific gene expression. *Genes Dev.*, 7, 760-73.

Hagman, J., Gutch, M.J., Lin, H., Grosschedl, R., 1995. *EBF* contains a novel zinc coordinating motif and multiple dimerization and transcriptional activation domains. *EMBO J.*, 14, 2907-16.

Hart, M.C., Wang, L., Coulter, D.E., 1996. Comparison of the structure and expression of *odd-skipped* and two related genes that encode a new family of zinc finger proteins in *Drosophila*. *Genetics*, 144, 171-82.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Hartmann, B., Reichert, H., Walldorf, U., 2001. Interaction of gap genes in the *Drosophila* head: *tailless* regulates expression of *empty spiracles* in early embryonic patterning and brain development. *Mech. Dev.*, 109, 161-72.

Heath, J., Bocoock, K.L., Mountford, M.D., 1974. The life history of the millipede *Glomeris marginata* (Villers) in north-west england. *Symp. zool. Soc. Lond.*, 32, 433-62.

Heemskerk, J., DiNardo, S., Kostriken, R., O'Farrell, P.H., 1991. Multiple modes of *engrailed* regulation in the progression toward cell fate determination. *Nature*, 352, 404-10.

Henikoff, S., Henikoff, J.G., 1992. Amino acid substitution matrices from protein blocks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 10915-9.

Hirth, F., Therianos, S., Loop, T., Gehring, W.J., Reichert, H., Furukubo-Tokunaga, K., 1995. Developmental defects in brain segmentation caused by mutations of the homeobox genes *orthodenticle* and *empty spiracles* in *Drosophila*. *Neuron*, 15, 769-78.

Hoch, M., Pankratz, M.J., 1996. Control of gut development by *fork head* and cell signaling molecules in *Drosophila*. *Mech. Dev.*, 58, 3-14.

Holland, L.Z., Kene, M., Williams, N.A., Holland, N.D., 1997. Sequence and embryonic expression of the amphioxus *engrailed* gene (*AmphiEn*): the metameric pattern of transcription resembles that of its segment-polarity homolog in *Drosophila*. *Development*, 124, 1723-32.

Holley, S.A., Geisler, R., Nüsslein-Volhard, C., 2000. Control of *her1* expression during zebrafish somitogenesis by a *Delta*-dependent oscillator and an independant wave-front activity. *Gen. Dev.*, 14, 1678-90.

Hughes, C.L., Kaufman, T.C., 2002a. Exploring the myriapod body plan: expression patterns of the ten Hox genes in a centipede. *Development*, 129, 1225-38.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Hughes, C.L., Kaufman, T.C., 2002b. Exploring myriapod segmentation: the expression patterns of *even-skipped*, *engrailed*, and *wingless* in a centipede. *Dev. Biol.*, 247, 47-61.

Hughes, C.L., Kaufman, T.C., 2002c. Hox genes and the evolution of the arthropod body plan. *Evol. Dev.* 4, 459-99.

Hwang, U.W., Friedrich, M., Tautz, D., Park, C.J., Kim, W., 2001. Mitochondrial protein phylogeny joins myriapods with chelicerates. *Nature*, 413, 154-7.

Ingham, P.W., 1988. The molecular genetics of embryonic pattern formation in *Drosophila*. *Nature*, 335, 25-34.

Inoue, Y., Niwa, N., Mito, T., Ohuchi, H., Yoshioka, H., Noji, S. 2002. Expression patterns of *hedgehog*, *wingless*, and *decapentaplegic* during gut formation of *Gryllus bimaculatus* (cricket). *Mech. Dev.*, 110, 245-8.

Irvine, S.Q., Martindale, M.Q., 1996. Cellular and molecular mechanisms of segmentation in annelids. *Cell&Dev. Biol.*, 7, 593-604.

Irvine, S.Q., Martindale, M.Q., 2000. Expression Patterns of Anterior Hox Genes in the Polychaete *Chaetopterus*: Correlation with Morphological Boundaries. *Dev. Biol.*, 217, 333-51.

Iwasa, J.H., Suver, D.W., Savage, R.M., 2000. The leech *hunchback* protein is expressed in the epithelium and CNS but not in the segmental precursor lineages. *Dev. Genes Evol.*, 210, 277-88.

Janssen, R., 2001. Diplomarbeit. Molekulare Analyse der Mesodermdifferenzierung und Segmentbildung der mittelamerikanischen Wanderspinnne *Cupiennius salei* (Ctenidae). Universität zu Köln.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Jaynes, J.B., O'Farrell, P.H., 1991. Active repression of transcription by the *engrailed* homeodomain gene. *EMBO J.*, 10, 1427-33.

Jefferies, R.P.S., 1986. *The Ancestry of the Vertebrates*. London: British Museum (Natural History).

Jokusch, E.L., Ober, K.A., 2000. Phylogenetic analysis of the *Wnt* gene family and discovery of an arthropod *Wnt-10* orthologue. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, 288, 105-19.

Kadner, D., Stollewerk, A., 2004. Neurogenesis in the chilopod *Lithobius forficatus* suggests more similarities to chelicerates than to insects. *Dev. Genes Evol.*, 214, 367-79.

Kadonaga, J.T., Carner, K.R., Masiarz, F.R., Tjian, R., 1987. Isolation of cDNA encoding transcription factor *Sp1* and functional analysis of the DNA binding domain. *Cell*, 51, 1079-90.

Kalb, J.M., Lau, K.K., Goszczynski, B., Fukushige, T., Moons, D., Okkema, P.G., McGhee, J.D., 1998. *pha-4* is *Ce-fkh-1*, a *fork head/HNF-3 $\alpha,\beta,\gamma$*  homolog that functions in organogenesis of the *C. elegans* pharynx. *Development*, 125, 2171-80.

Keys, D.N., Lewis, D.L., Selegue, J.E., Pearson, B.J., Goodrich, L.V., Johnson, R.L., Gates, J., Scott, M.P., Carroll, S.B., 1999. Recruitment of a *hedgehog* regulatory circuit in butterfly eyespot evolution. *Science*, 283, 532-4.

Knipple, D.C, Seifert, E., Rosenberg, U.B., Preiss, A., Jäckle, H., 1985. Spatial and temporal patterns of *Krüppel* gene expression in early *Drosophila* embryos. *Nature*, 317, 40-44.

Kornberg, T., Siden, I., O'Farrell, P., Simon, M., 1985. The *engrailed* locus of *Drosophila*: in situ localization of transcripts reveals compartment-specific expression. *Cell*, 40, 45-53.

Kraft, R., Jäckle, H., 1994. *Drosophila* mode of metamerization in the embryogenesis of the lepidopteran insect *Manduca sexta*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 6634-8.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Kraut, R., Levine, M., 1991b. Mutually repressive interactions between the gap genes *giant* and *Krüppel* define middle body regions of the *Drosophila* embryo. *Development*, 111, 611-21.

Kudrycki, K., Stein-Izsak, C., Behn, C., Grillo, M., Akeson, R., Margolis, F.L., 1993. *OLF-1*-binding site: characterization of an olfactory neuron-specific promoter motif. *Mol. Cell. Biol.*, 13, 3002-14.

Lans, D., Wedeen, C.J., Weisblat, D.A., 1993. Cell lineage analysis of the expression of an *engrailed* homolog in leech embryos. *Development*, 117, 857-71.

Lawrence, P.A., 1981. The cellular basis of segmentation in insects. *Cell*, 26, 3-10.

Li, Y., Brown, S.J., Hausdorf, B., Tautz, D., Denell, R.E., Finkelstein, R., 1996. The *orthodenticle*-related genes in the short-germ beetle *Tribolium castaneum*. *Dev. Genes Evol.*, 206, 35-45.

Liu, P.Z., Kaufman, T.C., 2004a. *hunchback* is required for suppression of abdominal identity, and for proper germband growth and segmentation in the intermediate germband insect *Oncopeltus fasciatus*. *Development*, 131, 1515-27.

Liu, P.Z., Kaufman, T.C., 2004b. *Krüppel* is a gap gene in the intermediate germband insect *Oncopeltus fasciatus* and is required for development of both blastoderm and germband-derived segments. *Development*, 131, 4567-79.

Liu, X., Kiss, I., Lengyel, J.A., 1999. Identification of genes controlling malpighian tubule and other epithelial morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 151, 685-95.

Llimargas, M., Lawrence, P.A., 2001. Seven *Wnt* homologues in *Drosophila*: a case study of the developing tracheae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 14487-92.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Löhr, U., Yussa, M., Pick, L., 2001. *Drosophila fushi tarazu*: a gene on the border of homeotic function. *Curr. Biol.*, 11, 1403-12.

Lohnes, D., 2003. The Cdx1 homeodomain protein: an integrator of posterior signaling in the mouse. *Bioessays*, 25, 971-80.

Macdonald, P.M., Struhl, G., 1986. A molecular gradient in early *Drosophila* embryos and its role in specifying the body pattern. *Nature*, 324, 537-45.

Maderspacher, F., Bucher, G., Klingler, M., 1998. Pair-rule and gap gene mutants in the flour beetle *Tribolium castaneum*. *Dev. Genes Evol.*, 208, 558-68.

Mann, R.S., und Chan, S-K., 1996. Extra specificity from *extradenticle*: the partnership between Hox and PBX/EXD homeodomain proteins. *Trends. Genet.*, 7, 258-62.

Minelli, A., 2001. A three-phase model of arthropod segmentation. *Dev. Genes Evol*, 211, 509-21.

Minguillon, C., Garcia-Fernandez, J., 2002. Genesis and evolution of the *Evx* and *Mox* genes and the extended Hox and ParaHox gene cluster. *Genome Biology*, 4, R12.

Mlodzik, M., Gehring, W.J., 1987. Expression of the *caudal* gene in the germ line of *Drosophila*: formation of an RNA and protein gradient during early embryogenesis. *Cell*, 48, 465-78.

Mohler, J., Vani, K., Leung, S., Epstein, A., 1991. Segmentally restricted, cephalic expression of a leucine zipper gene during *Drosophila* embryogenesis. *Mech. Dev.*, 34, 3-10.

Mohler, J., 1995. Spatial regulation of segment polarity gene expression in the anterior terminal region of the *Drosophila* blastoderm embryo. *Mech. Dev.*, 50, 151-61.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Mohler, J., Mahaffey, J.W., Deutsch, E., Vani, K., 1995. Control of *Drosophila* head segment identity by the bZIP homeotic gene *cnc*. *Development*, 121, 237-47.

Moore, A.W., Barbel, S., Jan, L.Y., Jan, Y.N., 2000. A genomewide survey of basic helix-loop-helix factors in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 10436-41.

Mouchel-Vielh, E., Blin, M., Rigolot, C., Deutsch, J.S., 2002. Expression of a homologue of the *fushi tarazu* (*ftz*) gene in a cirripede crustacean. *Evol. Dev.*, 4, 76-85.

Moreno, E., Morata, G., 1999. *Caudal* is the Hox gene that specifies the most posterior *Drosophila* segment. *Nature*, 400, 873-7.

Müller, M., v. Weizsäcker, E., Campos-Ortega, J.A., 1996. Expression domains of a zebrafish homologue of the *Drosophila* pair-rule gene *hairy* correspond to primordia of alternating somites. *Development*, 122, 2071-8.

Müller, P., Yanze, N., Schmid, V., Spring, J., 1999. The homeobox gene *otx* of the Jellyfish *Podocoryne carnea*: Role of a head gene in striated muscle and evolution. *Dev. Biol.*, 216, 582-94.

Nagy, L.M., Carroll, S., 1994. Conservation of *wingless* patterning functions in the short-germ embryos of *Tribolium castaneum*. *Nature*, 367, 460-3.

Pankratz, M.J., Hoch, M., 1995. Control of epithelial morphogenesis by cell signaling and integrin molecules in the *Drosophila* foregut. *Development*, 121, 1885-98.

Patel, N.H., Martin-Blanco, E., Coleman, K.G., Poole, S.J., Ellis, M.C., Kornberg, T.B., Goodman, C.S., 1989a. Expression of *engrailed* proteins in arthropods, annelids, and chordates. *Cell*, 58, 955-68.

Patel, N.H., Kornberg, T. B., Goodman, C.S., 1989b. Expression of *engrailed* during segmentation in the grasshopper and crayfish. *Development*, 107, 201-12.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Patel, N. H., 1994a. The evolution of arthropod segmentation: insight from comparisons of gene expression patterns. *Dev. Suppl.*, 201-7

Patel, N. H., 1994b. Developmental evolution: insight from studies of insect segmentation. *Science*, 266, 581-90.

Patel, N.H., Hayward, D.C., Lall, S., Pirkel, N.R., DiPietro, D., Ball, E.E., 2001. Grasshopper *hunchback* expression reveals conserved and novel aspects of axis formation and segmentation. *Development*, 128, 3459-72.

Peifer, M., und Wieschaus, E., 1990. Mutations in the *Drosophila* gene *extradenticle* affect the way specific homeo domain proteins regulate segmental identity. *Genes. Dev.*, 4, 1209-23.

Peterson, M.D., Popadic, A., Kaufman, T.C., 1998. The expression of two *engrailed*-related genes in an apterygote insect and a phylogenetic analysis of insect *engrailed*-related genes. *Dev. Genes Evol.*, 208, 547-57.

Pignoni, F., Baldarelli, R.M., Steingrimsson, E., Diaz, R.J., Patapoutian, A., Merriam, J.R., Lengyel, J.A., 1990. The *Drosophila* gene *tailless* is expressed at the embryonic termini and is a member of the steroid receptor superfamily. *Cell*, 62, 151-63.

Pollard, S.L., Holland, W.H., 2000. Evidence for 14 homeobox gene clusters in human genome ancestry. *Curr. Biol.*, 10, 1059-62.

Poole, S.J., Kauvar, L.M., Drees, B., Kornberg, T., 1985. The *engrailed* locus of *Drosophila*: structural analysis of an embryonic transcript. *Cell*, 40, 37-43.

Pourquiè, O., 1999. *Notch* around the clock. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 9, 559-65.

Pourquiè, O., 2001a. Vertebrate Somitogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 17, 311-50.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Pourquiè, O., 2001b. The vertebrate segmentation clock. *J. Anat.*, 199, 169-75.

Prud'homme, B., Lartillot, N., Balavoine, G., Adoutte, A., Vervoort, M., 2002. Phylogenetic analysis of the *Wnt* gene family. Insights from lophotrochozoan members. *Curr. Biol.*, 12, 1395-400.

Prud'homme, B., de Rosa, R., Arendt, D., Julien, J-F., Pajaziti, R., Dorresteijn, A.W.C., Adoutte, A., Wittbrodt, J., Balavoine, G., 2003. Arthropod-like expression patterns of *engrailed* and *wingless* in the annelid *Platynereis dumerilii* suggest a role in segment formation. *Curr. Biol.*, 13, 1876-81.

Rijsewijk, F., 1987. The *Drosophila* homolog of the mouse mammary oncogene *int-1* is identical to the segment polarity gene *wingless*. *Cell*, 50, 649-57.

Rogers, B.T., Kaufman, T.C., 1996. Structure of the insect head as revealed by the EN protein pattern in developing embryos. *Development*, 122, 3419-32.

Rohr, K.B., Tautz, D., Sander, K., 1999. Segmentation gene expression in the mothmidge *Clogmia albipunctata* (Diptera, Psycholidae) and other primitive dipterans. *Dev. Genes Evol.*, 209, 145-54.

Rosenberg, U.B., Preiss, A., Seifert, E., Jäckle, H., Knipple, D.C, 1986. Production of phenocopies by *Krüppel* antisense RNA infection into *Drosophila* embryos. *Nature*, 313, 703-6.

Rudolph, K.M., Liaw, G-J., Daniel, A., Green, P., Courey, A.J., Hartenstein, V., Lengyel, J.A., 1997. Complex regulatory region mediated *tailless* expression in early embryonic patterning and brain development. *Development*, 124, 4297-308.

Saga, Y., Takeda, H., 2001. The making of the somite: Molecular events in vertebrate segmentation. *Nature Reviews Genetics*, 2, 835-45.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. *Molecular Cloning*. 2. Ausgabe. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1-3.

Sambrook, J., Russell, D.W., 2001. *Molecular Cloning*. 3. Ausgabe. Cold Spring Harbor Press, 1-3.

Schmidt-Ott, U., Sander, K., Technau, G., 1994. Expression of *engrailed* in embryos of a beetle and five dipteran species with special reference to the terminal regions. *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 203, 298-303.

Scholtz, G., Patel N.H., Dohle, W., 1994. Serially homologous *engrailed* stripes are generated via different cell lineages in the germ band of amphipod crustaceans (Malacostraca, Peracarida). *Int. J. Dev. Biol.*, 38, 471-8.

Schoppmeier, M., Damen, W.G.M., 2001. Double-stranded RNA interference (RNAi) in the spider *Cupiennius salei*: the role of *Distal-less* is evolutionary conserved. *Dev. Genes Evol.*, 211, 76-82.

Schoppmeier, M., 2003. Doktorarbeit. Untersuchungen zu funktionell konservierten sowie divergenten Mechanismen des Segmentierungsprozesses der Arthropoden am Beispiel der Spinne *Cupiennius salei*. Universität zu Köln.

Schröder, R., Jay, D.G., Tautz, D., 1999. Elimination of *EVE* protein by CALI in the short germ band insect *Tribolium* suggests a conserved pair-rule function for *even skipped*. *Mech. Dev.*, 80, 191-5.

Schröder, R., Eckert, C., Wolff, C., Tautz, D., 2000. Conserved and divergent aspects of terminal patterning in the beetle *Tribolium castaneum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 6591-6.

Schröder, R., 2003. The genes *orthodenticle* and *hunchback* substitute for *bicoid* in the beetle *Tribolium*. *Nature*, 422, 621-5.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Schubert, M., Holland, L.Z., Holland, N.D., Jacobs, D.K., 2000. A phylogenetic tree of the *Wnt* genes based on all available full-length sequences, including five from the cephalochordate *Amphioxus*. *Mol. Biol. Evol.*, 17, 1896-903.

Schulz, C., Tautz, D., 1995. Zygotic *caudal* regulation by *hunchback* and its role in abdominal segment formation of the *Drosophila* embryo. *Development*, 121, 1023-8.

Schulz, C., Schröder, R., Hausdorf, B., Wolff, C., Tautz, D., 1998. A *caudal* homologue in the short germ band beetle *Tribolium* shows similarities to both, the *Drosophila* and the vertebrate *caudal* expression patterns. *Dev. Genes Evol.*, 208, 283-9.

Seaver, E.C., Shankland, M., 2001. Establishment of segment polarity in the ectoderm of the leech *Helobdella*. *Development*, 128, 1629-41.

Seaver, E.C., Paulson, D.A., Irvine, S.Q., Martindale, Q.M., 2001. The spatial and temporal expression of *Ch-en*, the *engrailed* gene in the polychaete *Chaetopterus*, does not support a role in body axis segmentation. *Dev. Biol.*, 236, 195-209.

Shain, D.H., Ramirez-Weber, F.A., Hsu, J., Weisblat, D.A., 1998. Gangliogenesis in leech: Morphogenic processes leading to segmentation in the central nervous system. *Dev. Genes Evol.*, 208, 28-36.

Shultz, J.W., Regier, J.C., 2000. Phylogenetic analysis of arthropods using two nuclear protein-encoding genes supports a crustacean + hexapod clade. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 267, 1011-9.

Siewing, R., 1963. Zum Problem der Arthropodenkopfssegmentierung. *Zool. Anz.*, 170, 429-68.

Simeone, A., Gulisano, M., Acampora, D., Stornaiuolo, A., Rambaldi, M., Boncinelli, E., 1992. Two vertebrate homeobox genes related to the *Drosophila empty spiracles* gene are expressed in the embryonic cerebral cortex. *EMBO J.*, 11, 2541-50.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Snodgrass, R.E., 1938. Evolution of Annelida, Onychophora and Arthropoda. *Smithson. Misc. Coll.*, 138, 1-77.

Sommer, R.J., Tautz, D., 1991. Segmentation gene expression in the housefly *Musca domestica*. *Development*, 113, 419-30.

Sommer, R.J., Tautz, D., 1993. Involvement of an orthologue of the *Drosophila* pair-rule gene *hairy* in segment formation of the short germ-band embryo of *Tribolium* (Coleoptera). *Nature*, 361, 448-50.

Song, H.M., Huang, F.Z., Chang, G.Y., Weisblat, D.A., 2002. Expression and function of an *even-skipped* homolog in the leech *Helobdella robusta*. *Development*, 129, 3681-92.

Song, H.M., Huang, F.Z., Gonsalves, F.C., Weisblat, D.A., 2004. Cell cycle-dependent expression of a *hairy* and *Enhancer of split (hes)* homolog during cleavage and segmentation in leech embryos. *Dev. Biol.*, 269, 183-95.

Stauber, M., Jäckle, H., Schmidt-Ott, U., 1999. The anterior determinant *bicoid* of *Drosophila* is a derived Hox class 3 gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 3786-9.

Stauber, M., Prell, A., Schmidt-Ott, U., 2002. A single *Hox3* gene with composite *bicoid* and *zerknüllt* expression characteristics in non-Cyclorrhaphan flies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 274-9.

Stollewerk, A., Schoppmeier, M., Damen, W.G.M., 2003. Involvement of *Notch* and *Delta* genes in spider segmentation. *Nature*, 423, 863-5.

Strecker, T.R., Kongsuwan, K., Lengyel, J.A., Merriam, J.R., 1986. The zygotic mutant *tailless* affects the anterior and posterior ectodermal regions of the *Drosophila* embryo. *Dev. Biol.*, 113, 64-76.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Strecker, T.R., Lengyel, J.A., 1988. Anterior-posterior pattern formation: an evolutionary perspective on genes specifying terminal domain. *Bioessays*, 9, 3-7.

Strimmer K., von Haeseler, A., 1996. Quartet Puzzling: A quartet maximum-likelihood method for reconstructing tree topologies. *Mol. Biol. Evol.*, 13, 964-9.

Sulston, I.A., Anderson, K.V., 1996. Embryonic patterning mutants in *Tribolium castaneum*. *Development*, 122, 805-14.

Swofford, D.L., 2002. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts

Tabata, T., Eaton, S., Kornberg, T.B., 1992. The *Drosophila hedgehog* gene is expressed specifically in posterior compartment cells and is a target of *engrailed* regulation. *Genes Dev.*, 6, 2635-45.

Takashima, S., Murakami, R., 2001. Regulation of pattern formation in the *Drosophila* hindgut by *wg*, *hh*, *dpp*, and *en*. *Mech. Dev.*, 101, 79-90.

Tautz, D., Lehmann, R., Schnürch, H., Schuh, R., Seifert, E., Kienlein, A., Jones, K., Jäckle, H., 1987. Finger protein of novel structure encoded by *hunchback*, a second member of the gap class of *Drosophila* segmentation genes. *Nature*, 327, 383-9.

Tautz, D., Schmid, K.J., 1998. From genes to individuals : developmental genes and the generation of the phenotype. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 358, 231-40.

Tautz, D., 2004. Segmentation. *Dev. Cell*, 7, 1-20.

Telford, M.J., Thomas, R.H., 1998a. Expression of homeobox genes shows chelicerate arthropods retain their deutocerebral segment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 10671-5.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Telford, M.J., Thomas, R.H., 1998b. Of mites and *zen*: expression studies in a chelicerate arthropod confirm *zen* is a divergent Hox gene. *Dev. Genes Evol.*, 208, 591-4.

Telford M.J., 2000. Evidence for the derivation of the *Drosophila fushi tarazu* gene from a Hox gene orthologous to lophotrochozoan *Lox5*. *Curr. Biol.*, 10, 349-52.

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25, 4876-82.

Tijsterman, M., Plasterk, H.A., 2002. Dicers at RISC: The mechanism of RNAi. *Cell*, 117, 1-3.

Walldorf, U., Gehring, W.J., 1992. *Empty spiracles*, a gap gene containing a homeobox involved in *Drosophila* head development. *EMBO J.*, 11, 2247-59.

Weber, H., 1952. Morphologie, Histologie und Entwicklungsgeschichte der Articulaten. *Fortschr. Zool.*, 9, 18-231.

Wedeen, C.J., Weisblat, D.A., 1991. Segmental expression of an *engrailed*-class gene during early development and neurogenesis in an annelid. *Development*, 113, 805-14.

Wedeen, C.J., Kostriken, R.G., Leach, D., Whittington, P., 1997. Segmentally iterated expression of an *engrailed*-class gene in the embryo of an Australian onychophoran. *Dev. Genes Evol.*, 207, 282-6.

Weigel, D., Jügens, G., Küttner, F., Seifert, E., Jäckle, H., 1989. The homeotic gene *fork head* encodes a nuclear protein and is expressed in the terminal regions of the *Drosophila* embryos. *Cell*, 57, 645-58.

Werbrock, A.H., Meiklejohn, A.S., Iwasa J.H., 2001. A Polychaete *hunchback* Ortholog. *Dev. Biol.*, 235, 476-88.

## Kapitel 5: Literatur

---

Westheide, W., Rieger, R., 1996. Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und Wirbellose. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Weygoldt, P., 1986. Arthropods interrelationships – The phylogenetic-systematic approach. Z. zool. Syst. Evol.-forsch., 24, 19-35.

Wieschaus, E., Nüsslein-Volhard, C., Kluding, H., 1984. *Krüppel*, a gene whose activity is required early in the zygotic genome for normal embryonic segmentation. Dev. Biol., 104, 172-86.

Wimmer, E.A., Jäckle, H., Pfeifle, C., Cohen, S.M., 1993. A *Drosophila* homologue of human *SPI* is a head-specific segmentation gene. Nature, 366, 690-4.

Wimmer, E.A., Frommer, G., Purnell, B.A., Jäckle, H., 1996. *buttonhead* and *D-Sp1*: a novel *Drosophila* gene pair. Mech. Dev., 59, 53-62.

Wimmer, E.A., Cohen, S.M., Jäckle, H., Desplan, C., 1997. *buttonhead* does not contribute to a combinatorial code proposed for *Drosophila* head development. Development, 124, 1509-17.

Wolff, C., Sommer, R., Schröder, R., Glaser, G., Tautz, D., 1995. Conserved and divergent expression aspects of the *Drosophila* segmentation gene *hunchback* in the short germ band embryo of the flour beetle *Tribolium*. Development, 121, 4227-36.

Wolff, C., Schröder, R., Schulz, C., Tautz, D., Klingler, M., 1998. Regulation of the *Tribolium* homologues of *caudal* and *hunchback* in *Drosophila*: evidence for maternal gradient systems in a short germ embryo. Development, 125, 3645-54.

Wolpert, L., 1998. Principles of development. Curr. Biol. LTD, London.

## **Kapitel 5: Literatur**

---

Xu, X., Xu, P-X., Suzuki, Y., 1994. A maternal homeobox gene, *Bombyx caudal* forms both mRNA and protein concentration gradients spanning anteroposterior axis during gastrulation. *Development*, 120, 277-85.

Xu, X., X.,P-X., Amanai, K., Suzuki, Y., 1997. Double-segment defining role of *even-skipped* homologs along the evolution of insect pattern formation. *Dev. Growth Differ.*, 39, 515-22.

## 6. Anhang

### 6.1 Einträge in die Datenbank

Datenbankeintrag: *Glomeris marginata*; engrailed homolog; AJ616904

(publizierter Teil der Sequenz)

LOCUS AJ616904 286 bp mRNA linear INV 29-MAR-2004  
DEFINITION *Glomeris marginata* partial mRNA for engrailed protein (en gene).  
ACCESSION AJ616904  
VERSION AJ616904.1 GI:45822212  
KEYWORDS en gene; engrailed protein.  
SOURCE *Glomeris marginata*  
ORGANISM *Glomeris marginata*  
Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Myriapoda; Diplopoda; Pentazonia;  
Glomerida; Glomeridae; *Glomeris*.  
REFERENCE 1  
AUTHORS Janssen,R., Prpic,N.M. and Damen,W.G.  
TITLE Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation  
in the millipede *Glomeris marginata* (Myriapoda: Diplopoda)  
JOURNAL Dev. Biol. 268 (1), 89-104 (2004)  
PUBMED 15031107  
REFERENCE 2 (bases 1 to 286)  
AUTHORS Janssen,R.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (08-DEC-2003) Janssen R., Evolutionary Genetics,  
Institute for Genetics, Weyertal 121, 50931 Koeln, GERMANY  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..286  
/organism="Glomeris marginata"  
/mol\_type="mRNA"  
/db\_xref="taxon:62006"  
gene 1..286  
/gene="en"  
CDS <1..>286  
/gene="en"  
/codon\_start=2  
/product="engrailed protein"

## Kapitel 6: Anhang

---

```
/protein_id="CAE83645.1"  
/db_xref="GI:45822213"  
/translation="RYSDRPSSGRSPRSRRRAKKKDKKPEEKRPRTAFTNEQLARLKKE  
FQENRYLTEKRRQDLARELKLNESQIKIWFQNKRAKIKKASQRNGLALHL"
```

### ORIGIN

```
1 gagatattct gacagccct cgtcaggtag gagtccccgt tctcgacgtg ccaagaagaa  
61 agacaagaag cctgaggaaa aacgaccag gacagctttc acaaacgagc aacttgccag  
121 actgaagaag gaatttcagg agaaccgta cctgaccgaa aagagacgtc aggatttggc  
181 tagagaactg aaactgaacg aatcgcatat caaatctgg ttccagaaca agagggccaa  
241 aatcaagaag gccagcggtc aaaggaacgg tctagcgttg cacctg
```

//

### Datenbankeintrag: *Glomeris marginata*; hedgehog homolog; AJ616905

```
LOCUS      AJ616905                1715 bp    mRNA    linear    INV 29-MAR-2004  
DEFINITION Glomeris marginata partial mRNA for hedgehog protein (hh gene).  
ACCESSION  AJ616905  
VERSION    AJ616905.1  GI:45822214  
KEYWORDS   hedgehog protein; hh gene.  
SOURCE     Glomeris marginata  
   ORGANISM Glomeris marginata  
             Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Myriapoda; Diplopoda; Pentazonia;  
             Glomerida; Glomeridae; Glomeris.  
REFERENCE  1  
   AUTHORS  Janssen,R., Prpic,N.M. and Damen,W.G.  
   TITLE    Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation  
             in the millipede Glomeris marginata (Myriapoda: Diplopoda)  
   JOURNAL  Dev. Biol. 268 (1), 89-104 (2004)  
   PUBMED   15031107  
REFERENCE  2 (bases 1 to 1715)  
   AUTHORS  Janssen,R.  
   TITLE    Direct Submission  
   JOURNAL  Submitted (08-DEC-2003) Janssen R., Evolutionary Genetics,  
             Institute for Genetics, Weyertal 121, 50931 Koeln, GERMANY  
FEATURES   Location/Qualifiers  
   source   1..1715  
             /organism="Glomeris marginata"  
             /mol_type="mRNA"  
             /db_xref="taxon:62006"  
   gene     1..1715  
             /gene="hh"  
   CDS      <1..1538  
             /gene="hh"
```

## Kapitel 6: Anhang

---

```
/codon_start=3
/product="hedgehog protein"
/protein_id="CAE83646.1"
/db_xref="GI:45822215"
/translation="ERPPGQVSKLDPLEYGTRCSEEKLNKKNKKKKKQKAKEHGESR
SELGIRIYGEDRRWPGAVAKLCRAGGGGGGGEVDILHMYSSVTMAKQEVLLAVVLL
VLVLSEAVLCCGPGRSAGRRRRRPRKLTPLVFKQHVPNVSENTLGASGLPEGRITRDDS
RFKELVPNYNTDIYFKDEEGTGADRLMTQRCKEKLNTLAISVMNQWPGVKLRVTEGWD
EDGHHSEESLHYEGRAVDITTSDDRDRSKYGMLARLAVEAGFDWVYYESRSHIHCSVKS
ESSPAAKSGGCFHGNSTVMTRRGAKLMSQVSIQDELLALSSDGSVPFSEVLLFLDRQ
PSSRRLFRVIETEGGHSTLTPTHLIYVAVGPGEQSEARYAEDVRPGRHRVFFVEDGHE
GLGQKKVSLRRVVRVTTREEDGGAFAPLTHQGNVIVNGVVTSCYAVVDDQSLAHWAF
PYRFVHYVRSTWPTMPKWLRLRWWSAEESSTSDSWQQNGVHWYASALYHISQFILPHR
LRA"
```

### ORIGIN

```
1 tcgagcggcc gcccgggcag gtctccaaac tggaccact agagtatgga actaggtgta
61 gtgaggagaa gctgaaggag aacaagaaga agaagaaga gaaacagaag gcaaaggagc
121 atggtgagag tcgctccgaa cttggaataa ggatctacgg agaagacgat cgacgatggc
181 caggtgctgt ggcaaagctg tgtagagcag gtggaggagg aggaggtgga ggagaagtag
241 acattcttca catgtacagt agtgtaacta tggcaaagca ggaggttttg cttgcggtgg
301 tgctcttggt gctggtgctg tccgaagcgg tgttgtgctg cggacctggc cggagtgctg
361 gccgcagaag aaggcccagg aagctgacac ctttgggtgt caagcaacac gtgccgaacg
421 tgtcagaaaa cactctgggt gccagtgggc tcccggaggg tagaatcact agagatgaca
481 gtcgtttcaa ggaactagtg ccaaactata atacggatat ctacttcaa gatgaggaag
541 gaaccggagc cgatcgcctc atgaccacgc gctgcaagga gaagctcaac actttggcca
601 tctccgtgat gaaccagtgg cccggagtga aactgcgggt caccgagggc tgggacgaag
661 atgccacca ctcagaggag tctctgcact acgagggccg cgcagtggac atcaccacgt
721 ctgaccgca ccgacgcaag tacggcatgc tggccaggct cccgctcga gcaggcttcg
781 actgggtcta ctacgaatct cgttcccata tccactgttc cgtaagtcg gaatcatctc
841 cagcagcga atcaggaggt tgtttccacg gtaacagcac tgtgatgact cgaaggggcg
901 gtgcaaaact catgtcccag gtgtccatcg gagacgaact tctagccctc tcctccgatg
961 gaagtccggt gttcagcga gtgctcctct tcctggacag gcaaccatcg tccaggaggc
1021 tcttccgggt catagagaca gaaggaggcc acagtgtgac tctcacgcc acacacctca
1081 tatacgtggc cgtgggcccc ggggaacaat ccgaagccag gtacgccgag gatgtcaggc
1141 ctggacaccg cgtgttcgtg gtggaagatg gacacgaggg acttgggcag aagaaagttt
1201 ctcttcggag ggttgttcga gtgactaaa gggaggaaga tggcggtgcc ttcgctcctc
1261 tcacccatca gggcaacgtt atagtgaacg gtgttgtagc ttcttgtagc gccgtagtag
1321 atgaccagag cctggcgcac tgggcatttg caccttacag gttcgtccat tacgtacggt
1381 ccacctggcc cacgatgcc aagtgtgtgt tgcggtggtg gtggtcagcg gaagaatcct
1441 cacttcgga ctcgtggcaa caaatggag tgcatggta cgcagcgcc ctctaccaca
1501 tcagccagtt cattttgccc catcgtttac gtgcctaact aaaaggactt caaagaggca
1561 gcatttcccc ttgaaatgca accaaaactt tttacaagga atacattggt tcgtggagtg
1621 tattataat aatgaaacgt agcgtgcaa tcgtcaaat aaacttccat catattatat
```

## Kapitel 6: Anhang

---

1681 gtcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

//

Datenbankeintrag: *Glomeris marginata*; *cubitus interruptus* homolog; AJ616906

LOCUS AJ616906 426 bp mRNA linear INV 29-MAR-2004  
DEFINITION *Glomeris marginata* partial mRNA for *cubitus interruptus* protein (ci gene).  
ACCESSION AJ616906  
VERSION AJ616906.1 GI:45822216  
KEYWORDS ci gene; *cubitus interruptus* protein.  
SOURCE *Glomeris marginata*  
ORGANISM *Glomeris marginata*  
Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Myriapoda; Diplopoda; Pentazonia; Glomerida; Glomeridae; *Glomeris*.  
REFERENCE 1  
AUTHORS Janssen,R., Prpic,N.M. and Damen,W.G.  
TITLE Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation in the millipede *Glomeris marginata* (Myriapoda: Diplopoda)  
JOURNAL Dev. Biol. 268 (1), 89-104 (2004)  
PUBMED 15031107  
REFERENCE 2 (bases 1 to 426)  
AUTHORS Janssen,R.  
TITLE Direct Submission  
JOURNAL Submitted (08-DEC-2003) Janssen R., Evolutionary Genetics, Institute for Genetics, Weyertal 121, 50931 Koeln, GERMANY  
FEATURES Location/Qualifiers  
source 1..426  
/organism="Glomeris marginata"  
/mol\_type="mRNA"  
/db\_xref="taxon:62006"  
gene 1..426  
/gene="ci"  
CDS <1..>426  
/gene="ci"  
/codon\_start=1  
/product="cubitus interruptus protein"  
/protein\_id="CAE83647.1"  
/db\_xref="GI:45822217"  
/translation="KGCAKEFNTQDELVKHINNDHIHTNKKSFVCRWKECSRDEKPFK  
AQYMLVVHMRRTGKPHKCTFEGCSKAYSRLLENLKTHLRSHTGKPYMCEFPGCTKA  
FSNASDRAKHQNRTHSNEKPYVCKAPGCTKRYTDPSSLRK"

## Kapitel 6: Anhang

---

### ORIGIN

```
1 aagggttgcg ccaaggagtt taacacccaa gatgaacttg tcaagcatat caacaacgac
61 cacatccaca cgaataagaa atcttttgtg tgtcggtgga aggaatgttc cagggatgag
121 aagccattca aagctcagta catgttggtg gtgcatatga ggaggcacac aggagaaaag
181 ccgcacaaat gcacattcga aggatgttca aaagcttatt ctagactgga aaacctgaaa
241 acgcatctta gatctcacac cggggaaaaa ccatatatgt gcgaatttcc tggttgcaca
301 aaggcgttca gcaatgcatc agatcgtgca aagcatcaaa acagaactca ttcgaacgaa
361 aaaccatatg tatgcaaagc acctggttgc acgaaacgct acaccgaccc aagttcgtaa
421 agaaag
```

//

### Datenbankeintrag: *Glomeris marginata*; wingless homolog; AJ616907

```
LOCUS      AJ616907                385 bp    mRNA    linear    INV 29-MAR-2004
DEFINITION Glomeris marginata partial mRNA for wingless protein (wg gene).
ACCESSION  AJ616907
VERSION    AJ616907.1  GI:45822218
KEYWORDS   wg gene; wingless protein.
SOURCE     Glomeris marginata
   ORGANISM Glomeris marginata
             Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Myriapoda; Diplopoda; Pentazonia;
             Glomerida; Glomeridae; Glomeris.
REFERENCE  1
   AUTHORS  Janssen,R., Prpic,N.M. and Damen,W.G.
   TITLE    Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation
             in the millipede Glomeris marginata (Myriapoda: Diplopoda)
   JOURNAL  Dev. Biol. 268 (1), 89-104 (2004)
   PUBMED   15031107
REFERENCE  2 (bases 1 to 385)
   AUTHORS  Janssen,R.
   TITLE    Direct Submission
   JOURNAL  Submitted (08-DEC-2003) Janssen R., Evolutionary Genetics,
             Institute for Genetics, Weyertal 121, 50931 Koeln, GERMANY
FEATURES   Location/Qualifiers
   source   1..385
             /organism="Glomeris marginata"
             /mol_type="mRNA"
             /db_xref="taxon:62006"
   gene     1..385
             /gene="wg"
   CDS     <1..>385
             /gene="wg"
```

## Kapitel 6: Anhang

---

```
/codon_start=2
/product="wingless protein"
/protein_id="CAE83648.1"
/db_xref="GI:45822219"
/translation="MSGSCTVKTCWMRLPSFRDIGNILKERFDGASRVLVSNAGNNRG
NFRPGVNNAAGGGGGEGGRHNLHHPALLKPYNPDKHPASFKDLVYFENSPDFCERD
TKLGLPGTRGRFCNDTSLGVDGCDLM"
```

### ORIGIN

```
1 tatgtccgga agctgtactg tgaagacgtg ctggatgcga cttccatcct tcaggacat
61 tggcaacatc cttaaagaac gattcgacgg tgcttccaga gttctggtga gcaatgctgg
121 caacaacagg ggcaactttc gaccaggggt caacaatgca gcaggaggag gaggtggagg
181 tgaaggagga cgtcacaacc tgcaccaccc aagtgcactt ctcaaaccat acaatccgga
241 ccataagcca gcgtctttca aggacctggt gtactttgag aactcgctg acttctgcga
301 gcgtgatact aaattggggc ttcttgccac tagaggtcgc ttctgcaacg acacttcact
361 aggagtagac ggatgcgatt tgatg
```

//

### Datenbankeintrag: *Glomeris marginata*; Wnt-5 homolog; AJ616908

```
LOCUS      AJ616908                276 bp    mRNA     linear   INV 29-MAR-2004
DEFINITION Glomeris marginata partial mRNA for Wnt-5 protein.
ACCESSION  AJ616908
VERSION    AJ616908.1  GI:45822220
KEYWORDS   wnt-5 gene; Wnt-5 protein.
SOURCE     Glomeris marginata
  ORGANISM Glomeris marginata
            Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Myriapoda; Diplopoda; Pentazonia;
            Glomerida; Glomeridae; Glomeris.
REFERENCE  1
  AUTHORS  Janssen,R., Prpic,N.M. and Damen,W.G.
  TITLE    Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation
            in the millipede Glomeris marginata (Myriapoda: Diplopoda)
  JOURNAL  Dev. Biol. 268 (1), 89-104 (2004)
  PUBMED  15031107
REFERENCE  2 (bases 1 to 276)
  AUTHORS  Janssen,R.
  TITLE    Direct Submission
  JOURNAL  Submitted (08-DEC-2003) Janssen R., Evolutionary Genetics,
            Institute for Genetics, Weyertal 121, 50931 Koeln, GERMANY
FEATURES   Location/Qualifiers
  source   1..276
            /organism="Glomeris marginata"
```

## Kapitel 6: Anhang

---

```

        /mol_type="mRNA"
        /db_xref="taxon:62006"
gene     1..276
        /gene="wnt-5"
CDS      <1..>276
        /gene="wnt-5"
        /codon_start=1
        /product="Wnt-5 protein"
        /protein_id="CAE83649.1"
        /db_xref="GI:45822221"
        /translation="VSGSCSVRVCWRRMAPFRQIGDDLTKKFDGATIVKLAHRKKKKL
QPSKKDLKKPSKKDLVFLDDSPNYCERNESLGVLGTKGRLCNKTSYGI"
ORIGIN
    1 gtgtcggggt catgctcagt tagagtttgc tggcgaagga tggcaccttt ccggcaaate
    61 ggagatgacc tgaccaagaa atttgacggt gcaacaatcg tcaaacttgc ccaccgaaag
   121 aaaaagaaac tgcaaccatc gaagaaagat ttgaagaaac cctccaagaa agatctggtt
   181 ttcttgacg attctccaaa ttattgcgaa cgcaacgaaa gtttgggtgt tctgggcacc
   241 aaaggccgcc tgtgtaacaa gacaagttac ggcac
//
```

### Datenbankeintrag: *Glomeris marginata*; Wnt-7 homolog; AJ616909

```

LOCUS      AJ616909                312 bp    mRNA    linear    INV 29-MAR-2004
DEFINITION Glomeris marginata partial mRNA for Wnt-7 protein.
ACCESSION  AJ616909
VERSION    AJ616909.1  GI:45822222
KEYWORDS   wnt-7 gene; Wnt-7 protein.
SOURCE     Glomeris marginata
   ORGANISM Glomeris marginata
            Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Myriapoda; Diplopoda; Pentazonia;
            Glomerida; Glomeridae; Glomeris.
REFERENCE  1
   AUTHORS  Janssen,R., Prpic,N.M. and Damen,W.G.
   TITLE    Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation
            in the millipede Glomeris marginata (Myriapoda: Diplopoda)
   JOURNAL  Dev. Biol. 268 (1), 89-104 (2004)
   PUBMED   15031107
REFERENCE  2 (bases 1 to 312)
   AUTHORS  Janssen,R.
   TITLE    Direct Submission
```

## Kapitel 6: Anhang

---

```
JOURNAL    Submitted (08-DEC-2003) Janssen R., Evolutionary Genetics,
           Institute for Genetics, Weyertal 121, 50931 Koeln, GERMANY
FEATURES   Location/Qualifiers
   source   1..312
           /organism="Glomeris marginata"
           /mol_type="mRNA"
           /db_xref="taxon:62006"
   gene     1..312
           /gene="wnt-7"
   CDS     <1..>312
           /gene="wnt-7"
           /codon_start=1
           /product="Wnt-7 protein"
           /protein_id="CAE83650.1"
           /db_xref="GI:45822223"
           /translation="ECKCHGVSGSELKTCWYTLPKFNDVGDYLLKKKYETAVRIKPSA
           RKRLRRQDRTGKSVLVSKAELVHIHKSPNYCIEDKSKGILGTKGRPCNKTSTGPDGCD
           LM"
ORIGIN
   1 gaatgtaagt gtcatggcgt ttcgggggtcc tgcgagctga agacttgctg gtacacgtta
   61 cccaagttca atgatgttgg agactacttg aagaagaagt acgagactgc agttcgcac
  121 aagccatcag ctaggaagag gttgaggcgc caggaccgta ccggtaaagag tgtattggtc
  181 agcaaggcag agctggttca catccacaag tctcctaact attgcattga ggacaagtcg
  241 aagggcaccc ttggcactaa aggacgcct  tgcaataaga catcgacagg ccctgacggg
  301 tgcgacctaa tg
//
```

### 6.2 Übrige Sequenzen

*Glomeris marginata engrailed*

Vorhandene Bereiche der EH2-Domäne, sowie die EH3 und die EH5 Domänen sind unterstrichen.

Die Homöodomäne (EH4) ist **fett** gedruckt und unterstrichen.

Das RS-Dipeptid ist **fett** gedruckt und klein geschrieben.

Die beiden alternativen Polyadenylierungssignale sind **fett** gedruckt.

```
2 AGATATTCTGACAGGCCCTCGTCAGGTAGGAGTCCCCGTTCTCGACGTGCCAAGAAGAAA 61
1  R Y S D R P S S G r s P R S R R A K K K 20
62 GACAAGAAGCCTGAGGAAAAACGACCCAGGACAGCTTTCACAAACGAGCAACTTGCCAGA 121
21  D K K P E E K R P R T A F T N E Q L A R 40
122 CTGAAGAAGGAATTTTCAGGAGAACC GTTACCTGACCGAAAAGAGACGTCAGGATTTGGCT 181
41  L K K E F Q E N R Y L T E K R R Q D L A 60
182 AGAGAACTGAAACTGAACGAATCGCAGATCAAAATCTGGTTCAGAACAAGAGGGCCAAA 241
61  R E L K L N E S Q I K I W F Q N K R A K 80
242 ATCAAGAAGGCCAGCGGTTCAGAGGAACGGTCTAGCGTTGCACCTGATGGCCAGGGCCTG 301
81  I K K A S G Q R N G L A L H L M A Q G L 100
302 TACAATCACTCGACACATTCGAGTCGTGAAGGTGAAGAATGTTCCCTCCGATGGAACGACT 361
101 Y N H S T H S S R E G E E C S S D G T T 120
362 AACCCCATCAAACCTATGAACGTGAAGGGCAAGTGACCCAAATCCCAGTG TACCATATG 421
121 N P I K P M N V K G K *
422 CACCTGTACAGAAAAAGATTTATGATAAAATGATCATCATGCGACGTTTGC GTTCAATTT 481
482 TAATCTTCATCACACGTG TAAATATATATATGAATAGTGATTGTGAATAAAAGTCCATCC 541
542 AACCGGATACTATTTATTAATTTTATAACTTTATTGCATCATTTGTAATCGAAATATTC 601
602 AGGTGCCTGCACAGAATGATGTATTTCTATACGCAGCAATAAAATCAAATTTATGCTGT 661
662 ATGCTCCATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 695
```

## Kapitel 6: Anhang

---

*Glomeris marginata labial*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|      |   |      |
|------|---|------|
| 1    | ACTAAACAACACTGACTGAATTGGAGAAAGAATTTTCATTTCAATAAATACTTGACTAGAGCG | 60   |
| 1    | <u>T K Q L T E L E K E F H F N K Y L T R A</u>                  | 20   |
| 61   | AGGAGGATTGAAATTGCTACTGCACTTCAGCTCAATGAGACCCAAGTAAAATCTGGTTC     | 120  |
| 21   | <u>R R I E I A T A L Q L N E T Q V K I W F</u>                  | 40   |
| 121  | CAGAATCGCAGAATGAAGCAAAAAGAAGAGAATGAAGGAAGGATTAGTGATTGTCAAAGAA   | 180  |
| 41   | <u>Q N R R M K Q K K R M K E G L V I V K E</u>                  | 60   |
| 181  | CAAGGGGCAAGTTCGAGTGATTCTAATAAGGATCCAACATGATCCATTGAAATAGTTAAA    | 240  |
| 61   | Q G A S S S D S N K D P T *                                     |      |
| 241  | ATTCTCTTTATACTATTTCAAACGTCCATAAACTATTTTACTATGTTGTGCATCGTGCA     | 300  |
| 301  | TGGAATGGCAGATCTTCAAGTATTACACTTTGGGGATTTTCAATAAAAACAATAATTTTTC   | 360  |
| 361  | GATTGAGGGGATTTACTATATATATTATTGGTTCATTCTTGTAATTTAATTTTAAATTTGT   | 420  |
| 421  | CGAAAACAAAATACTAGAACTGCACAGAAAACAAAATATATTCCCATTGTGCAATTAAA     | 480  |
| 481  | AAACAATGAAAATAAAAATATAGTCATTTTCATGGATTGTTATATGAATCATAAACATTAT   | 540  |
| 541  | TTTTGTGATAAACCAATGTACGAGTAGTATACAATTTAATTAACATAATCGACCAATATA    | 600  |
| 601  | TAGTGTAGGAGTGCCACTGCAAAAATTATGCAAAAATCAGCTCAATCGACAAATTATTAT    | 660  |
| 661  | TCGTTTATTTAAAAGCATGCTAATTGAAGTAATGGACTGATTTTTAATTCCAAACATTTT    | 720  |
| 721  | TACGATTTGCGTTTTAAAATCCTCCAATTGAAACTCTTTATACATATGAACACAACCGAC    | 780  |
| 781  | GTACCATCAGATATAGGATCATCAATACAGGGTGTATCGCTATAGTTGTGGGTGAATA      | 840  |
| 841  | ATTTGTGATCTATTGGTACTGGTAGCCTGATAGGAATTAAGTATAGGGTATATGGCGAGT    | 900  |
| 901  | CTGAATCTGTTAGTTATTTTAACTTGCCATGTAATTTTCATAGTAACCGACCGTGTAGTT    | 960  |
| 961  | TTGAACGCATGGGTTTACAGCCGTATAATGAATTTGAAAGTTGTAGAGTTTTCAAAGGT     | 1020 |
| 1021 | TAGTCTGATTATGCATTTGTTATCAGGTGTACGAGGAACGTACGATGTTAACAATTTATC    | 1080 |
| 1081 | AAAAACGACGAAACGGTGATGCAGCGTAAGACGTGGCAAGAGGTGCTGCACTGCAGTGAA    | 1140 |
| 1141 | GCACGACATTCAGTTAAATAAATAATGACCACTCTTTCTTCTGCCGTTTTTAATAGTTCT    | 1200 |
| 1201 | ATTTTACTTTAAAAATATTTAATGGATGGACGGGTACAAGAGTGTCAAACATTAATTG      | 1260 |
| 1261 | CAACACCATAAATTACCAATTGAAGCTTTTAAAATTCAGTTAGATCACAATTTATTCAC     | 1320 |
| 1321 | CAGAGCTACACTTCTATATACACCTACCTATACATTAACAATTTTTTAAATAAACTTAACT   | 1380 |
| 1381 | GGAATAAAGTATGTATAGTATGTTGTATACCATTCTGATAGGGTAAGACAACACTGTCTTTT  | 1440 |
| 1441 | AAAAACTTCAAACCTGATACCGGTTGTGTTCAATGTTCGATTTTGTGTTGCTGGAGATCAC   | 1500 |
| 1501 | TTAAAAATTAAGAAGCGAATATTTTCGCATGCAGCAAAAGTATTGTCCTATTAATTCATA    | 1560 |
| 1561 | ATTAATTGAACTTTATGTAAACATGCACAGTATAACAGTCAGTATAAACCATTTCAAATC    | 1620 |
| 1621 | TGTTTCAAATTC AACATTCCACCATATTTAGGAATTATAGTTGGGTGTCAGAAAACATGT   | 1680 |
| 1681 | TAATTTGTATGAAATGCAAACATCTCTTTTGCATATCTCAGGTATATTATGCGATATTT     | 1740 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 1741 | TAATTTACGATTTTGCACATACTAGTTACACCCAAATTCCTATGTTCCAATTAATACTCGT | 1800 |
| 1801 | GTTTAAACTTTAACGCCAAGCTATGCCTTTATATACCCTCAGTCCTTATAAAACAAAGTA  | 1860 |
| 1861 | AAAAAAGAGATGAAGTTATATGTAATCTACTGTATGTTCTGTATAATATTGCTTTTCTAA  | 1920 |
| 1921 | TAACAGTCGAAATCGGAAAGATTAAATTTACTATTTCAGTTCACCTTTAAACTCCAATTTT | 1980 |
| 1981 | CACAATATCGGAATGCACATGACCCTACCATTTATGTAGAAGCAAATTATAATTTTAAAA  | 2040 |
| 2041 | TCCCTGTATATTTAACAAACGTTACCATTACTTGCAAAATGTATAGATTTCCCATGATTTT | 2100 |
| 2101 | TATAACCTGATAAACCGGACATTTTTAAATCTGTATAATTCAACAGTGAGATGTAAATTG  | 2160 |
| 2161 | CAATAAATAATTACATTTATGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA    | 2211 |

### *Glomeris marginata proboscipedia*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 2   | CACTTCAACAAGTACCTGTGTGACCTCGACGAATCGAGATCGCAGCTTCCTTGGACCTC    | 61  |
| 1   | <u>H F N K Y L C R P R R I E I A A S L D L</u>                 | 20  |
| 62  | ACTGAACGCCAGGTGAAGGTATGGTTCCAGAACCGTCGCATGAAACACAAGAGACAGACT   | 121 |
| 21  | <u>T E R Q V K V W F Q N R R M K H K R Q T</u>                 | 40  |
| 122 | GTTGGAAAGCCTGGCGAGGATGGTGCCATCATCACCGGTGGCACTACCACCACCAAAGGT   | 181 |
| 41  | V G K P G E D G A I I T G G T T T T K G                        | 60  |
| 182 | CACCAAATACACAGCCCAGGCTCAAACCCAGTCTGGTTTACTACGGCCTGGATCTTCA     | 241 |
| 61  | H Q I H S P G S N P S P G L L R P G S S                        | 80  |
| 242 | GATGGAGGCTACGAAAGTCCTTCCAGGCTTCTCAAGGACAGCAATGACACTACAACACTACA | 301 |
| 81  | D G G Y E S P S R L L K D S N D T T T T                        | 100 |
| 302 | GGCAGCAGCGATGATGGTGGAATGTCTTCCAAGGATGAAGATGGGTTATCACCTCCTTGC   | 361 |
| 101 | G S S D D G G M S S K D E D G L S P P C                        | 120 |
| 362 | AGGTCTACCAGGACACCATCTGTATCCAGTCCAGAAGTGGGCAGTGAGAAAGGCAGTGGC   | 421 |
| 121 | R S T R T P S V S S P E V G S E K G S G                        | 140 |
| 422 | ATTTTGGAGGCGAAAACCTGTGACCAAGCCAAATGTGAATCCTGTTATTGGCAGGCCCAGA  | 481 |
| 141 | I L E A K T V T K P N V N P V I G R P R                        | 160 |
| 482 | GGTCGTCCACCATCAGCTGTTGCATCGTTAGCTTCCCCTCCTGTGCAACAAATGTCTAGT   | 541 |
| 161 | G R P P S A V A S L A S P P V Q Q M S S                        | 180 |
| 542 | GAACTGAAAGCCAAGCTTCCATCGGTTGGACATATCCCAGATGGAGTGCTAACTCAACCC   | 601 |
| 181 | E L K A K L P S V G H I P D G V L T Q P                        | 200 |
| 602 | TTGTCACATCCGCGAGTTCCACCCACGTGTTCTTCAGCAGTTGGTCCTACAAGTACCAGC   | 661 |
| 201 | L S H P R V P P T C S S A V G P T S T S                        | 220 |

## Kapitel 6: Anhang

---

662 ACTTTGTTTGCTGCTGGATCTCCTCTAGCAGCAGCAACAGCAACATCT 709  
221 T L F A A G S P L A A A T A T S 236

*Glomeris marginata Hox3* (Klon 17)

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

Von diesem Gen sind verschiedene Allele isoliert worden (siehe Ergebnisteil dieser Arbeit).

1 CACTTCAATCCTTACATTTGTCGTCGAGACGTGTGGAAATGGCCCTGGTTTTGGGCCTG 60  
1 H F N P Y I C R P R R V E M A L V L G L 20  
61 CAGGAACGACAGATCAAAATATGGTTCCAGAATAGACGCATGAAATTCAGAAAGACAAT 120  
21 Q E R Q I K I W F Q N R R M K F K K D N 40  
121 AGACACCGAGACAATCATAATTGCCTCATAGAAAAAGTGAACAAAAATCAGCCTGCCTCG 180  
41 R H R D N H N C L I E K V N K N Q P A S 60  
181 CCTATGCCTAAGGCCGATTTCACTTCCGGTTCGGATACGCCCTCGCCCGCAACTTCCTGC 240  
61 P M P K A D F T S G S D T P S P A T S C 80  
241 TCCTCCTTGTCACCACCACCACCACCAGCACCAGCACCACCTCGCTTCTCCCACCCACAG 300  
81 S S L S P P P P P A P A P P R F S H P Q 100  
301 AATCGTCAGCAGCAGCAGCAG-----CATTATTACGCGAAATGAGATCTTCGTGCAGC 360  
101 N R Q Q Q Q X X H Y Y A E M R S S C S 120  
361 TTGCAGCAGCCAGACTGCGATTGGAGCAGAGTCGACACGTTGCCGTGGCAACCTGACAAC 420  
121 L Q Q P D C D W S R V D T L P W Q P D N 140  
421 AACTTGCCCCCTTCTTTCTCCTTTCCTTGCCTTTGGAGAATGTCAAAAACAGTTGTTGCTTT 480  
141 N L P L L S P S L P L E N V K N S C C F 160  
481 ATTTAAGTCGAAATATATAGTGAGGAGCCCAAACCTGACAAATTCAAATGAAATATGTAA 540  
161 I \*  
541 TATGATAGCTCCAATGTGCATAAAGCTATATATTGTCCCAAAGATTTGGTCCATACTTTG 600  
601 GTTGTGTTATCCTTACTATATGCAGAGAAATATGCGGCATGTTTGCAATTCAAAATTGAC 660  
661 CTTTTTCAGTAGCACCACCTTTTTCCAATATGGAGGTCTTATTTGGGATAAAGCTAGCTG 720  
721 CAAACAGTTGGCAGAAAACCAGTTTACCCACTTGAGCCCAACTAAAGACGCCATTTTTTA 780  
781 ATCGTTTTTTTCAGCCAGTAGCTGCATACTGAAAAAGGTTAATTATTAGTGGTCAATTTTA 840  
841 ATGTTTGTGATCATTCTGGCTTTTGTACATTGCAGTCAGCATATGCTATATAACCATACCT 900  
901 TATGTTAATTGTA CTGATTTTACTATGCCTTGTGTTTTGCTATATAATCGAGGCTGCAA 960  
961 AACTTAATTGTTTCGTAAGTATAACTGCATGTGGATCTGGATTTATATAGGTCTGTTACA 1020  
1021 TGTATGTAAAATAATTATTTTGCAGTGCTATTGAATTAAGACCAATTTTTAGAAAATGGA 1080

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 1081 | TTTCAATGTGAAGATTGAATGCACATTTACATGCAGGGTGAGTCTTCATAACGTTGCAAA  | 1140 |
| 1141 | GCTGATATGTTGTGAAATGGACCCAAATAAAAAAACTATAGGGGAACATGGTGTACTA    | 1200 |
| 1201 | CTCATTGGGGGTCATCTGCTCATGTGTACTTTGAGGACTATCGAACACACGATCAGGGCG  | 1260 |
| 1261 | TTTGAAATCAAGAACTTTAAAATTAGAATAATGGTGCGTATAAGGTGTAGTACTATGTT   | 1320 |
| 1321 | TTCCTTGCAATGCTTTGCACTCATTGCTGTGCAGCCAACATTCAGGCAAATGACATGTTC  | 1380 |
| 1381 | CCATGTTTTATTATTATTGTTGTTTTTCAAACCTGCGTTCTCATTTACAAAATATCACT   | 1440 |
| 1441 | TGCATCGATATGAAGACTCACCCGTATAGTATAATAAAGCAATACCATTTCATTGGGAAT  | 1500 |
| 1501 | AAGTCATCATTTGATCTTGAGGAAATATGATATTTTCATTGTGTTTCAATACTAAATTCAG | 1560 |
| 1561 | ATTTATGATTCATCTATTTTATATAAGGAAATAAAATGCTATGTTTTTTTAAAAA       | 1620 |
| 1621 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA   | 1641 |

### *Glomeris marginata Deformed*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 1   | CACTTTAACAGATATTTAACAAGGAGGAGGCGAATTGAAATTGCTCACTCGCTCTGCTTA  | 60  |
| 1   | <u>H F N R Y L T R R R R I E I A H S L C L</u>                | 20  |
| 61  | TCCGAACGCCAAATCAAGATTTGGTTTTCAGAACAGGCGAATGAAGTGGAAGAAAGACAAT | 120 |
| 21  | <u>S E R Q I K I W F Q N R R M K W K K D N</u>                | 40  |
| 121 | AAACTTCCGAACACTAAGAATGTGCGAAGGGCCAATTCGAGAAGCAGCCATAGTCACCAC  | 180 |
| 41  | K L P N T K N V R R A N S R S S H S H H                       | 60  |
| 181 | CATCATCAAGCAGTGCAGCATCACCATCACCAGCCTCAACAAGCATCTTCACAACAACAG  | 240 |
| 61  | H H Q A V Q H H H H Q P Q Q A S S Q Q Q                       | 80  |
| 241 | CAACAGCAACAACAATCTCAGCATCATCAACCGCTGTCCGAACTTCATCTTCTCCACCG   | 300 |
| 81  | Q Q Q Q Q S Q H H Q P L S E L H L P P P                       | 100 |
| 301 | AACTGCAACCCTTTACCTGCCCCACTACCTCCACCTCCTTTGGCTCACAAATCAGACTAT  | 360 |
| 101 | N C N P L P A P L P P P P L A H K S D Y                       | 120 |
| 361 | GGTTTAACTGCACTTTGATGATGAGACAAGACAAAACCGTGTGGGAAATTTTACAAAC    | 420 |
| 121 | G L T A L *   |     |
| 421 | ACGTGCGTTTTTGTGAAATATGTGTCTGTGACTAGACATGATTCTTTCTACGAAGGAGTG  | 480 |
| 481 | AAACTCGAAAAAGGGCCTTACCGGCACGAGATGCAACAGTATGTGATTGTGTGCGTTCA   | 540 |
| 541 | GGGTAACAAATTACAAGAGTAAGTATCGTTTACCACCTGGGGTTGGAGCCAACGACACTT  | 600 |
| 601 | CGTTTTCTATACATACGGTATACAGAACGCATACTGCTACTTGTTCATCAAATTATGCA   | 660 |
| 661 | GGGTTATACAGATGTGAAAACCTGGAATACTCAGTCTACTGGAGAAAGAAAAATTAATT   | 720 |
| 721 | TGACATTTTCTCATGCAGTTCCATGCACAATCCTCCTTGTAACAATAATCCTCATTAATT  | 780 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 781  | CTCAATTAATAATAAATTCCAATTTGTTGTATGGAAGAGTTACTTAATTTAATACTCTGA   | 840  |
| 841  | AAGGGATCAAATCTATTTTTTCAGGCACATTTACAGAAGATACTTAAGCATTTAAAATATG  | 900  |
| 901  | GAAAATATGATTGACAAATATTGTTAGCAGTTCTTCAGTTTGCATTTTGATTATACATAA   | 960  |
| 961  | GTCACATGTGTACAGCAGCAGTTGGTTATGAGGATTTTACATTAATTGTATGGGAAAAC    | 1020 |
| 1021 | ACAAAATCTGTGTAAGAAGAAAATTTGAATTCATGTGCCAAAATCTGCTGTTATTTTGAG   | 1080 |
| 1081 | AAAATACGCATATTAATGAATAATTTGGAATCTAACACATCCAAAATACATAATTTTCT    | 1140 |
| 1141 | TAATATCTATTAATATAACACAGTAATCCCTGACCAAAAATTTCCGGTTTCATTAATGTTAA | 1200 |
| 1201 | TATTATGTTACTGGAGAAGCTGCATTATTAGAATTTAACATGTTTGAATGGAAAAATATA   | 1260 |
| 1261 | ATATTGTAATTTTAATTCACATACAGTTGTTAAATGATGGGTACAAATTATGATGAAATCA  | 1320 |
| 1321 | TATAATAATTTCAAATATAGCTCTAGTTTGTTCAGATTAAGTATATTTTAGAATGAT      | 1380 |
| 1381 | AGCCTACAATATTCATTAACATGTGTGAATAATTTTGGGAAAATTTGGAAAATTT        | 1440 |
| 1441 | TACTGGAAAATGGTTTTCAACATTTGACATGGACCCTGTTATATTTTGGGATAAACCCCTA  | 1500 |
| 1501 | GTCAACTAAATGCTTAACTATGCGTGAGTGTTCCAAATGTCCAAGGATTCTTTTTCAGTC   | 1560 |
| 1561 | AAGGTTGTATACGTCTATACATTGCTACCTGCATGTTATACCTTCTTTTTGTGCAAACAA   | 1620 |
| 1621 | AATGGCCAAAATATTTACTAACTTATGCGTGCATGAAAGTTCATTGAATGTTTCTCATA    | 1680 |
| 1681 | TGTGACATTATCAATTCTTATTATATAAGGATATATTTTTCTTTAATCTCGTTGTGCTG    | 1740 |
| 1741 | CGTGATCGAGTCTCATCTGCAAAAAATACCAGCACATTTTGTTCAGGTCTCGAGAAGTGG   | 1800 |
| 1801 | CGACTGATAGACGACATCTCGTGGGAAATCGTTTTTCTCAGCTGGCAAAGTTGACAACT    | 1860 |
| 1861 | AAACAAATGGTGTACACACACAACCTCTGAGTTTGGGCCGAATGCCATGGAGCATGAGCTT  | 1920 |
| 1921 | TCCAGCACAACTACTGTGAACACATTGGTGTAAAATAGCCAAATTTTCGCTGAACAACC    | 1980 |
| 1981 | CAAAGTTTTTCTTTTCGAAAATGGTTCGTTACCTCTTTCTTTAATATAATTGCCATATAC   | 2040 |
| 2041 | GAAATGCAATATTCTCCAGACGCGACAAGAGTGAAAGATGACGGCAGCCATGACGCACCG   | 2100 |
| 2101 | GTTAACGTTCAATAAATCGATATACTGTTTTGCATTCTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA   | 2160 |
| 2161 | AAAAAAAAAAAAAAAA   | 2174 |

*Glomeris marginata* Sex combs reduced

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 1   | TCTTACACTCGCTATCAGACACTGGAATTGGAGAAGGAATTTCAATTTCAACCGTTACCTC | 60  |
| 1   | <u>S Y T R Y Q T L E L E K E F H F N R Y L</u>                | 20  |
| 61  | ACCAGAAGACGGCGAATTGAAATCGCACATTCACCTTGCCTGACTGAGAGACAAATAAAA  | 120 |
| 21  | <u>T R R R R I E I A H S L C L T E R Q I K</u>                | 40  |
| 121 | ATCTGGTTTCAAACCGGCGCATGAAATGGAAGAAGGAGCATAAGTTGGCTCATCATCTT   | 180 |
| 41  | <u>I W F Q N R R M K W K K E H</u> K L A H H L                | 60  |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 181  | CCTCCTCCACCATTGGGAGGTCCAGTAGTGGACCATCATCTATCGGCCGACACGAAAGGT     | 240  |
| 61   | P P P P L G G P V V D H H L S A D T K G                          | 80   |
| 241  | TAGCACGATGGCATTACCAACAGGATGATGGGAACCATATATATAAAATAAAAACCAA       | 300  |
| 81   | * H D G I H Q Q D D G N H I Y I N K N Q                          | 100  |
| 301  | GCAAAGAATCCGCGAGAAAACGATGGCAGCAGTGGCAATTCTGTCAACAACAAGCGGGTG     | 360  |
| 101  | A K N P R E N D G S S G N S V N N K R V                          | 120  |
| 361  | GCAACAAGGACGCAACAAGAAGTTCCCCCAAACCACCCACCCACAAAACAAATCTGT        | 420  |
| 121  | A T R T Q Q E V P P K P P H P T K Q I C                          | 140  |
| 421  | TCCTGGCACAAAACGTCTTGGATGAGACAAAATCCAGTCGCCATGTGTCCGTGTCACGTA     | 480  |
| 141  | S W H K T S W M R Q N P V A M C P C H V                          | 160  |
| 481  | TACATACTACATAGAAAAATATAAATGCGTTTATCCGAGTGCATTCTATATGTCTTTA       | 540  |
| 161  | Y I L H R K I *  |      |
| 541  | CTTGAATCTGACAACAGGCAGTTTCATGAATTTAAAATATCATTTTCGCATTTTTTCGAG     | 600  |
| 601  | TATGAGTAATATCATCAACGAATTAAGTTGACAGCTTTCAAACATGCAAGTTATTCCAA      | 660  |
| 661  | ATGTCTGAATACACATTTTTTAAAGTGTTTGGCATTACATTGCCGCCATTAAGCCAGTCAG    | 720  |
| 721  | CGAAGACTGGCAAAGCACACATTTCTCAGAATCTGAATAACTCAATCCTATATATATAT      | 780  |
| 781  | TTAATATTGTTATTTCTATGCACATAATCAGTTCAAAAACCCAGTAGAAAATGTTTGTGC     | 840  |
| 841  | ACAAATGTGTATAGCTATATACACAAAATTGGAAATTGTTTCATACATAGGTAAAGTTTT     | 900  |
| 901  | TGTAGAGAGATTTGTGCAGAAAATATTATGCAAGACTGAAATTATTATTGGTCTTTAGAA     | 960  |
| 961  | CTGTTTCGCAAAAAGTACAATGAAAAGTATAATTCTGCATAACATTTTCCAGGGAACACAAA   | 1020 |
| 1021 | ATATTACCATTTGGATTATCAATAAATCAGTGCAAAAATAATATAAAAAGAATGTATATA     | 1080 |
| 1081 | AACATTTCAATCCAGAAGTTTCTAACAATGATTACACAACATTAGAACTAATATGAAATG     | 1140 |
| 1141 | TATTTTATTAATAACATATGCATGAGGTCCTAACATTTAGATTGAAATAATATAACGAAA     | 1200 |
| 1201 | TATACTGTTTACTAAACAACATACCTATAAAAATTAATAAAAAGATCTCATAAATTACAG     | 1260 |
| 1261 | TAAAATATATGGCACCAAATACTTGTATTAAATGTGTATACAGAATTTTGGAACACATT      | 1320 |
| 1321 | GCAGACATACATAAATATCATCGCAAAAGGATATTATTTTCGGGGAAAAATGAATAGTGAG    | 1380 |
| 1381 | AGTGAGTTTGTGTACAGTGTGTGTATAGAGGTGTGTATTGTTTCGTATTTACGAATGTTGG    | 1440 |
| 1441 | CGAAAATGGGTGAAAAATGCGTGAGCACGGACCGAGTTTTTTTTCTATTGTATTGTATATT    | 1500 |
| 1501 | GTGACCGATGATATATACTCTGCCATTGTATAGGCCGATTTTCAGGGAAGACTCGTTTCTA    | 1560 |
| 1561 | TTTAAGAAAATCGTAAAACACTACATAACAATACCCATGACTCTTGGTTGTTTTGCATATTACT | 1620 |
| 1621 | AAACTCGATGACCATAATTAACCTTGGCATTCTCCTTCAATCTCTCACTAAACTTCATC      | 1680 |
| 1681 | CATATGGTTGTGCATCTTTTCATATCCACTATAGTGTATAATAAGAATAGTATTTTCATAC    | 1740 |
| 1741 | ATTTTCCTTGCACAATAATTTAAATGCAGAAGATTCAAATGAATTAATCCCCGAACATA      | 1800 |
| 1801 | ATTAAGCCAATGTGTGATTAATTTCCCCCTACAAAATGTGCAACAACCTCAGGAAAATGTA    | 1860 |
| 1861 | TATACTGTATAGATAAAAATCCAGTTTCAATAATAGATCGAATGCAGTTTCATGTCAATAG    | 1920 |
| 1921 | GATCAATATTTTATTGTGCCAACATTTTAAACCAATGTCAAAGCATGACAAAACGTTTGA     | 1980 |
| 1981 | AGCAATTTCTATTTTGTTCAGCAAAAATGAAGGTAACATTTTATTAGATAAATTATAT       | 2040 |
| 2041 | TAATATTAGTGGTGCATTTGATATAATGAATCCTTAAATTCATGTAAATAAAAATTCA       | 2100 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 2101 | AGCCAATGAGTATGTTTTAAACAGAAAATTGTAAAATTTGCAATCCTGAAGCAGAGGAAA   | 2160 |
| 2161 | TAGGACAATGAAAACACATTTCTAGTGGACTTGAGCAGAATTCTTGCATAATTCCTACAG   | 2220 |
| 2221 | CAACACAATAATTCAGTGTTATAATTCTGCAGGAGTTACACTTCTGTATTTCAATTCGA    | 2280 |
| 2281 | AAATTTAATGTATATAAGTAATTACAGTATAATTATTTTGAACAATGCTTGCTTTTGAAT   | 2340 |
| 2341 | CCATAAATATTTTCTTTGGCTATATACAAAAAGTAGGAATGCACTGCATTCATGGAATAG   | 2400 |
| 2401 | CTTAAAGAACAAATTAATCCCCTCTCGTTTTCGCAATTTTCATGTTGCATTACTCACTCGA  | 2460 |
| 2461 | AACTCCATCAATTGTCTCTGTTTACGTATACATAGCAATGTCAATCTGTAACCCTGGCCAT  | 2520 |
| 2521 | CACCTATGGTCCAAAACACTTTCAAATTGCTCGAGTATTGAGTTTACAAATAGATAGCAT   | 2580 |
| 2581 | AGAGGGAAGGATTTCAAGTCCCAAATGCCCTAAAGGGAAAACCTGCTCAGGTTTCAGGATTC | 2640 |
| 2641 | TTTCCCTTGCAATTGATAAAGTTATTGAGTTGCAAATAAATATTGGCCAACCTTAAAAAAA  | 2700 |
| 2701 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  | 2718 |

*Glomeris marginata fushi tarazu*

Die Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 1   | CCTTTCAGGCGTTTGTTCATCTTTCCAAAGACTTTAGTCTAAGGTCTTAACTTAGGGC   | 60  |
| 61  | ACCCATCTCTGGGTTTCGCTCCTCCACAAACTTTAACGACCCTGCTAACTGTGAAACAGC | 120 |
| 121 | TGGCATTGGTTCGTTTCAGCTGATCACGTGGACCCCCCTTCTGCAAACATCTCATTAGGA | 180 |
| 181 | AGAAGGCACGAGCTTGGCAGCACGTTAGGGATAATTGCAAATCCCCATGCCCATGCCCC  | 240 |
| 241 | TGCGTGTCATTGTCCACCTGCGACATGAGCTCATACTTTGGAAACATCTCTCAACCATCA | 300 |
|     | <u>M S S Y F G N I S Q P S</u>                               |     |
| 301 | AGTCAACAATGGCCTCCTTCTGGTGGTAGTGGCAACCATCAAGACCAACATCTACTAGCA | 360 |
|     | <u>S Q Q W P P S G G S G N H Q D Q H L L A</u>               |     |
| 361 | ACAGTAGCATCAGCAAAGTATGGAGTACCGCCTGCAATGAATACAGGTGCAACCAGCTTA | 420 |
|     | <u>T V A S A K Y G V P P A M N T G A T S L</u>               |     |
| 421 | TATTCTTCAGAAGCAGCCCAGAACATGTGCCATCAACATCAGCGTCGACCTTATTATATG | 480 |
|     | <u>Y S S E A A Q N M C H Q H Q R R P Y Y M</u>               |     |
| 481 | CAGCAATTCACCCAGAAATGTCAACTGCCACCATCTCCAAAGACACTTTCCTACGAAGCC | 540 |
|     | <u>Q Q F T Q K C Q L P P S P K T L S Y E A</u>               |     |
| 541 | CACGTGCCAACATCGTCTTCTACATCGCCTTATGAAGATGGACAGTACTGTTTCAACTCT | 600 |
|     | <u>H V P T S S S T S P Y E D G Q Y C F N S</u>               |     |
| 601 | CCGTCCACGTCTCCACTCAATGATCTAATGGCAGTTGTAGACAGGAGGATTTCTCAATT  | 660 |
|     | <u>P S T S P L N D L M A V V D R R D F S I</u>               |     |
| 661 | GGTCCATCAACAAGGGCATCATTGACGATAACTGCTACAATTCCTCCACATTGCATTTT  | 720 |

## Kapitel 6: Anhang

---

G S I N K G I I D D N C Y N S P H S H F  
721 ACAAGTCGACCTCCACCCACTTCCCATCCTCATCTCCCCTCTCATCCTCTCTCCACTCCT 780  
T S R P P P T S H P H L P S H P L S T P  
781 CCTTCTACATCAATTCTACTAGAGGAGGACATTACCTCTCAGGATGTAATGCAATATGT 840  
P S T S I P T R G G H Y L S G C N A I C  
841 TCCAATTTGATTCTCGAACACCGGAGGTGCCACAACCTACCACCACCTCCAGTTCCTATT 900  
S N F D S R T P E V P Q L P P P P V P I  
901 TCACAAACTTTGACGAATACATCACCACCTAATCTTGTGTCTTCGGCAATGCCATCATA 960  
S Q T L T N T S P P N L V S S A M P S Y  
961 ACTACCTATAAAGATTGCTGGCTGGCTGAATACTCGGACACAAAGAACAATTGTGGACAT 1020  
T T Y K D C W L A E Y S D T K N N C G H  
1021 GTTGGTGTGATTGCGCCACCAGCTCGCAAGAGGACACGGCAAACCTTACACACGGTTCCAA 1080  
V G V D S P P A R K R T R Q T Y T R F Q  
1081 ACCCTTGAATTGGAGAAGGAATTTCACTCGAACAGATACCTGAACAGAAGACGACGCATT 1140  
T L E L E K E F H S N R Y L N R R R R I  
1141 GAAATCGCCACCAGCCTCACACTCACAGAACGACAGGTAAAGATCTGGTTTCAGAACAGG 1200  
E I A T S L T L T E R Q V K I W F Q N R  
1201 AGAATGAAGGCGAAAAGGGAACCAAAGATGGTGGTGCACGCTGGTGGCAACCAAGAAGAT 1260  
R M K A K R E P K M V V H A G G N Q E D  
1261 CACCACCAAGTGCTTCTGACTACAGAACCTGATGAACACATGAGAATTTTAGCTGTGAGT 1320  
H H Q V L L T T E P D E H M R I L A V S  
1321 GAAGGACTGGCTCAAACCACATCTAGTCCTCTACAATATTAACCTCATTTTGCCCAACAA 1380  
E G L A Q T T S S P L Q Y \*  
1381 CAAGTGACATTTGCGATTGTGTGAGTGATAATATCGCGACGACATTTCCAATCGTTGTAG 1440  
1441 ATTCCGTTCCCTAAAACACCAAATCGCTAAATATGCAATTTTCTGTTCCCTATATTATAACT 1500  
1501 TTTACACATGAACACTCCCATATGTTTGTGTACCATACATGCGATATTTTGTGTGAA 1560  
1561 GGATAAGTTTTTTCATACTTTCTTAACATCAGAAGTGTGCATGATGTTTATACTTGAAGA 1620  
1621 AAAAAATTTGGAAAAGTGCTAAATCTTTTAATTGTAGTAGATATATAATTATAATGAATA 1680  
1681 GGTACATATGCTGCATACTGAGATATTAATTTAAAGTTCTATATGTTTGAGAATTTTTAA 1740  
1741 ACCTGAATTAGCCAATGGAAAGAGTATCTTACAATAGTATTTTCTCCATAAAAAGGCAGT 1800  
1801 CAAAGCAATGCAAACCTTCAATGTGTATAATATGGTAATAAGTGGGAATTTGTGCAGGTT 1860  
1861 GACGTTTGTAATAATATGTCATTTTTTTGGAATTCAGAAATTTACAGTGATTGAATCTAAG 1920  
1921 ACTTGACAGATTTCTTTACAAATGTGAATGGCTTATAACCTTTTGCAGCAAATAACTGCA 1980  
1981 CATAGTGCTTCCACTGGGTTTCAATGTGCATGTAAATACCCTGAAACCTCGAGTATTAAT 2040  
2041 GGCTTTTACATAATGAGGAAGCACTCCAAGTTATGTAAATGTTTTTTGAAGTTTTTTAT 2100  
2101 GCTGCAAAGCCTAAGATTAATAGAACACGTTATTTTCTATGCATGAACAACAGTTTGTA 2160  
2161 AAATATTATATACAAAGATTTTTTCATAATCATTTGATTAGGATTTTGTAGGAATAAGTAA 2220  
2221 CATTTCAAATCTTTACTATAGTAAAGCAATTTGTAAACTGTTTACATATTGGAATAATA

## Kapitel 6: Anhang

---

2281 CAACAATGTTGTATACAACCTTAAATAAAATAAATGAAAACATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 2340  
2341 AAAAAAAAAAAAAA 2353

### *Glomeris marginata Antennapedia*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

2 CACTTTAATCGCTACTTGACCCGAGAAGAAGGATCGAAATTGCACATGCCCTTTGCCTG 61  
1 H F N R Y L T R R R R I E I A H A L C L 20  
62 ACGGAACGCCAGATTTAAATCTGGTTTTGAGAACCGACGAATGAAGTGGAAAAAGGAGAAC 121  
21 T E R Q I K I W F Q N R R M K W K K E N 40  
122 AAAGCGAAAATAGAGGCCGGTGTGACCCCAACCTAGTGGTGGACCAGGTGTCTTGAAAG 181  
41 K A K I E A G V D P N L V V D Q V S \*  
182 TTCGTACAGTGTGTTGTGTACTCCAAAATATAGCTGAATGACAAGGGAGAGAAGACCACTG 241  
242 TGTTCCGAGTACCGAATAGTGCTGTTTTGTGATTTCTTTTATTGTCAAATGATGAAGTAT 301  
302 AATGGTTGTGTGCGTGGCATGAGGCAAGAACTTTGCTGGAAAGTACCACCTTTGCCCGC 361  
362 TTGGTGCCGCCAAAATCGGATACTCAATGGCAGCCATTACGGATTTTTGCAAGGACAACC 421  
422 AATAGAATGGCAACTTGAGCGACTGTTGACCAATAGGATGATGGCTCCACTCCCAAACAA 481  
482 CTTCCTCCTTCCCACGTTTTAAAAGTCGTCTTTGAACTCATCTTGACACTTCCACTGAA 541  
542 ACCAAGTAACAAAAATCTGCGCACTTTTATTATTATTGTAGGAAATCGCTTAATTGTTGG 601  
602 GAAATTTTTATTACATATGCAATTGCAGGTGTTTTCTGTCTGTGTTGAAGTAACAAAT 661  
662 GCGCTGATTAAAGGGGGAGGGGTTGTTGAAAAACAATTTACTTAGTATAATTGGAATTTT 721  
722 TAAAAATATTAATTTCTGGATATAGACAACAATTGCAGTGATTAAATTATGACATTTAAT 781  
782 ACAATTCTGCAAGTTTAAAATGAATACTTCCATAAAATCATCAGAAATTTAAATTTACTG 841  
842 GTATACAAAAATATGACAATATGTTTAAAGAAACGGTCGATTCCCATTATTATTTTACACA 901  
902 CGGGATTTTCAAGAAATGAATTTAAATTTGTTTTATTTTTGACTTGCTGCAATATTACTATA 961  
962 TCAGATATAAATGCGCACTTGTGTTATTTAGAAAAATGTTGCCATAATTTTTGTTTCCCG 1021  
1022 GCACAATGTAGTATAATTTTAGTATCAATACAAATTTT 1060

### *Glomeris marginata Ultrabithorax*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 2    | CACACGAATCATTATTTGACGCGGAGGAGCGGATAGAAATGGCACATGCACTATGTCTG     | 61   |
| 1    | <u>H T N H Y L T R R R R I E M A H A L C L</u>                  | 20   |
| 62   | ACAGAACGCCAAATCAAGATCTGGTTCCAGAACCGAAGGATGAAGTTAAAAAAGGAGATT    | 121  |
| 21   | <u>T E R Q I K I W F Q N R R M K L K K E I</u>                  | 40   |
| 122  | CAAGCTATCAAAGAACTAAACGAACAGGAAAAACAAGCGCAAACCTACAAAGGGCCCCGTC   | 181  |
| 41   | Q A I K E L N E Q E K Q A Q T T K G P V                         | 60   |
| 182  | AGCAGCGACAACCCAGCTGGTGTGGGACAAACGCAGAAGTATGACACCCATAATACGTC     | 241  |
| 61   | S S D N P A G V G Q T Q N *                                     |      |
| 242  | ATCTCATCCGCCAAGGTAATTTCAATCTCCAATTATTATTAATATAGGAGCTATTGCTCA    | 301  |
| 302  | TTTTATTTAATACAGTCGAAACCGTAAAGTGACACCTCGGTTAGTGTACCCTTTACATA     | 361  |
| 362  | CAATTATCATGATTGGAGGTCCCAGCTAGAGAATAGGAAAGACTTTGTGTTAAATATAGC    | 421  |
| 422  | AGTTTATAATCACTTCTGATTTAGTAATTACGAAATTTCTGTTACAGCTAGGAAACAGGT    | 481  |
| 482  | TTTTGTCAGAAGTTGGGTTTCAGCACCTGATATAGTCAACAACCTCCACGTGGCATGTGGT   | 541  |
| 542  | CCTACCCCGTAATCTTTGTGGTTCTGTTATACAGTTTTATTGAAATATACAATAATTTA     | 601  |
| 602  | ACATAGAAAACCTGAAACATGATCAGCCAAAACCTTTTGAGCAGAATTGGCAGTTTTTACTAA | 661  |
| 662  | GCTCCTCCCATTTCCAAGATGGAGGCTTAGAGAGGGAATTAAGTTATGCTGGAATCAACT    | 721  |
| 722  | TTTCTCACTATAAAGGACGCCATTTTTAGAACTTTTTTCAGCCAATGGCAGAACACTGA     | 781  |
| 782  | AAACGGTCAATTGACAATTGCTAAAAAGTTATCAATGGATAAAAATAAATAAAGGAATATG   | 841  |
| 842  | AGCGAATTTATTTATAGATTCCGATAGTCAACTGTTATGCGCAGGTTTTTGTANCATAAA    | 901  |
| 902  | TGCAACAGCTTACAAGAAATTTTCGGTTACAATCAACCAATAAGGGTGGTCCGAGTTGATT   | 961  |
| 962  | GTAACCTGTTTTCGACTGTATTATTATGTAAAGAATGTGAATTTATTTGATTGTGTGTAAT   | 1021 |
| 1022 | GAGGTAAAAGTTTTTCGTTTTTCAAACGTATAATCCCACCCAGTTCGAACATTATCATA     | 1081 |
| 1082 | ATTTGTGCGTGATTGACGTAGAGGAGGGTGTGACGCGTTTCTATTGGTCAATCGGGGTGG    | 1141 |
| 1142 | CTCAATTGTACGTGGGCGGGGCTGTGTGAAACGTGGCAAACCCCTGAAGCGACTCCGAGA    | 1201 |
| 1202 | GCGATGGCGTCTTGTGTTGTTGCAACGCAGCCTAGCGGCAAATCGATGAACATATATATA    | 1261 |
| 1262 | GTCAGTACTTCCCTTTTCAATATTCATTCATTTTGAATAACTCTGTCAATGTTTTT        | 1321 |
| 1322 | AGTTTTCAAACAATTTTAATTTAGAACATTTATTTTTGCATTTTGAGCAAGGAAAGGATC    | 1381 |
| 1382 | TAACCACATGTTTAGCTACACATAATCAGCATATGTAAATAATCTGTGTAAATTACAATA    | 1441 |
| 1442 | ATATTTATAAAAATAAGGATATAAAATGCATTACTGCATGTATAATATAAACACTGTATCA   | 1501 |
| 1502 | TTTCTAATAGGAATTTATAATTTTCAATATTATTAACCAACTCATTCTAGTTTTGAAAC     | 1561 |
| 1562 | TAAAAGTATTTAATTATTACATGTCATTTATAATAAAAGTTTGTAAATTGTATTCTATATT   | 1621 |
| 1622 | ACACGAATTACTTTTTAGTTTAGAACGAATATTGAATTTATAAGTTTTAATATGTACTTAT   | 1681 |
| 1682 | TTTTATTAATATCATGTTAACAGTTCCAATTAAGATTCCAATTTATGCACATAAATGAAT    | 1741 |
| 1742 | TTATATACAGTATCATTTAAAAAGAAATACGGATTCCACGATGTTTTTGTTTTTGATAAA    | 1801 |
| 1802 | TAACTGTAATATTTTAAACCAGCTGTTTATACTTTGAACATTATATATAATATTTATGGGC   | 1861 |
| 1862 | TGCAAAATATTAATATTACCAGTTTTAAATTTGAATATAAGGATTTTTTCTTAGTTTTTA    | 1921 |
| 1922 | TTACTTTTCGAGAAACTCCTGTGATATTACCCCAAAGCCCTTGTGTTGCATGCAGTT       | 1981 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 1982 | TATCAACTGCACTTTTATAACCCCAATCCTGAATGTTTATAAACTGTGCATATACTGTAT  | 2041 |
| 2042 | AAAAAATGAACTCTTTTACAAAACCTATGGGTTGTTTCACTTTTTGCTTTTACAAAAAAGT | 2101 |
| 2102 | TTTATAGATGCCAGGGTCACGAGTTGATGATTTTCGTTCAACAGTTTCTTTCTATCTCAC  | 2161 |
| 2162 | TTTTCTGAGGTTTTCCAAGTGGTTTTGTTCACTTCAGTCTGGGCAACTGGACGATATAAAG | 2221 |
| 2222 | CTCAAATCTGTGAAGCATAGTAACGGATTAGAGGATTAATTTGGTTCCAACAGATGGCTG  | 2281 |
| 2282 | CTTTTGCTGCACCACCAAATCCTCAACTAACGACTTGTTTACTTCAAAAACCTTGTCTAAA | 2341 |
| 2342 | AACCAAATCTGAGATGGGAATTATTTATTGACCTGACTGTAACAGGAATACAGGTGTGGA  | 2401 |
| 2402 | AGTAAAAATTTTTGGGGGAAACAGAGTAAGGGGGCAAACATAAAAAGTGGGAGGTTCTGGC | 2461 |
| 2462 | CTACCTCAGACACCGCCCTAGATGTCTCAAGTTGTCGCCTCACTCCCTATAAAAAGCCCC  | 2521 |
| 2522 | TAAAGCCCCCTAAAGGCACCAAACATTGTTGAGGTCCAACGACCCGTTGTTAATTGTGTG  | 2581 |
| 2582 | GTTGTGGGTCGTCATTGGAAGCAACCAATGGGCACAAACTGCTCCTACCAGTTCCTCTTT  | 2641 |
| 2642 | TTATAGGACACGAGCTTTTGGAAAGGCTTTGTTCCCCTGAACGAATGAAAGGGCGTGAGGT | 2701 |
| 2702 | TAGGGGGTTTGGGACCTTTTT   | 2722 |

*Glomeris marginata abdominal-A*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 2   | CATTTCAACCACTACCTGACTCGGAGAAGGAGGATCGAGATCGCCCATGCCTTCTGTCTG  | 61  |
| 1   | <u>H F N H Y L T R R R R I E I A H A F C L</u>                | 20  |
| 62  | ACCGAGCGCCAAATAAAAATCTGGTTTTCAAACCGACGGATGAAGCTGAAGAAAGAGCTG  | 121 |
| 21  | <u>T E R Q I K I W F Q N R R M K L K K E L</u>                | 40  |
| 122 | AGGGCTGTGAAAGAGATCAACGAGCAAGCACGCAGGAAGCAGCTGAGAAAGAGAGAATC   | 181 |
| 41  | R A V K E I N E Q A R R E A A E K E R I                       | 60  |
| 182 | AGGCAAGAACAAGACAAGCCACCCCAATCTGTTTCCAAGAGCTCTTCTGCTGTGACCCAA  | 241 |
| 61  | R Q E Q D K P P Q S V S K S S S A V T Q                       | 80  |
| 242 | GTTGGTGGTTCACCATTTCTCCTGCCACAAAGCAGCTAGATGGTCCTCTTCGAGACACC   | 301 |
| 81  | V G G S H H S P A T K Q L D G P L R D T                       | 100 |
| 302 | GCAAATGAAAGTCACAAACGTAGAAAGAAGTTTGTGCGATTCCCTTAATTCCTAGATTA   | 361 |
| 101 | A N G K S Q T *   |     |
| 362 | TTACTTCCCTCTATGCCTCCTTTCCACTAATAATCCCTTGTTCCAATGCATCCTTCCCTCC | 421 |
| 422 | CTAACTTCCCTTTATCCATCCCCCTTCTCGGCAGGGGGTTGGTTATATGTCATCACAGTC  | 481 |
| 482 | ACCATCAAGAAGCAGCAGCGATGGAGAACAAAAAGTGTCCGCAAGTGTGTTATATTAT    | 541 |
| 542 | TGTTGTTGTTGTAATTATTCTATATGAGACGTGAGGAGCTTAGGAATGTGTACATAGGC   | 601 |
| 602 | CAACTTGTGCTGCTGAAGTATAGGGAAGTGTATGGCACACAATCCAGAACGAATGCAGT   | 661 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 662  | CTTTTGTCTCTTGTTCGGATGTAAACTTCTTGCAGGGACTTAATCGCACATATATGTGT   | 721  |
| 722  | TCCTACCTGGGTTGTATATAGTGCATTGTCTCTTTTATGTGGGTGCTCAACTCCATTAAA  | 781  |
| 782  | TTCATAATTTCCCATCCAGGAGACACTTGGTGTCTTTTGAACATAATACCTTCACGGGT   | 841  |
| 842  | AAGAGAAGTTTGTACAACAAATGGGAACCTTCTATTATTTTATTGTCATCCTTGAAAGC   | 901  |
| 902  | TAACTGAGAAGAGAAAACCAAATTGCTTAAATTATAATAATCTGGTTTTTTACTGTCATGG | 961  |
| 962  | TTGGGAATGACTGACTAGAAATTTTACACTTTGCACCTACAAAAATTGGATGGAATATAA  | 1021 |
| 1022 | TTAATGATATCAGGATTTGAATATATTGCAATAATGTATTACTAGCTATATTTGGTTCT   | 1081 |
| 1082 | GGAAAGTTGGCTTCAGTAGCTTCCAATGATGGATTGTATCGAGGTATCCATAACAGGATG  | 1141 |
| 1142 | CAAATTCAAAATTAATGCAAAGTACAATATTTAATGGATTATGTGGATTTTGACAAACCA  | 1201 |
| 1202 | CAACATAGAGAAAAATGCACTGTATGAATTAATCCGACAGATTGTGCCTGTTATTTAAGTG | 1261 |
| 1262 | GTGGTCTGACGCTGATCAGGTCCAACAAATGCTATTGCCCTTCTTTCAAAGATCTCCACG  | 1321 |
| 1322 | TGCGCCATATGAACAAGGAAAGATCTCCTATTTGTTTTACATGCATCATAATTAECTTAT  | 1381 |
| 1382 | ACAGTAAACATGTAGTGTGCAAAGCATAAATGAGATCATTCTCTATCATCATCATTTACA  | 1441 |
| 1442 | TTGTTATCAGTATCTGCCTTCCTTGCCTGGATGGATCATCTTCTGGAAAATGTGCTGGAA  | 1501 |
| 1502 | AGATTAAGATTTAGAATCTATTAGAAATTGAGAATAGTAGGGATCATTGAGTTCAATGAT  | 1561 |
| 1562 | AGCACTATTTGCAATTAGAAATGCTTAAATAATTATTACTCCAAAGTGCATTTTCTGGGT  | 1621 |
| 1622 | GGACATGTGATCTATGGTAGAATTGAAGGCTGGTCTTAAGCTGAAAGGCAATGTAAGCGA  | 1681 |
| 1682 | AACAAGTAAAATCGAGTTACAATATTTCTGTTCTCACAACTCTAAAAACGAATACCAT    | 1741 |
| 1742 | TATAATGTTTTTTTTAAATCTTAATAGTATTCTGAATCCTTGCAGAAATGTATAGCTGAT  | 1801 |
| 1802 | CATTTGTTTTTTCGGTGACAATCACACCATTTCGATTTTCAAATACTATCCAAC        | 1853 |

### *Glomeris marginata abdominal-B*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 1   | CTGTTCAACGCCTATGTTTTCGAAGCAAAAACGGTGGGAACCTTGCTCGCAACTTGAACCTG | 60  |
| 1   | <u>L F N A Y V S K Q K R W E L A R N L N L</u>                 | 20  |
| 61  | ACCGAGAGGCAAGTGAAGATCTGGTTCCAGAACAGAAGGATGAAGAACAAGAAAAACAGT   | 120 |
| 21  | <u>T E R Q V K I W F Q N R R M K N K K N S</u>                 | 40  |
| 121 | CAGAGGAATCAACAGGACACCTCAAGCAATGCTGCCAAATAGCTATCTGCTGGATGATCC   | 180 |
| 41  | <u>Q R N Q Q D T S S N A A K *</u>                             |     |
| 181 | CCTGAGATGACGTGATACAAGGCAATCTGACTGGGAGGACAGGAGCAGAAGTAGCCAACA   | 240 |
| 241 | ACCAACATGCAGATCCTAAAGTGATGATGTACAAAATGTAGCAGGTGGGAAGAGTTGCAA   | 300 |
| 301 | AAAAACAAAAATCACAAACGGAGAAGGCAGGAAAGTCACCCACTTTGTCCGCTGTCCGAA   | 360 |
| 361 | CACTTGAATTGGTAGTCTATGGGTTGGCTGAAAACCTGAGCATGTAGTTGTGAAAACCATT  | 420 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 421  | GATCATCATCATCTTCTCCTTCTGTTCTGTTACACTATATATCCCATCTGCCTAACTGTG   | 480  |
| 481  | GTTGATCGCCATAAGCCCCTACCTTATAATGGTTCCCTGAGGACCAATGCAATTGGGTG    | 540  |
| 541  | GGGACTGTTAAGTACAATGTTAAAGATGGATACAAGTGAAGAAGGCAACTAGAACAAC     | 600  |
| 601  | TAGCAGAGATGCTAGTTCAGATGTATGATGAAGCATCAATCTCAACATCGTTCATTGCAT   | 660  |
| 661  | GCTCCGTAACTCAACATCACTACACATTAAGGTTGATACCCACTAGCAAGATAACCAGA    | 720  |
| 721  | GAGATTAAGTAGAAAAGTACCCAAGAAAGAAAGAAGTATGTTTCGTATACTGGTAACCGCAC | 780  |
| 781  | GAGTCGGTTTTTGGCCGAGTAACAAATCTCAGTTTTGGAAATCAGCCAATCGTACTGCAT   | 840  |
| 841  | CATGGTAGTTACAAAGTTTTATGGAAGCTGGAATTGGCTAAATCTTGTATCTTTTCAGTA   | 900  |
| 901  | GTGGTGTTTCATATTTCTAAAAGCTTTCTTGGTTGGGTGTTTTTGCTAGTGCGAATCAGCC  | 960  |
| 961  | TTTCGACACGACACGCGTACATTGAATATGTGAAAGTGCCACTGTGGGCAATGACTGTGG   | 1020 |
| 1021 | GCACTAAGTCTACAAAGAAAGGGCAGAAGGATGTAGAACAATGTATGTAACATAAGCTAG   | 1080 |
| 1081 | AGGCACATCAGGCGTTTGAATTGGAAAATATTAGAGAAAATGAAAGTTAAGCGTATTAC    | 1140 |
| 1141 | GCGTATTACGCGTGATGCTCGTTGAATCTTTTTTCAGCCTAATAGCTTCTCAAACCATTGG  | 1200 |
| 1201 | GAGCTCTTGCTGTTGAATAATGAAATCATTTTCACTTATAAAGTATCCCTACTGTGTAATC  | 1260 |
| 1261 | TTGTTACAAGGTTCTTCACTTGCCTGCGCAAGATACTGAAACAGGCAGTGAAAACATTGG   | 1320 |
| 1321 | GTTTTCTGTTCTGTTGAATTATTTCAGCCTTTAAGGCATTGAAAGACAAAATTAACAGAAT  | 1380 |
| 1381 | GGCTTCTGTTCTGCTGAAAGTATTTTAGCTGAAAATGCCTAGTTTGTCCCTAGCTTATA    | 1440 |
| 1441 | CCTCCACCAAATTGAAACAACGAAAGACCTCAAAATGAACAGATCGAAATTCACCGCGT    | 1500 |
| 1501 | TCCGAATGATGAAAATGAGAAGGAAAATGGAAAGCAGTGAGTCATACGATCGATAAAATAT  | 1560 |
| 1561 | TCCGCTCGATTAATTGATTGATCAGTTGATCGATACGAAGATGCGTTAAAAAGTCGTTCT   | 1620 |
| 1621 | CATCTCGTGTGCGCATGTATGCTGGGACGGCGTGGTTGATCTGTGTTCCCTAGTGAAAAT   | 1680 |
| 1681 | TATTCGCGATCTCTGTCAAGATATCATGTGTAATAAATTGAAGCCAAGCAAACAGGTTTTT  | 1740 |
| 1741 | AGAGAAAAGTTGACGTTGCGTGACATGCAAACACATTTCAAGAAAGTAAATCAAAAAAAAA  | 1800 |
| 1801 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA                                      | 1822 |

*Glomeris marginata even-skipped*

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 2   | ATTGCACGTCTGGAGAAGGAATTCTACAGAGAAAACCTATGTTTCAAGACCAAGGCGTTGT | 61  |
| 1   | <u>I A R L E K E F Y R E N Y V S R P R R C</u>                | 20  |
| 62  | GAACTAGCAGCTTCTTTAAACCTTCCCTGAAGGCACCATCAAGGTTTGGTTCCAAAACCGT | 121 |
| 21  | <u>E L A A S L N L P E G T I K V W F Q N R</u>                | 40  |
| 122 | CGCATGAAAGACAAGAGGCAACGAATGGCCCTCGCATGGCCCTATGCTGACCCTCACTTT  | 181 |
| 41  | <u>R M K D K R Q R</u> M A L A W P Y A D P H F                | 60  |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 182  | GCTGCCTACGTACTTCAAGCTGCTGCTGCATCAGGAGCCTACCCTTACCCTCTTCCAGCC          | 241  |
| 61   | A A Y V L Q A A A A S G A Y P Y P L P A                               | 80   |
| 242  | ACAGCCTTCAACTACTATGGCACTTTAGGCCTAGGTGCTACACACCCTACGGCCTTCCT           | 301  |
| 81   | T A F N Y Y G T L G L G R Y T P Y G L P                               | 100  |
| 302  | TTACGTCTCAGACACCATCAGGAGGTCCATCACCAGCTCCTCCACCTTCTCATCCTCAT           | 361  |
| 101  | L R P Q T P S G G P S P A P P P S H P H                               | 120  |
| 362  | TCTCATGTCCACGTGCAACAACCTCCAACGTCCACTGCTCCACTCTACCTCCGAGCTGCC          | 421  |
| 121  | S H V H V Q Q P P T S T A P L Y L R A A                               | 140  |
| 422  | ACCGAGTCTCCAACCTCAGTTGGGGCCTCCACGTCTCCTCCATCGCCACCCCAACCACCA          | 481  |
| 141  | T E S S N S V G A S T S P P S P P Q P P                               | 160  |
| 482  | CAGCCACAACCACCACCAACAACCAACACCTCCTCCTCAGCACCAGGTACTCTGTTCAAT          | 541  |
| 161  | Q P Q P P P T T N T S S S A P G T L F N                               | 180  |
| 542  | GGTCATTTTGTGTCAGCAGCAGCCGAGCAGCAGCTGCTGCTGCTCATGGACATGGACAA           | 601  |
| 181  | G H F A A A A A A A A A A A H G H G Q                                 | 200  |
| 602  | ACATTGGGTGATGCGTGTGATGTAACCTCTTCTACACTGGTTTGGGGATTCCACTGACC           | 661  |
| 201  | T L G D A C R C N L F Y T G L G I P L T                               | 220  |
| 662  | ACTTCAGCTGCTGCTGCTGCAGCAGCACATCTTGGTTCATGTACGGGACATACGTCAGTG          | 721  |
| 221  | T S A A A A A A A H L G S C T G H T S V                               | 240  |
| 722  | AATGTGGAACCAACGACGAGGCTCTTTCAACCGTACAAGACGGATGTGCCAGAAAGAGCA          | 781  |
| 241  | N V E P T T R L F Q P Y K T D V P E R A                               | 260  |
| 782  | TGACCAAAAAGTGAAGATTTTAAGCCTACTTATATAGAATGTGCTACGTATATAAGACAAG         | 841  |
| 261  | *   |      |
| 842  | ACTAAAATGTTCTTATGTTTCAGTGTTGGTGTGTATGAAAAGAACAGCTTGTGTACATTTT         | 901  |
| 902  | CAACGATAGACCTCGACGATGGAGAAGTGCCCCCTGATAGATGTTTACCTGACATTGCTT          | 961  |
| 962  | CTTGCGCAGTGAAGCCTCGCAATTAGTGTTTCCAAGTTTTGCTGGAAACTGTATACTCTT          | 1021 |
| 1022 | TATAAGTAAAACGGAATATTATTTAACCACCGTGTGATTTGTACAATCCTGTCTTAAAAA          | 1081 |
| 1082 | CAAAATCTCTTTTTTATATTTTTTCTTCTAAATAATTGTATAGTCAGTGCAGATTGTTTA          | 1141 |
| 1142 | AAAAATTGTCGTTATTTTCTTATTAATTATTTTCCATCAGCTTTAAATTTTGATACTGTT          | 1201 |
| 1202 | TAAAATTAACCTTTTATTATTTAATTTGTCGATTGAACCCACAAAATCTCAGAACAATACC         | 1261 |
| 1262 | ATGTTAATTGTTCACTATTCGGGTCATTTGGTACAATTCCAAATTCATCATTTTTCATGGT         | 1321 |
| 1322 | TTAGTGTACAGATTGTGTATAGTTATTGTAATTGTATATATAGAAAAATACATGTCATGT          | 1381 |
| 1382 | TAATCTAAAAACAATGTAGACCAATTTAAATCAAGTGACGCTGGGAAAAAAGGAAATTC           | 1441 |
| 1442 | CCTTATAATTAATTAATCACACGAGCATATTATTATNTCGACGTTTGGTGTTTAGCCTA           | 1501 |
| 1502 | TTATATGTTTCATTGTACATCTAATCAGAATCAATGTGTAATCATTTTTCCCAACTCATTT         | 1561 |
| 1562 | TATGCAGTGACTGTGATGTCTCATTTTTTTAATAACTTGTTTT <b>AATAAA</b> AATTCAACTTT | 1621 |
| 1622 | TGGGTCTGTTACATAAAAATTACAATGAGTTCATTCAATTTACCTAAGCAAATTTCAATTA         | 1681 |
| 1682 | TTGTGACTGGATTTGGCAGGAAATAATAATCACATATTCACCAATTAAGGAATAAAATTA          | 1741 |
| 1742 | TTATCATTTAAGTTTTAATAGTACAAATTGTTTTGTATATATTTTTTTAATTTATGATTC          | 1801 |

## Kapitel 6: Anhang

---

1802 CTGTGAATTCTGACTCACAGCCAATTGCGAATTCAGTACAAATCCTATCGTTAACTGAAT 1861  
1862 TGTATCATATATTAATACTCGTTATATAACCATAAGGGTCATTTTGCAATGATATATGTGT 1921  
1922 TGTATATACATTATATTGTGTTGTGTGGTGGACTTAGCACAAATGAACAGCCTTGTTAGG 1981  
1982 CCACAGAATTACTGAAATACTGACGTGTTAGTGTATATTGTGCCAACTA**AATAAA**TTATT 2041  
2042 GTCGACAGACAGATTAGAAATCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 2095

### *Glomeris marginata hairy-1*

Der vorhandene Bereich der bHLH-Domäne ist unterstrichen und **fett** gedruckt.  
Die Orange-Domäne ist unterstrichen.

1 GCCAGGATAAAATCACTGCCTCCTGGAAGTAAAGTCCCTCATACTGGAAGCACTGAAGAAA 60  
1 **A R I N H C L L E L K S L I L E A L K K** 20  
61 GATCCTGCCAGGCATTCAAAACTGGAGAAAGCTGACATCCTAGAGATGACAGTTCGCCAC 120  
21 **D P A R H S K L E K A D I L E M T V R H** 40  
121 CTGCAAAACGTTTCAGCGCCAGCAGATGGCGCTGGCCGTTGCAACTGACCCCAGTGTGATG 180  
41 **L Q N V Q R** Q Q M A L A V A T D P S V M 60  
181 ACCAAGTTCCGTGCAGGATTTAACGAATGTGCTGCAGAAGTTGCCAGATATGTGGCCAGA 240  
61 T K **F R A G F N E C A A E V A R Y V A R** 80  
241 ATAGACGGAGCAGATGCAGCAGTTCGCCAAAGACTCTTGAACCACCTCGGCCATTGTCTG 300  
81 **I D G A D A A V R Q R L L N H L** G H C L 100  
301 ACAGGCTTGAATTCTCTGTGCACCTGCCCAAGCATTTGGGTGTCTGGTTCAGGACTGCCC 360  
101 T G L N S L S P A Q A F G C L V P G L P 120  
361 ACTTTTGCTGCCCAACTTTATCATTGGTTGCCCCAGTTCATGTGACTTCCCAGCACAG 420  
121 T F A A P T L S L V A P V H V D F P A Q 140  
421 CAACAACAGCAGCAACAAACAGCGCCCCCTTTTCGCAACAAGTATAATTCTGCAAGCAGG 480  
141 Q Q Q Q Q Q T A P P F A T T D N S A S R 160  
481 CTTCTCTACAACATTCAGAGTCTTCAACTGTTTCTGGACGTCTTCAAGGCAACGATGTG 540  
161 L L Y N I Q S L Q L F P G R L Q G N D V 180  
541 ACTTTCTGCTGCCAACATCCCAAACAACATGTCCGCCAACCGCAACACCATCTTCGGTA 600  
181 T F L L P T S Q T T C P P T A T P S S V 200  
601 TCCTCAACATCCATCTCACCATCGGACAATACGAACAGTACTCTAAAACCATAGGGGCA 660  
201 S S T S I S P S D N T N S D S K T I G A 220  
661 CCTTCATCAATTCTCTACCGGAAGCACCTTCTGACAATGATTGGCCGTCAACAACAG 720  
221 P S S I P P T G S T F L T M I G R Q Q Q 240

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 721  | CCATCAATGGCCACTGCAATCCAGAGACCTTTGCCAACATCCACAGCAGTTCCTTATTCA  | 780  |
| 241  | P S M A T A I Q R P L P T S T A V P Y S                       | 260  |
| 781  | TGTAACCCTGAACAAGAGGACAGGAGAACACCGAGTGCATTTCGTAGTGGTGCCCAAGAGT | 840  |
| 261  | C N P E Q E D R R T P S A F V V V P K S                       | 280  |
| 841  | GTGGTTCCTCAAGGACAATCTTGCTGTACCCAGGAGGACCTGTACGGGTTACGGATGCT   | 900  |
| 281  | V V P Q G Q S C C T Q E D L Y G F T D A                       | 300  |
| 901  | TCGGACAGTGATGGTTGCATCGATGCCCATGATGGTGATGTTCTGTCTCCGATGAGGAG   | 960  |
| 301  | S D S D G C I D A H D G D V L S S D E E                       | 320  |
| 961  | AGTGTGGAAGGAGGTGTTGCAACGTCTTCGGTTCAGTGTTCAAGAACCACGAAGCACTA   | 1020 |
| 321  | S V E G G V A T S S V P V F K N H E A L                       | 340  |
| 1021 | GATGGAAAGACACAGACTGAAGCCTATGATCTGTCCCAGCCTTCAACATCAAACGTTGGA  | 1080 |
| 341  | D G K T Q T E A Y D L S Q P S T S N V G                       | 360  |
| 1081 | CCATGTTGCTTACCGGAAAGTGACAAAATGTGGAGACCATGGTAGAATATTGTTGTTCTG  | 1140 |
| 361  | P C C L P E S D K M W R P W *                                 |      |
| 1141 | GTTTTGGAAGCGACACCTGGTGGATTATTATTAGCACAGATCCTGTCAGTTCAGTTGGC   | 1200 |
| 1201 | ACATATTAAAGAAAATAAATCCTGCAAAATTGTACACAAATGTTTTGTGGAAAGCCTTGC  | 1260 |
| 1261 | GGGTTAATGAAAAAATTTTCATGGAATTATTTTTGAAGTATACTTTCCTTTTGGTAAACC  | 1320 |
| 1321 | ACATAAACAAATTTGCATAAATTGGTATAGGAGATTGCAATAATTTTTACCAGCATTTA   | 1380 |
| 1381 | AAATGATTTGAGTGGTTTTGCACCAATCTAAAAATCAAATACTGTAAGAAGAACATTAGG  | 1440 |
| 1441 | TGTGGTTTTTGTTCAGTAAAAGTTTTTAGGAATATGAATATGTATTTGGGATGGTACACAC | 1500 |
| 1501 | AACTAATCTCTCGCAGATGATCTATATTGTATTTGATATGCACGATTTTTTATACCAGTGA | 1560 |
| 1561 | AATGATGTGTTGGTTCTGTTTTGTTCAACACATATAATACTATATAAATAAATATGATTT  | 1620 |
| 1621 | TATATATTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA                                | 1648 |

*Glomeris marginata hairy-2*

Der vorhandene Bereich der bHLH-Domäne ist unterstrichen und **fett** gedruckt.  
Die Orange-Domäne ist unterstrichen.

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 1   | GCCAGGATCAATAATTGCCTGGATGAGCTGAAGGCTCTCATCATGGAAACTGCTCAGACT | 60  |
| 1   | <b><u>A R I N N C L D E L K A L I M E T A Q T</u></b>        | 20  |
| 61  | GAGAACTCTGACGCCTCTAAACTTGAAAAAGCTGACATCTTGGAGCTGACCGTCCAGCAT | 120 |
| 21  | <b><u>E N S D A S K L E K A D I L E L T V Q H</u></b>        | 40  |
| 121 | TTGCGCAGACTTCGAACTCAGAACCGCAGCAGCTGGACATCAGCACCATCATCACCTTCG | 180 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 41   | <u><b>L R R L R T</b></u> Q N R S S W T S A P S S P S         | 60   |
| 181  | TCACCATCATCTACTCGAGTACCTGGCCACCCGAGTGACATTGACCGGTTCCGAGCAGGT  | 240  |
| 61   | S P S S T R V P G H P S D I D R <u><b>F R A G</b></u>         | 80   |
| 241  | TTCAGCGAATGTGTTCAGAGAAGTGTCCACTTACGTGTCGGCCATCAACGGTGTGGACT   | 300  |
| 81   | <u><b>F S E C V R E V S T Y V S A I N G V D T</b></u>         | 100  |
| 301  | GACCTAAGAGTTTCGTCTTCTGGCTCACCTAGCCCAGTGCATTGGAACAATGTCCCCAGT  | 360  |
| 101  | <u><b>D L R V R L L A H L A</b></u> Q C I G T M S P S         | 120  |
| 361  | GCAAGCCCTGCACCTAGTACACCACCACCCACCTGACCACCAGCCGAGGAGACCTGTCT   | 420  |
| 121  | A S P A P S T P P P H L T T S R G D L S                       | 140  |
| 421  | TCCGGCAACAACACTTCCGGGGCATGTCTAGTGGTGTGCTCTCCACTCCACCTCCATCC   | 480  |
| 141  | S G N N T S G A C L V V S S P T P P P S                       | 160  |
| 481  | TCCATCTCTCCTCTGACCTGCGCCTCGGCAACAACACCTTGTCTAAGTCCAGGACCTCAA  | 540  |
| 161  | S I S P L T C A S A T T P C L S P G P Q                       | 180  |
| 541  | GACTTGAGCAACTCTTCCATGTCCTACGTCTGGCCGGAGATGATGTCCCCTACCGGACAC  | 600  |
| 181  | D L S N S S M S Y V W P E M M S P T G H                       | 200  |
| 601  | CACCAACTACCCGTTCAACCTGTTGTCCAGCAACTCCACCCTCAACAGCATCACCACCAG  | 660  |
| 201  | H Q L P V Q P V V Q Q L H P Q Q H H H Q                       | 220  |
| 661  | CAGCACCATCACCACCAAAGGAGGCAATCTTTCAAGATGGTCCATAGTCCAGTTTCTTGG  | 720  |
| 221  | Q H H H H Q R R Q S F K M V H S P V S W                       | 240  |
| 721  | AGGCATGGACAGATGGAAGACGTGGACAACATGTTTGTGCATCACAATGTTTCCAGTCAG  | 780  |
| 241  | R H G Q M E D V D N M V V H H N V S S Q                       | 260  |
| 781  | CCATGGAGGCCATGGTGACTTTTTTAAAAACGTACCGGAGGAAAAGAGACAATTGAACAA  | 840  |
| 261  | P W R P W *   |      |
| 841  | TTTGCAAAATTTGTGCTGCTGTTTTTTAAACACACCACGTGCTTTCATTGTTACCTGTACA | 900  |
| 901  | TTGCATCGTTTGTCTTGTATAAATGAGAATGACCATAATGATATATAATGTCTTCGCC    | 960  |
| 961  | ATTTAAAAAATATGATTCTTTTGAACCAAAAAAAGATGGCAACATGCAATTTAAATATGA  | 1020 |
| 1021 | TCTCAACATTTTTTTACATTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA            | 1067 |

*Glomeris marginata hairy-3*

Der vorhandene Bereich der bHLH-Domäne ist unterstrichen und **fett** gedruckt.  
Die Orange-Domäne ist unterstrichen.

|   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | GCGAGGATAAAACAAAAGTCTGTCCGAGTTGAAGAATCTTATTTTAGATGCCATGAAGAAA | 60 |
| 1 | <u><b>A R I N K S L S E L K N L I L D A M K K</b></u>         | 20 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 61   | GATCCATCAAGAACATCGAAACTGGAGAAGGCGGACATATTGGAAATGGCAGTGAGACAC  | 120  |
| 21   | <u>D P S R T S K L E K A D I L E M A V R H</u>                | 40   |
| 121  | CTGCAATCACTTCACAAGAACCCTCAAACACCTGATGCAAAAGTGATGAACGAGTACAGG  | 180  |
| 41   | <u>L Q S L H K</u> N P Q T P D A K V M N E <u>Y R</u>         | 60   |
| 181  | GCAGGTTACAACGAATGCACCAGAGAAGTGACTCGTTTCTTGGCAACAGCACCAAACGTT  | 240  |
| 61   | <u>A G Y N E C T R E V T R F L A T A P N V</u>                | 80   |
| 241  | GATGTCACAACCCGCACTGACCTACTGGGTACCTGGCCAATCGACTGACTTCGGCCGCC   | 300  |
| 81   | <u>D V T T R T D L L G H L</u> A N R L T S A A                | 100  |
| 301  | ATCGAAACCCCACTACTGCAGCGACACCTGCCGACTCAACTTCACAGTCGCAGCCTGCT   | 360  |
| 101  | I E T P T T A A T P A D S T S Q S Q P A                       | 120  |
| 361  | GTCAGTACGCCCCCTGGCGGCAACAACGTAACCAAACCGCCATCCGAGTGCCCGTTTCC   | 420  |
| 121  | V S T P P G G N N V T K P A I R V P V S                       | 140  |
| 421  | ACAGTCATCCCCATAACTTTAGGGTGTGGTAGTAAACAGGGACAGGGGCAGGGCGTGAGT  | 480  |
| 141  | T V I P I T L G C G S K Q G Q G Q G V S                       | 160  |
| 481  | CACGTGGCCATTTTCGGCCACGCCCACCGGAAGTGGCGGCTTGCAGTTGATACCGACAAGG | 540  |
| 161  | H V A I S A T P T G S G G L Q L I P T R                       | 180  |
| 541  | TTACCTAATGGCGACCTGGCCCTGGTGTGGCCCAACGACAACCTGAGTAGTTTGTGTAAC  | 600  |
| 181  | L P N G D L A L V L P N D N L S S L L N                       | 200  |
| 601  | ACGTTGTCGGTTGCAACGGTATCAGCAATGGCGGCGAAGGGCGTGGCTCAAAGAAAAGAT  | 660  |
| 201  | T L S V A T V S A M A A K G V A Q K K D                       | 220  |
| 661  | GGCGACCAGGAACAACCGACAAGTTCATGCTCAAGTTCAGCGAATCACAACCTGCTCAT   | 720  |
| 221  | G D Q E Q P T S S C S S S S E S Q P A H                       | 240  |
| 721  | AATAATGATGATAATAATAACCATGATGCAAGTGGTGCAACAAATTCAGCAAGTGTGG    | 780  |
| 241  | N N D D N N N H D A S G A T N S A S V W                       | 260  |
| 781  | AGGCCATGGTGATTGAACATTGGACGGCGGCCATCTTGGATTTCATGCTTCCATTTTGAAA | 840  |
| 261  | R P W *   |      |
| 841  | TGCTGTACTAATAATTAATAATGGCGCCCATCCAGAGGGAACTTTCCTTAAGCTATGTA   | 900  |
| 901  | CATAAAGTGGTATATTAATCCCCATATTTTGGAGGATTTAAAATGTTTTGTATATATCC   | 960  |
| 961  | AATCACATGCTTGCCTTAATGTTTTTAAACTCGTTCTTGAAAACCTATTTCCATACTGTTA | 1020 |
| 1021 | TTCCTGTTGAGATGTTGCATATGTATATATTTTTTCTAATGTGAATTATGTACCAACAA   | 1080 |
| 1081 | AATAAGCATGCAGTTGTTGCAAATAAATCTTGTTAATGCATATTTTCTACATTAAAGCT   | 1140 |
| 1141 | ATTATACCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA                | 1187 |

## Kapitel 6: Anhang

---

*Glomeris marginata runt*

Der vorhandene Teil der Runt-Domäne ist unterstrichen.

Das VWRPY-Motiv ist **fett** gedruckt.

```
1  TCCAACAAGACCTTGCCCGTAGCCTTCAAGGTCGTCGCCCTGGGGGACATCAACGACGGC      60
1  S N K T L P V A F K V V A L G D I N D G                                20
61  ACCATAGTGACCATCAGGGCGGGCAACGACGAGAATTACTGCGCCGAGTTGCGCAACTGC      120
21  T I V T I R A G N D E N Y C A E L R N C                                40
121  ACTGCCATCATGAAGAACCAGATCGCCAAATTCAACGACCTGCGATTCGTCGGCAGGAGT      180
41  T A I M K N Q I A K F N D L R F V G R S                                60
181  GGCAGAGGCAAGAGTTTCAACTTGACGATCACGGTGAGCACAAACCCACCTCAAGTGGCC      240
61  G R G K S F N L T I T V S T N P P Q V A                                80
241  ACCTACGGAAAAGCGATTAAGGTGACCGTCGATGGACCAAGAGAACCCAGAAGTAAGCCC      300
81  T Y G K A I K V T V D G P R E P R S K P                                100
301  CATCCTTCGCAAGCTCTTCACTTGCCCGTCACCCCGACCCCTCATTGGGGCCATTACGGA      360
101  H P S Q A L H L P V T P D P H W G H Y G                                120
361  CCCCATACACGCCGTACCTGCCAACTTCTTCGCTGCAATATTCGGGCGAACACGTCGCT      420
121  P H Y T P Y L P T S S L Q Y S G E H V A                                140
421  CAATCGGCCACCATCCTCTCCCACGATCCTTCCCATCTCGGTGCAGAACTGCCGGTCAGT      480
141  Q S A T I L S H D P S H L G A E L P V S                                160
481  GTCAGTACGAGTGACTTCGCGCTGAACCCTCACGCAGCAGCCCTGGCGAACGCCGTGTCG      540
161  V S T S D F A L N P H A A A L A N A V S                                180
541  TTCAACAAGGAGCTGGAGAGCCACCCGGCCATCGAGTTCCCAATGGACAGAGACCCTCCC      600
181  F N K E L E S H P A I E F P M D R D P P                                200
601  CACCTGTCTTCTCTGAGACTGTACCCCGCGTCGACGACGGACTTTCGTTTCTCGCCGCAC      660
201  H L S S L R L Y P A S T T D F R F S P H                                220
661  GTCAACGCCACCGTTTCCACGTACCCAACGCCACGACCACGGTGAGCCTGTTCGCCGGA      720
221  V N A T V S T Y P T P T T T V S L F A G                                240
721  CACCCAGTTACCCTCTTCTGCCACCCACCACCACGGCTACTATAGTTCGGCCACGTCC      780
241  H P S Y P L L P P H H H G Y Y S S A T S                                260
781  AACGCCAGCACGTACTTCAACCCGTCGATGATCCCCAGCTCCTTACTCTACCCCTCACCTG      840
261  N A S T Y F N P S M I P S S L L Y P H L                                280
841  TACCAAACGGTGCCTCAGTCGAGCTTCACTCCAGCCTCATGCTGCAAGGCAACGAGCTG      900
281  Y Q T V P Q S Q L H S S L M L Q G N E L                                300
901  CGCAACGTCATGGAATCGCTGATACAGCAGCCCCGAGGCGAGGGAAGGGCCATCGAGGGT      960
301  R N V M E S L I Q Q P R G E G R A I E G                                320
```

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 961  | TCTTCGACGGCCAGTCAGGCCAGCATCCAGGAGGAGACGCAGCAGAGCCCGGCCGCGGCC  | 1020 |
| 321  | S S T A S Q A S I Q E E T Q Q S P A A A                       | 340  |
| 1021 | ATCGTGGCGTCTTCGACGAGCGCCACCAACGGACACTCGCACAGCCAGTCGGAACAGAGT  | 1080 |
| 341  | I V A S S T S A T N G H S H S Q S E Q S                       | 360  |
| 1081 | GTTTGGCGGCCATATTCGCACGACGCCATGTCTAGCCCCGTCGTCGTCGTCGTTAGTGG   | 1140 |
| 361  | <b>V W R P Y S H D A M S *</b>                                |      |
| 1141 | ATGGACGTGCGAGTGCACGCAGTGTGCCGCGTGGTGC GGACAGTGGCCGGGACGGGGCGG | 1200 |
| 1201 | ACGGTGC GTGCGACGACCAACCGGACACGGCAAGACGCACCAAAC TCCAACCGGTGACC | 1260 |
| 1261 | GTTGCCTTTATTTTCATATTCATGCTCTGTAAAATAAAAATACAAGCGCAGCATATGGCGG | 1320 |
| 1321 | CCCTGTAATGCGGGGGTCCCGGGTCCCAGTACCGGACCGTACTGTAACAAACCTCTTA    | 1380 |
| 1381 | CCCAACATTACAAAATTTTCAATCCAAATCATATTTTCATGAAAGCGATGCATGTATTGGA | 1440 |
| 1441 | ACCTTGGTCCACTACAGCTGTTCCACAGCCCTGTCCGAGCAGCAACACATTCCTGTGCAA  | 1500 |
| 1501 | ATAATCTAGAGTCTATGAAAATGTGGGTCTCGTAACTTTCAGGGAGTTTTGGGGTCCACT  | 1560 |
| 1561 | TAAAAATTGTAATTAAC TTTTCCGTATATTGATCATTATTTTTAAGGTGTTCCAAAAGA  | 1620 |
| 1621 | ATTGCATAAGTCTGTGCCATTTTTTTCATGCTGTCTCAACAGGACTTGTATAATAGAATTT | 1680 |
| 1681 | TTGCC TACATAAAATAACGTAAAGAGGGGATTACTGTGCATATTGTCAAATTTGGAAAC  | 1740 |
| 1741 | CACCACAATTGCATGGCAGTTGTGAACCCAAATACCCCACTGGAGTTGTGGTTAAAATGA  | 1800 |
| 1801 | ACGGGCAATAGTGGACCACTGTTCCAAAGTTACACACCTTGGGT TACACATAACTTGGTT | 1860 |
| 1861 | TCTTGCAATAGGGTGGGTGCATGGCATAGGGTTAAAATTGAAAATTCAGTTCAATTCTC   | 1920 |
| 1921 | CCAGTTGGTACAATGGGGTAAGAGGGTTTTGTCCATATGTATAACAATGGACGATTGAGAC | 1980 |
| 1981 | GGCCGGGTTTAGCGCATATAGTACCCGTTTGCCCCGTGTCTGTGATGCGGCCACACCGAA  | 2040 |
| 2041 | CCTGAAACGAACCTTGTAATGGGGGGAATTTGGACGTTTGTACAGTGAAC TCTTAATTTT | 2100 |
| 2101 | TAGAGGTGGAATTTGTAATAATTAAGACCGATCGTTCTGTA ACTGCGCTACACGTTTCCG | 2160 |
| 2161 | TTCCAAAACAAAAACCCCAACCTGGAGTCTTTCTTGTATCACTTGGCAAGAATCAAGAGC  | 2220 |
| 2221 | CTGCGTTTGCCCTAAACGCTATCCAAATAGTGAATGACAAAGCAAGATGGCCGCCATTTT  | 2280 |
| 2281 | GATCAAGCACCTTTCGAAAGTTCTATTTGGGAAGAAAGAGAAATAAATATGAGAAAGCGG  | 2340 |
| 2341 | CAACACCGACCGAATTAAGGCCTTATTTTCGGTTTTGTGATGTTGTATAGGATATGTGCG  | 2400 |
| 2401 | TGTATGTGATGTGTGTGTTGTTTCCCAAACATGTTGTGTGCTCAAAGGTGGCCACGA     | 2460 |
| 2461 | TTCCCTTCGCTTTGTTGGGTGAAGTGCGTGGGGCTGGGGCTCCCCCTCTTGTACAAG     | 2520 |
| 2521 | TAGCATGTGCACCTAGTATTTTATATATTTAACTTCCATCTAATTTTGTAACTTGCTTT   | 2580 |
| 2581 | CTGCGACAATATTTCGAACAGATTATATTTAAATCGAAATCTACATGTGATTTTTGTACA  | 2640 |
| 2641 | AGTAAAGAGATAATTTGCACACGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA        | 2695 |

## Kapitel 6: Anhang

---

### *Glomeris marginata odd skipped*

Der Bereich der Sequenz repräsentiert Teile der drei C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-Zinkfinger  
Konservierte Cysteine (C) und Histidine (H) sind **fett** gedruckt.

```
1 CAAAGACGGTTCACCAAGTCTACAACCTGTTGATCCATGAGAGGACCCACACTGACGAG 60
1 Q R R F T K S Y N L L I H E R T H T D E 20
61 AGGCCCTACTACTTGTGACATCTGCGGAAAGGCGTTCGCGGCCAGGACCACCTCAGGGAT 120
21 R P Y T C D I C G K A F R R Q D H L R D 40
121 CATAGGTACATTCACTCGAAGGAGAAGCCGTTCAAGTGCTTGGAGTGTGGCAAGGGCTTC 180
41 H R Y I H S K E K P F K C L E C G K G F 60
181 TGCCAATCGAGGACCCTTGCAGTGCATAAGATCCTGCACATGGAGGACTCTCCCCACAAG 240
61 C Q S R T L A V H K I L H M E D S P H K 80
241 TGTCCACGTGTGGA 255
81 C P T C G 85
```

### *Glomeris marginata odd-paired*

Der Bereich der Sequenz repräsentiert Teile der drei C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-Zinkfinger  
Konservierte Cysteine (C) und Histidine (H) sind **fett** gedruckt.

```
1 TGCACGAACCATGCGTGTCTTCTGGCATAATTGTGCCAGGAATGGACGACCTTTCAAGGCC 60
1 C T N H A C F W H N C A R N G R P F K A 20
61 AAGTACAAGCTGGTCAATCACATCAGGGTTCACACGGGAGAGAAACCATTCCCCTGTCCT 120
21 K Y K L V N H I R V H T G E K P F P C P 40
121 TTTCCAGGCTGTGGCAAGGTGTTTCGCACGCAGCGAGAACCTCAAGATCCACAAACGCACA 180
41 F P G C G K V F A R S E N L K I H K R T 60
181 CATACCGGTGAAAAGCCGTTCAAGTGCGAATTTGAAGGCTGTGACCGACGTTTCGCCAAC 240
61 H T G E K P F K C E F E G C D R R F A N 80
241 AGCTCCGACCGCAAAAAGCACTCGCATGTGCACACCAGCGACAAGCCTTACAACCTGCAAG 300
81 S S D R K K H S H V H T S D K P Y N C K 100
301 ATCCGTGGC 309
101 I R G 103
```

## Kapitel 6: Anhang

---

### *Glomeris marginata pairberry-1*

Die Paired-Domäne ist unterstrichen.

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen und **fett** gedruckt.

Das Oktapeptid ist **fett** gedruckt.

```
1 AGGCCCTTACCTAACCACATAAGGCTGAAGATTGTGGAAATGGCTGCTGCTGGAGTTAGG 60
1 R P L P N H I R L K I V E M A A A G V R 20
61 CCTTGTGTTATTTCAAGACAACCTCAGAGTTTCACATGGTTGTGTATCGAAAATACTCAAC 120
21 P C V I S R Q L R V S H G C V S K I L N 40
121 CGATATCAGGAAACTGGGAGTATCCGTCAGGTGTAATCGGTGGTAGTAAACCTCGAGTT 180
41 R Y Q E T G S I R P G V I G G S K P R V 60
181 GCAACTCCAGAAGTGGAAAAGAAAATAGACGATTATAAGAAAGACAACCCAGGGATTTTC 240
61 A T P E V E K K I D D Y K K D N P G I F 80
241 AGTTGGGAAATCAGAGACAGGCTCATCAAGGTAGGAGAGGATGGGATCTGCGATAGGACC 300
81 S W E I R D R L I K V G E D G I C D R T 100
301 AGTGCCCAAGTGTTCAGTTCAATAAGCCGTGTACTTCGAGGTGGAAAACCAGGCAGAAGC 360
101 S A P S V S S I S R V L R G G K P G R S 120
361 GAAGGACCCGATGCCTTCCAGGATGGTTCCAGAAAGGACCACACTATAGATGGCATCCTA 420
121 E G P D A F Q D G S R K D H T I D G I L 140
421 GGTGGTAGAAGCAGCAACGAAGACTCCGATACCGAGTCCGAACCCGGCTTGACCCTCAAG 480
141 G G R S S N E D S D T E S E P G L T L K 160
481 AGGAAACAACGAAGGAGTAGGACAACCTTCACAGCGGAACAACCTGAAGAGCTGGAAAGG 540
161 R K Q R R S R T T F T A E Q L E E L E R 180
541 GCCTTCGAGAGGACCCAG 558
181 A F E R T Q 186
```

### *Glomeris marginata pairberry-2*

Die Paired-Domäne ist unterstrichen.

Der vorhandene Teil der Homöodomäne ist unterstrichen und **fett** gedruckt.

Das Oktapeptid ist **fett** gedruckt.

```
1 CGGCCTCTCCGAACCACATCCGATTGAAGATAGTGGAGATGGCGGCTGCCGTAATAAGG 60
```

## Kapitel 6: Anhang

---

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 1   | <u>R P L P N H I R L K I V E M A A A V I R</u>               | 20  |
| 61  | CCCTGCGTAATTTCCAGGCAACTGAGGGTCTCGCACGGCTGCGTATCGAAGATACTCAAC | 120 |
| 21  | <u>P C V I S R Q L R V S H G C V S K I L N</u>               | 40  |
| 121 | CGTACCAGGAAAACCGGAAGTATCCGTCCAGGTGTAATCGGAGGGAGTAAACCTCGAGTG | 180 |
| 41  | <u>R Y Q E T G S I R P G V I G G S K P R V</u>               | 60  |
| 181 | GCCACCCCGGAAGTGGAGAAGAAGATAGAGGAGTACAAGAGGGATAACCCGGGGATCTTC | 240 |
| 61  | <u>A T P E V E K K I E E Y K R D N P G I F</u>               | 80  |
| 241 | AGCTGGGAGATCCGCGACCGACTGATCAAGGCGGTGCGTGGACGTTTACACGTGCAGGAA | 300 |
| 81  | <u>S W E I R D R L I K A V G G R L H V Q E</u>               | 100 |
| 301 | GGTGCTGCGACAGACCATCTGCACCTTCCGTCTCCTCCATCAGCAGGGTGTACGCGGA   | 360 |
| 101 | <u>G V C D R P S A P S V S S I S R V L R G</u>               | 120 |
| 361 | AGGAGTAGGAGTGACAACACACCTGACCATCTACTCCTCGACGAAGGTGTAAAGAGGGAC | 420 |
| 121 | R S R S D N T P D H L L L D E G V K R D                      | 140 |
| 421 | GAGTCGATGACCGCCACCAGGGGCGCTGTCTTCAACAGCAAACACACCATCGATGGCATA | 480 |
| 141 | E S M T A T R G A V F N S K H <b>T I D G I</b>               | 160 |
| 481 | CTGGCCGACAAGAAGGAAGATAAGGACAGTGAGAACTCGGACTGTGACTCGGAACCTGGA | 540 |
| 161 | <b>L A D K K E D K D S E N S D C D S E P G</b>               | 180 |
| 541 | ATAGCCTTAAAACGGAAACGGAGGCGGAGCAGGACAACATTTACCGCCGCCCAATTGGAC | 600 |
| 181 | I A L K R K <b>R R R S R T T F T A A Q L D</b>               | 200 |
| 601 | GAATTGAAAAGGCCTTCGAAAGGACCCAG                                | 630 |
| 201 | <b><u>E L E K A F E R T Q</u></b>                            | 210 |

*Glomeris marginata sloppy paired*

Die vorhandene Sequenz repräsentiert einen Bereich der Forkhead-Domäne.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 1   | CTTATAATGATGGCGATCCGGCAAAGTCCCGAGAAAAGACTCACCCCTAAGCGGCATCTAC | 60  |
| 1   | L I M M A I R Q S P E K R L T L S G I Y                       | 20  |
| 61  | GAGTTCATCATGAGGAACTTCCCTTACTACAGGGAGAACAACAAGGTTGGCAGAACAGT   | 120 |
| 21  | E F I M R N F P Y Y R E N K Q G W Q N S                       | 40  |
| 121 | ATCAGGCACAACCTTAGCCTGAATAAGTGCTTCGTCAAAGTCCCAAGGCACTACGATGAC  | 180 |
| 41  | I R H N L S L N K C F V K V P R H Y D D                       | 60  |
| 181 | CCCGTAAGGGCAACTACTGGATGTTAGACCCTTCTTCGGACGATGTG               | 228 |
| 61  | P G K G N Y W M L D P S S D D V                               | 76  |

## Kapitel 6: Anhang

---

*Glomeris marginata hunchback*

Die C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-Zinkfinger sind unterstrichen.

Charakteristische Cysteine (C) und Histidine (H) der Zinkfinger sind **fett** gedruckt.

5' UTR-TypA:

TTTATCCATCACTCAATGAATCATTA AACCATCTGGGAAAAGGTTTTTATCTTCCTATTT  
TAAAGGTGACATTGCCATTGATTCTT CACAAAGTCCCATATTATCTACTAAAAAGGTT C

5' UTR-TypB:

GGCCAATGCACATCCACCTCCTTCATCAATGAGAAGTCTTTTCGTTTTTCTTGCTTCGTC  
TTCCGTTT

C

TGAAACAAGTGTT CATGAAGTCCGAATGTACATAACGACGTTTCTGATGATGTTCCATCG  
CGGTTGATGGACGCTCTCGATGCTGACCAGTATGGCAATGGCCACTACAACGACCACAGCC

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 1   | M D V S M L T S M A M A T T T T T A                          | 18  |
|     | CAAGGTCTCTTGCATGGACACCCAGCTTTGGACCTGAGGACCTCTCCGATTGGCTTCGAA |     |
| 19  | Q G L L H G H P A L D L R T S P I G F E                      | 38  |
|     | GCCACCATGAGCGTTGCCATGGAAGTGGAGAACAAGCTGAAGGCAGAGGCTGATGGAAGG |     |
| 39  | A T M S V A M E L E N K L K A E A D G R                      | 58  |
|     | GCTATTGTGGAAGAAAGCATTGGGAGGACTTTGGCGTCTCCTCTAGTCGATGGAACCAGA |     |
| 59  | A I V E E S I G R T L A S P L V D G T R                      | 78  |
|     | GAATCAAGGTCCAGGTCTTCTTCTCCAGTGACACCTGTACGTCCACCATCATCCACTAAA |     |
| 79  | E S R S R S S S P V T P V R P P S S T K                      | 98  |
|     | GACCACCACAATCATTCCCACGAAGAAGATGAATACGATTACGATGATGGTGAATTGGAA |     |
| 99  | D H H N H S H E E D E Y D Y D D G E L E                      | 118 |
|     | CGCCGCAAATCCAACCATCTGGATGAAGAAGTAGGGGATTGTGCCAACTCTGATGTCGAT |     |
| 119 | R R K S N H L D E E V G D C A N S D V D                      | 138 |
|     | GGGCAGTTGAGTCCTGATGATGACATGGACATGGACGATGTGTCCTCTTGTTCTCCTCTG |     |
| 139 | G Q L S P D D D M D M D D V S S C S P L                      | 158 |
|     | CCACCAACCGCGATAACAACCCGAGCGAGGAGGACGAAGACCCTCTTGGTCGGTTGAGG  |     |
| 159 | P P T A D T T R S E E D E D P L G R L R                      | 178 |
|     | CACTCCGAAGATGGTGTACGTACGATTACCGGCCACATCCTCTGAATGGTTCACTAGGT  |     |
| 179 | H S E D G V T Y D Y R P H P L N G S L G                      | 198 |

## Kapitel 6: Anhang

---

GGGAAAGATGGTGGTACCAATAACGGGGAACAGAGGACACCCGGTCAGGTTTACCAGTGC  
199 G K D G G T N N G E Q R T P G Q V Y Q **C** 218  
CACGCGTGCAACTTCTCGTTTACGTCCAGGTTCCACTTCAACTCTCACATGAACACCCAT  
219 H A C N F S F T S R F H F N S H M N T H 238  
TGCGACCACAAATGTGGTTTATGCGACTACAGGTCTAGGACCGAAGGCCGTCTCAAAGG  
239 C D H K C G L C D Y R S R T E G R L K R 258  
CACGTCAGGGATTTCCATTCGGACACTACGCTGACTCTGGCAGATGGTGGTGCATCGAGG  
259 H V R D F H S D T T L T L A D G G A S R 278  
CCCTTGCGTGATGGCAACACGCAGAACAACCTGAAGACCTACAAGTGAAACAATGCAAT  
279 P L R D G N T Q N K L K T Y K C K Q C N 298  
TTTGTGGCCACTGCTAAGACCGACTTTTGGGAGCATAGCAAGACCCACATAAAAGCCGAG  
299 F V A T A K T D F W E H S K T H I K A E 318  
AAGTTGCTATCGTGTCCCAAATGCCCTTTTCGTCGCTGAATACAAGCACCCTTAGAATAC  
319 K L L S C P K C P F V A E Y K H H L E Y 338  
CATCTTCGCAACCACTTTGGCTCGAAACCGTTCAAGTGCCCCAAGTGCAACTACTCTTGC  
339 H L R N H F G S K P F K C P K C N Y S C 358  
GTTAACAAGTCCATGCTCAACAGTCACATGAAGTCGCATTCCAACATCTACCAGTACAGG  
359 V N K S M L N S H M K S H S N I Y Q Y R 378  
TGTTCCGACTGCGCTTACGCCACAAAGTACTGCCACAGTTTAAACTTCACTTGCGCAAG  
379 C S D C A Y A T K Y C H S L K L H L R K 398  
TACGGCCACAAGCCGTCGACTGTCTCAACGCTGATGGTACCCCAACCCGATGCCCGTC  
399 Y G H K P S T V L N A D G T P N P M P V 418  
ATAGATGTGTATGGTTCCAGGAGAGGACCCAGGATTAGGAAGAACCACGAGGATCTTGTG  
419 I D V Y G S R R G P R I R K N H E D L V 438  
TCCGGCTTTTCTCCTTTTCGGCCCTCTTCAGTTGTCGCTTAACGGCGGAGGAATCGCGCA  
439 S G F S P F G P L Q L S L N G G G I A P 458  
ACTCCTGCTTCCGCGGCTGCTGCTGGCCTTCCCACGTACCTCTTCCCGGCCAATGTTAAC  
459 T P A S A A A A G L P T Y L F P A N V N 478  
GTAATCAATGGATAACCATGGTATGGGATTAGGTAAGGCATTTGGCAGAGATGTGAAGGAA  
479 V I N G Y H G M G L G K A F G R D V K E 498  
GAATTGCCTGATAATGGCAGATATCCTCCAGGAGGAGGTGGAGGAGGTGGTGGTGGCGGC  
499 E L P D N G R Y P P G G G G G G G G G 518  
GGCGGTGGTGGTCATCCAGGGGACATTATGAGGTGCAACTTGTGCGAGTTTGTACCGGAC  
519 G G G G H P G D I M R C N L C E F V T D 538  
GTGCGCGAAACTTTCACGAAACACATGCTCCTCCACGCGGCAGCCGAGAACCAAGACCTT  
539 V R E T F T K H M L L H A A A E N Q D L 558  
TGCAACTTATACGGAATCACTTCGGAAGCCCTAATGCAAGAGCAGCAGCAACTTGCTGGA  
559 C N L Y G I T S E A L M Q E Q Q Q L A G 578

## Kapitel 6: Anhang

---

ACCAACGGACCATCTTCAGGACCATCGCACCACCAACACCCAAGTCCTCGTCATCAGAAT  
579 T N G P S S G P S H H Q H P S P R H Q N 598  
AACTCCCGCTGTGTCTTCAGCGCAGATGCAGTTGTCCCCTCATCAACGTGTTCCCTCCG  
599 N S P L C P S A Q M Q L S P H Q R V P P 618  
CACCCACCACCTCCGCTAGGTCCACATCCGCCTATTCCTCCACCACTTCCTCAGTCGTCT  
619 H P P P P L G P H P P I P P P L P Q S S 638  
GAGCTTCTGTGGTACCATCCACGCACCAAGTCGGGTGCCACCCAAGACACGCAACCCCC  
639 E L L V V P S T H Q V G C H P R H A T P 658  
GAGAACCACACGTTCAAGCAAGAGAATGGTGGATCTGTACGGCCACCCACATACCCCA  
659 E N H T F K Q E N G G S V R P P H I P P 678  
AAGTTCACCATCAACAGATGCAACCCACGTTCAACACCCCCCGGAACACCTTCGGATG  
679 K F H H Q Q M Q P H V Q H P P E H L R M 698  
TTCTCGGAAAACCTTTCGGTTCGATCCATGTTTCGTGAAAGAGCTTCTGCCTCACTCTTC  
699 F S E N L S V R S M F V K E L L P H S F 718  
GCTTCGTTCAACCCGATCACGGGACCGTTGATGACCTCTGGGATGCAGTCGGTGATGGTT  
719 A S F N P I T G P L M T S G M Q S V M V 738  
GCAGATGGTGTCAAATCCCGATGACCTCATCTTTTTCTGCTGTCTCACTGGCCACTAGC  
739 A D G V Q I P M T S S F S A V S L A T S 758  
AACAGCTCTCCTACCATGACTACTGCGACATCCAGGGCAACGGTGTGCACCACGTTTCG  
759 N S S P T M T T A T S R G N G V H H V S 778  
GGGAGCTCCGTTGCGAGCAGCGCAGTCAAAGTGGAGGAAAGGGTGACATCTCAGCGACAG  
779 G S S V A S S A V K V E E R V T S Q R Q 798  
GGACACGGGCAATCTCCTCTAGCTTTAGATCTCAGCAGCTCAAAAAACAACGGCAGCCGT  
799 G H G Q S P L A L D L S S S K N N G S R 818  
CTCTTGAAGGATCCTGTACGGCTTCCGGGTCCGCTGCGTACTCCCCGCCGAGCAGCAG  
819 L L K D P V T A S G S A A Y S P P Q Q Q 838  
CTCCGTTCCAGCGCTTCACCGCCAGAGTCTCCTCCGGTAGCTGCAAGTCAAGTTGTGCGA  
839 L R S S A S P P E S P P V A A S Q V V A 858  
AGCACCGTGTCCCCTCCAAGCAAGCACAGGCGTAAAGGTAAGCGTTCAAGTTGGACCGC  
859 S T V S P P S K H R R K G K A F K L D R 878  
ATCTGCATGAAGCTCAAAGAGAAGTTCACGGCATCATCTCCTTCGGAAGCCGGCGGCGAA  
879 I C M K L K E K F T A S S P S E A G G E 898  
GAAGGTGGCAGGTTCCCGCACGGAAGCGGTGAAGCGGATGATGGCGCGATGACCGACAAG  
899 E G G R F P H G S G E A D D G A M T D K 918  
GAACAGGATAGTAACGATTTCGACGGACAGGGATAGAGAAGTGGATGGACCGAATGGTGAT  
919 E Q D S N D S T D R D R E V D G P N G D 938  
TCATCGTGAAGTCCCTCGATGCCTGTTCCAGCCATAACCCACTACTAAGTTACTTGCGGGG  
939 S S W K S S M P V P A I P T T K L L A G 958

## Kapitel 6: Anhang

---

AATGCAACAGCGGGGCTTCTGGCCGATGCAGTGGAAGGGTAAATGGGCGCTCGCATCGA  
959 N A T A G L L A D A V E R V N G R S H R 978  
CACACGTTAGCGGCAACTAGAAGTTCGTTGGGTAATAACATTGCCGTGGACTTCGAAGAC  
979 H T L A A T R S S L G N N I A V D F E D 998  
CAGCAGAACTGGAAGGAAGCTTACGAATGCCAGTACTGCGACATGGCGTTTAAGGACTGT  
999 Q Q N W K E A Y E C Q Y C D M A F K D C 1018  
GTCATGTACACGGTTCACATGGGCTACCATGGCTTCAAGGATCCTTCAAGTGCAACATG  
1019 V M Y T V H M G Y H G F K D P F K C N M 1038  
TGTGGCCATCAGGCAAAAGACAAGGTAGCATTCTTCTTGCACATTGCCTGCACAGCTCAC  
1039 C G H Q A K D K V A F F L H I A C T A H 1058  
TTGTGAATTGTTGCATAATATCGGTCAGTTGGCCGGTAGTAAAATGGTTCCTTGAGAAAT  
1059 L \*  
TGTTCAATGTCTGTGAGGCGGCATGTGCAAGTAAGTAATGTGTACGGATGGATGGATTCC  
AAGTTCCTATATATACA

*Glomeris marginata* Krüppel

Die C2C2-Zinkfinger sind unterstrichen

Die charakteristischen Cysteine (C) und Histidine (H) der Zinkfinger sind **fett** gedruckt.

2 CTCACTATAGGGCTCGAGCGGCCCGCCGGGCAGGTGGAATTGGAAAGAAGAAATTGGCCA 61  
62 TGTGCACGAAACTAGGCTCCTTATTGGACAGCCATCACATGCCATCCTGTTGTGCTGACA 121  
122 GATCACGTGACAAGACCTTTCCAGCCACCAAAGTGTGAACGAAATGGTGGGGCGACTTCC 181  
182 ATCGGCGAGGTTTAGGTTACCGGCTGAAGGGAACGTCGCCCAAAGGGCCGGGAGGAGAC 241  
242 GCTACGGGGGGAGGGAGTTGGACCATGAAGGAGGGCTCGGAGGGCGATGCTGTGCCCTTA 301  
M K E G S E G D A V P L 100  
302 GTTCTGTCCAAGAAACCAAATCCAGGGTGGCTGCATCGTCACCTGGGGCATGCTCGCCC 361  
V L S K K P N P G S A A S S P G A C S P  
362 CCAACATCATCCAATCCACAGCTGGAGCATCACCTACATCGTACCTGTCCTCATCTCGA 421  
P T S S N P T A G A S P T S Y L S S S R  
422 GTGCAGTTGGTCGGAGCATCTTTGGTGTCCCTGGGTGGCGATGTTGCCGGAGCCCCCTGC 481  
V Q L V G A S L V S L G G D V A G A P C  
482 GCTGCGGGGCCCTTCGGCCAAGGTGGAAGGCAATCACGGTAGGCGTTCGTTGCAGGAGGAT 541  
A A G P S A K V E G N H G R R S L Q E D

## Kapitel 6: Anhang

---

542 GCGGTGGCTGCCGCGGTGGCGGGGGCAGCCGGAGGACCACGGGACAAGATCTTCGTGTGT 601  
A V A A A V A G A A G G P R D K I F V C

602 AGCGTGTGTAACAGGTGCTTCGGCTACAAGCACGTGCTGCAGAACCACGAACGGACGCAC 661  
S V C N R C F G Y K H V L Q N H E R T H

662 ACTGGGGAGAAGCCGTTTCGAGTGCAAGGAGTGCCACAAGCGTTTCACAAGGGACCACCAT 721  
T G E K P F E C K E C H K R F T R D H H

722 CTGAAGACGCACATGAGGTTGCACACAGGCGAGAAACCGTACCCTGTACGCACTGCGAG 781  
L K T H M R L H T G E K P Y H C T H C E

782 CGCCAGTTCGTTTCAGGTGGCCAACCTGAGACGACATCTGAGGGTGCACACCGGCGAACGG 841  
R Q F V Q V A N L R R H L R V H T G E R 280

842 CCCTACGCTTGCGAACTGTGCACGTCCAAGTTCTCGGACAGTAACCAGTTGAAGGCTCAC 901  
P Y A C E L C T S K F S D S N Q L K A H

902 ATGCTGATCCACAAGGGAGAGAAGCCGTTTCGAGTGCAAAAAGTGCCTGGGCCGGTTCGA 961  
M L I H K G E K P F E C K K C L G R F R

962 CGCCGACACCACCTGATGCACCACAAGTGTCCCAAGGATGAAAGCAACGCCGAAAGCCG 1021  
R R H H L M H H K C P K D E S N A G K P

1022 CGCAGAGGCCGTCGTCCGAAGCCGTCTCGGCCGATGAGGATGCGCTCCATTCGGCTCTC 1081  
R R G R R P K P S S A D E D A L H S A L

1082 TCTTCCACTGTACCGTCCCTACATCAGGCTCTACACCATCATCATCACCATCACCAC 1141  
S S T V P S L H Q A L H H H H H H H H

1142 CTGCATCACCTACGACCTCCTCATCCTTCCCACGATGATGCTCATCGGCCTCCGCCACCG 1201  
L H H L R P P H P S H D D A H R P P P P

1202 CCAACGCAACCCGCTGCCGTCCCAGGGGCTATTGCCAACACGGCTCCCATAGACAGTAGG 1261  
P T Q P A A V P G A I A N T A P I D S R

1262 CCTACGAAAAGGGAAAGGAAGCCTCGTGAAACACGCCGATCATCAAGGTGAGCATCCCT 1321  
P T K R E R K P R E T R R I I K V S I P

1322 TACGCACCACATGTGGCCCCGCCCTACCGGCAACAATGCGCGTTTCATCGAGAGCGCC 1381  
Y A P H V A P P P T G N N A R F I E S A

1382 GCTGCTTCTGGTGTTCACCAGCAGCCATGGTGCCCTTGTCCAACCCTCCGGAGCAGACC 1441  
A A S G V A P A A M V P L S N P P E Q T

1442 GAACCCGAAGACCTGTGATGCACGGTGGCAGCGACAACGGTGACCGTCGCAGGCCCACT 1501  
E P E D L S M H G G S D N G D R R R P T

1502 TCGGCCATGTCTGCCTCATCCACCGCAACCACCTGTCTGTCTCTACACCAGCAGCCTTTG 1561  
S A M S A S S T A T T C L S L H Q Q P L

1562 TCCGGAACGCCTTCTCAACTCTAATCAGCGTGCTGTCCCAACCTCCGGTTCGGGCATCT 1621  
S G T P S S T L I S V L S Q P P V P A S

1622 TGCGCGTCCACCACCCAGTGCATCGTGGTTCGACGACGATAAAGATGATGACGTGATGTTG 1681  
C A S T T Q C I V V D D D K D D D V M L

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 1682 | ACCGTCGACGAAGATGGCGATTGTTCCGAGGTGGCCATCGTGGAGGAGGATGACGATGAT   | 1741 |
|      | T V D E D G D C S E V A I V E E D D D D                        |      |
| 1742 | GACCAGGAGGATGAGGAGAAGGACATTCGGCGGCATCCTCAACGTAAAAACGAAGGGTG    | 1801 |
|      | D Q E D E E K D I R R H P Q R K K R R V                        |      |
| 1802 | ATGAGCAGGCCGGTGC GGCGCAAAGGTGCACACGCGAAAGGTATGATCCACCCAGTGTCC  | 1861 |
|      | M S R P V R R K G A H A K G M I H P V S                        |      |
| 1862 | CACCGCGTTAAGAGCACGATACGTGCGGGTGTGTTGGGCATGGTGGTGAGGAAGAGGAT    | 1921 |
|      | H R V K S T I R A G V V G H G G E E E D                        |      |
| 1922 | GATGACAATGATGATGATGAAGATGATGCCATGGAAAAGGAGGAGGAAGGTGTGGAAGGT   | 1981 |
|      | D D N D D D E D D A M E K E E E G V E G                        |      |
| 1982 | GATGATGAGGATGAATCGGAGCCGAGAACGGGTCATCGCCTCCTGCGGGGCAGTCCGGC    | 2041 |
|      | D D E D E S E P E N G S S P P C G A V G                        |      |
| 2042 | AAACAAGGACTCATACATAGGAGCAGAGATCAGGTAGTGTGCCCCACGGGTAACAGGT     | 2101 |
|      | K Q G L I H R S R D Q V V L P P R V T G                        |      |
| 2102 | AGAAATGGACAGCAACCCAAGCCGTAAGTTGGGCAACACCTCTCCTACTACTACCTCTTT   | 2161 |
|      | R N G Q Q P K P *  |      |
| 2162 | ACACGTTGCGGTGGTGTCTCCTGCTCAAAAGAGTTTTTCAGGTATGTGCGGAGAGTGAGAAA | 2221 |
| 2222 | AGAGAGAAAAGTGTGAGAGTCAAAGGGGAAAAAGCAAAAAAATCAAGGGAAGTTTTGTTC   | 2281 |
| 2282 | TTATTTTCATTCAGGGATTCGTTTTTTGAAGTATTATTATTATTATTATTATAATTATT    | 2341 |
| 2342 | ATTAGTTGCGACAACCTATTATCATATTTGTAATGTTATCGTTGCCGTGACGCGACTGATA  | 2401 |
| 2402 | ATGATGATTATTGTTGTTATTTTTATGTTTCGCTGAGAAGGTATGAATTTTATTTTGTATT  | 2461 |
| 2462 | CCCCCTGTTTCATGCTCTCTCTCCCTGCCCCGTGATGGGCCGTTTCAATACCTAGTGTCTC  | 2521 |
| 2522 | TACCTCTACTTACTGGGGCACGTAGAATGGTCCCAGTGCGCACCAGCTGCGAAACGATCG   | 2581 |
| 2582 | GGAACCTCTGAAAAATACCTGCCCCGGGCGGCCGTTTCGAGCCCTATAGTGAG          | 2632 |

*Glomeris marginata orthodenticle*

Die Homöodomäne ist unterstrichen.

Charakteristische Aminosäuren sind in **fett** gedruckt.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 2   | TTAAGAGCGCGCACCCGGAGCGTCCGTTCCCTTTGAAAACAACACACACACCCGCGGTTCATC | 61  |
| 62  | GATGCACCTAATTAGCCAGGTCCGGTGCTGAGAGAGAGAGAGGGTGGGGTGGTGCCCTCC    | 121 |
| 122 | TATACGGGCCCCCTACAGGACCCCCTGCAGACCCCCTGCAGGGCTCCAGCAGCGCCACCG    | 181 |
| 182 | CCGGCGCCCATGGCGTACCTCAAGAGCGCCCCCTACCACGCCGTCAACGGACTAGGAGGT    | 241 |
|     | M A Y L K S A P Y H A V N G L G G                               |     |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 242  | CCACCGGTCGACCTCATCCACCACCACCACCACCCCTCCGTCGCAGTCGGATACGCCGGG  | 301  |
|      | P P V D L I H H H H H P S V A V G Y A G                       |      |
| 302  | TGCGTGCGAACTCCTTGGACGGCGACGAACCCTCGCAAGCAGCGAAGGGAAAGGACCACT  | 361  |
|      | C V R T P W T A T N P R K <u>Q R R E R T T</u>                |      |
| 362  | TTCACCAGGGCCCAACTGGACATCCTCGAGTGCCTCTTCTCCAAGACCAGGTACTCGGAC  | 421  |
|      | <u>F T R A Q L D I L E C L F S K T R Y S D</u>                |      |
| 422  | ATCTTCATGAGGGAGGAAGTGGCCCTCAAGATCAACCTGCCCCGAATCCAGGGTCCAGGTT | 481  |
|      | <u>I F M R E E V A L K I N L P E S R V Q V</u>                |      |
| 482  | TGGTTCAAGAACC GAAGGGCCAAGTGCCGTCAGCAGCAGAAGCAACAGCAGCAGCAGGAG | 541  |
|      | <u>W F K N R R A K C R Q Q Q K Q Q Q Q Q E</u>                |      |
| 542  | AGTTGCAGTGCCGAAGTAGGAGGAGGAGGAGGTGCCAAGAGTCCCAGGTGCTCCAAGAGG  | 601  |
|      | S C S A E V G G G G G A K S P R C S K R                       |      |
| 602  | CCTCGCACTCCGCCGCCACC GCCACCATGACCGACGCCTCCAATTCCTCCGTGTCCCC   | 661  |
|      | P R T P P P T A T M T D A S N S S V S P                       |      |
| 662  | GTCCACAACCACCACCACCATCCGCACGAGCACCCCAAGGACTCCTCCTGTTGTTGCTC   | 721  |
|      | V H N H H H H P H E H P K D S S C S L L                       |      |
| 722  | ATGAAGGCCCTAACCCCTTTCGGCCCCATCTGGAGTCCCATGACAAGCGGAGAGTCTCC   | 781  |
|      | M K A P N P F G P I <b>W S P</b> M T S G E S S                |      |
| 782  | TACCCTTCCTCCAACCACCATCAGCACCACCATCAGGTGAACTCCTACGCCTCGTGCTAC  | 841  |
|      | Y P S S N H H Q H H H Q V N S Y A S C Y                       |      |
| 842  | TCGCAGCCGGCTTACGGCTACCACAACGTGGACTACGGCGCCACCGGTGGCCAGACAACG  | 901  |
|      | S Q P A Y G Y H N V D Y G A T G G Q T T                       |      |
| 902  | TACTCCTCCTCGGCGCAGACCATCGCTCCCAGGACACCACCGTCGACGACAGCCTTCCAG  | 961  |
|      | Y S S S A Q T I A P R T P P S T T A F Q                       |      |
| 962  | ACCGATTGCCTCGAGTACACCGACAAGTCGTCCACGTGGAAGTTCCAAGTCTCTGATCC   | 1021 |
|      | T D C L E Y T D K S S T <b>W K F Q V L *</b>                  |      |
| 1022 | TTCTACACCTTAAGTGGAGCGCCGCTCGTTTCGATGACGTGCGAGTATGGGCGTGTGCGGA | 1081 |
| 1082 | CGATCTCCAGGAATATGATTATGTACTTTTGGTATAACTTGTGAGGTGAAAAGTGATGTG  | 1141 |
| 1142 | TAAATATAGGGTTTTATTTAAAAACGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 1199 |

*Glomeris marginata tailless*

Die vorliegende Sequenz entspricht in etwa dem Bereich der beiden C4-Zinkfinger.

|   |   |    |
|---|---|----|
| 2 | CAGGATCATTTCTTCTGGAAAACATTATGGAATCTTTGCTTGTGATGGATGTGCCGGCTTC | 61 |
| 1 | Q D H S S G K H Y G I F A C D G C A G F                       | 20 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 62  | TTCAAGAGATCTATCAGAAGAAATCGACAGTACATCTGCAAAGCAAGGAACCAGGGAAGT  | 121 |
| 21  | F K R S I R R N R Q Y I C K A R N Q G S                       | 40  |
| 122 | TGCCCTGTTGACAAAACCTCACCGCAATCAATGCAGAGCATGTAGGCTTAAAAAGTGCCTG | 181 |
| 41  | C P V D K T H R N Q C R A C R L K K C L                       | 60  |
| 182 | GAATCAGGG   | 190 |
| 61  | E S G   | 63  |

### *Cupiennius salei* tailless

Die beiden C4-Zinkfinger sind unterstrichen.  
Konservierte Cysteine (C) sind **fett** gedruckt.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 1   | CCGGTGCAGAACAGCTCAAAGCCTTTCCCAGTGTTTCAGTCACGAAAACATGCTTGGAAT  | 60  |
| 61  | GTACTCTGTTGTGTTCCCTTATGCGATTTCAATCATCTGTACTGGTGAATGAACAGTGAC  | 120 |
| 121 | GACAGAAGATAGTGCAATATACGGCCGATTATTTATTTAATCAAGAGTTAAAGAAAAATA  | 180 |
| 181 | ATAACGGACTATTTTAAATGGACTTCTGATTTGTGTGAATCTCCCATGAAAAATACTGAG  | 240 |
|     | M K N T E   | 80  |
| 241 | TTCAATATACTGGTGGAAAATTCTGCTATGACCACCTTAGGCAACAAGTCACCTTCTACT  | 300 |
| 81  | F N I L V E N S A M T T L G N K S P S T                       | 100 |
| 301 | ACCTCCAGTCGCATTCTGTTAGATGTTCCCTTGCAAAGTATGCCAGGACCATTCTTCAGGA | 360 |
| 101 | T S S R I L L D V P <b>C K V C Q D H S S G</b>                | 120 |
| 361 | AAACATTATGGAATATACGCATGCGATGGGTGTGCTGGTTTTTTTTAAGCGATCCATCCGC | 420 |
| 121 | <u>K H Y G I Y A C D G C A G F F K R S I R</u>                | 140 |
| 421 | AGGAGTCGGCAGTACACATGTAAGGCCCGTGGAATGCAATTAACAAGTGTCCCGTAGAC   | 480 |
| 141 | <u>R S R Q Y T C K A R G N A I N K C P V D</u>                | 160 |
| 481 | AAGACCCACAGAAATCAATGCAGAGCTTGACAGACTCAAGAAATGCTTGGAGTCTGGC    | 537 |
| 161 | <u>K T H R N Q C R A C R L K K C L E S G</u>                  | 179 |

## Kapitel 6: Anhang

---

*Glomeris marginata cap'n'collar*

Der vorhandene Bereich des basischen Leucin-Zippers ist unterstrichen.

Konservierte hydrophobe Aminosäuren (Leucin (L) und Methionin (M)) im bZIP Motiv und das charakteristische Cystein (C) in Position -10 sind **fett** gedruckt.

```
2 CGGCTTTCCAAGTACGACCTCACCGAGCCTCAGTTAGCCCTGATTAGGGACATCAGGCGC      61
1  R L S K Y D L T E P Q L A L I R D I R R                                20
62 AGGGGCAAAAATAAGGTTGCGGCGCAGAACTGCAGAAAACGAAAGCTGGACCAAATCTTG      121
21  R G K N K V A A Q N C R K R K L D Q I L                                40
122 GTTCTTGCCGATGAAGTGACGAACATGCAGAGTGAGAAGGACCAGTTACTTTTCGGAGCAA      181
41  V L A D E V T N M Q S E K D Q L L S E Q                                60
182 CAGAGCATGATGGCGGAAAGGCAACGGCTAAAGGATAAGTTTGCGCAACTCTACAGACAC      241
61  Q S M M A E R Q R L K D K F A Q L Y R H                                80
242 GTCTTCCAGACACTCCGCGATCCGGACGGCAACCCGTACTCTCCGTACGAGTACTCGTTA      301
81  V F Q T L R D P D G N P Y S P Y E Y S L                                100
302 CAGCAAGCCGCGGACGGTAACATCCTGCTGGTGCCTCACAATGCCACCAACGGCATGGAG      361
101 Q Q A A D G N I L L V P H N A T N G M E                                120
362 CTGGACCCTAGCAAAGGTGCGAAAAACAACGCAGGGACGACGGCAAGAAGTGAGACGAG      421
121 L D P S K G A K N K R R D D G K K *                                  140
482 CACCCCTGTGCGCCCCGCGCAACCTCTGGGAATGAAAGTGCAAATTTGATGGAGGTAAC      541
542 CAATGGTAAACCATGGTTAGTTGAGGAGAACCTTAAACCGGAAAAGGCGGAAGAAGCGGT      601
602 TCGGTCTCTCGCTCGGTCTCCCCATTACCTACCGTACATTTTCGGTACAATTTCTCCGTT      661
662 CCCCTTTTACATCAACTTGAAAACCTGGTGTATGGATTCAATACAGGATATTGTGGAGAT      721
722 GCAACAACCTTGTGACCTTAGAGACATTCATTCGGTGATGTATATAAAGACTGTAGGCAAT      781
782 GTAATGAACACTTGGCTAAAAACAATGGTGGTTAGTAGTTACATCGGGGCACCGGTTTGA      841
842 CGCGCACAAACAAGTTGTTTCGGATATTTTTGGTGGTCAAGTGTCTACAGACTTGCACCTGA      901
902 TCGGTACGTGACTTCTTTGAGATTCTTTTCACTTCAAGTGACCCGAGAACGGTGCAGGTA      961
962 ACCGTTTCTTTCGGTCCGTTATTTTAGCGCGCGCACGTAAGTCATAGTACGGCTCGCGAAT      1021
1022 GTAAC TTTGGGGCAAGGATATGATAGTATATCGTGTTCCCTTCCAAGTACACTAGGTTT      1081
1082 AATGTCCCTTCCAAAGCCAGAACGCAATTAGACCCAGTCACTGGATTGACCGTTAGCCAAT      1141
1142 TGCCTTCGTACATTTCTTTGCCGAACCTCCTATACGGCAAACCTTTAAAACCTTTAAGTGATAA      1201
1202 TAACTTTATTTTACTGATTTACACAGAGATTTTGTGCAACACTTGCTTTCTTTATGCTT      1261
1262 TTATAGTGGTGTAGGTTAAGTTTTAGGGTAACTTACAAAACCATGTCAGTTCACCTTTAA      1321
1322 TGCTCCGAACTTTTTTAGGCCTAAGACAGGATTATGCAGCAGTTAGAAATAAATCAGTAC      1381
1382 ATGATGTTGGGTTGTTAACACAATTCAATAATAAGAGAGAGTGCATTTTATCTTTGATTT      1441
1442 TGGGCTAAGGAATTTGGCTAACGGTCTCCGCGTAAGGTTTGGTCCGCGCTGGCTAGTTCG      1501
```

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 1502 | ACAAACGTACTACCCAAGTCTTGATTTCTTATTTCGTCCAATTAACAGTTAATGTTACCAT  | 1561 |
| 1562 | GTATATTTTTATTATCGTTGTGTGTCTCTCGTCCCAAACATTGTCCAATAACTAATAATT   | 1621 |
| 1622 | ATCAATCTCACCAATATTTTGAACCTTGCGTTGCCGTATAACTTCACGTGGGTGCAACCC   | 1681 |
| 1682 | GGGTCAAGAAAACCTTCACCATTTAGTTACGATTATAATTTAGTAAACATTTATACCACTT  | 1741 |
| 1742 | TCAACCACATACATACCTATATTTAAAATGCAATATCGGTACATAACAACAGTAGGAGTGA  | 1801 |
| 1802 | AATTTCTCTTTATCAACAAATGCTGTGCATGATTTCAATAGCAGTGACCGTATCTCTCTAT  | 1861 |
| 1862 | ATGTTAACTTTTTGTATTTTTGTTAAAACCTAGTAACTGTTTAAACGTTTTCTACATGCGAA | 1921 |
| 1922 | TGTATGTGTGGGGTTTTTCTATGTGCTATTTCTTGAAAACAAATGAAAGTGTGGTGTGC    | 1981 |
| 1982 | GAGGAGAAAGATGCGGAAGCGCAAAGCAACCCCATTTATAGCGTGAATACAGAAGTTAT    | 2041 |
| 2042 | ATTTTGTGTAAAGTAACTAGTTTAAATAGAATGAACAGCAATCCGTCGCTATTGGTACA    | 2101 |
| 2102 | TAATGATTTACTTTCAATTGTAATTATAAATATATATCTTGCATTCAATGCATGATTTTT   | 2161 |
| 2162 | GTTGCATATGTCAGTGTGCGTGTCTCTATAATTGTTAAAGAGTTTAAATACACCGATGGCAG | 2221 |
| 2222 | TTTACCATTATTTTACAGGTTTAACTATCGATGTTCCCTCACCTTTTACCCTTTCCCTC    | 2281 |
| 2282 | TCTCCCATCCCGCAGTAGAATTATTATTTTTTACATTTCGTCTCAATTGAATACCATGTGAA | 2341 |
| 2342 | ATGTGTGTACAATAAGCTTGTGGCATGTGTTTGAACATTTTTTATTATCGGATTCATATT   | 2401 |
| 2402 | TCGTGTTACGTATAGGTAGTAGGATGATGATAGACGTAAACAATAATTTGCAGGCACTTG   | 2461 |
| 2462 | GATGGGAAAAAGAAAGAGAGAACTGAAATATGAATGCGTAAATAAAATAAAATAAATTAT   | 2521 |
| 2522 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA                           | 2552 |

### *Glomeris marginata collier*

Das Zink-Koordinierende Motiv ist unterstrichen.

Die konservierten Cysteine (C) und das Histidin (H) sind **fett** gedruckt.

|     |  |     |
|-----|--|-----|
| 2   | CCTTCGAACCTTCGCAAGAGCAACTTCTTCCACTTTGTGATCGCTTTGTACGACAGGGCG   | 61  |
| 1   | P S N L R K S N F F H F V I A L Y D R A                        | 20  |
| 62  | GGTCAACCGGTGGAATCGAGAGGACAGCCTTCGTGGGATTCGTGCAAAAAGACCAGGAA    | 121 |
| 21  | G Q P V E I E R T A F V G F V E K D Q E                        | 40  |
| 122 | CCGGAAGCCAAAAGACCAACAACGGCATTTCATTACCGGTTGCAGTTGCTCTACGCCAAC   | 181 |
| 41  | P E G Q K T N N G I H Y R L Q L L Y A N                        | 60  |
| 182 | GGAGTTTCGGCAAGAACAGGACCTTTACGTTTCGGCTCATCGACTCGGTTACGAAGCAGGCG | 241 |
| 61  | G V R Q E Q D L Y V R L I D S V T K Q A                        | 80  |
| 242 | GTAATTTACGAGGGCCAAGACAAGAATCCGGAGATGTGCAGAGTGCTGCTCACCCACGAA   | 301 |
| 81  | V I Y E G Q D K N P E M C R V L L T <b><u>H</u></b> E          | 100 |
| 302 | GTGATGTGCAGTCGCTGCTGCGATAAGAAAAGCTGCGGAAACCGCAACGAAACTCCCTCC   | 361 |

## Kapitel 6: Anhang

---

101 V M **C** S R **C** C D K K S **C** G N R N E T P S 120  
362 GACCCGGTCATCATAGACAGATTTTTCCTCAAGTTCTTCCTGAAGTGCAACCAGAACTGT 421  
121 D P V I I D R F F L K F F L K C N Q N C 140  
422 CTGAAGAAC 430  
141 L K N 143

### *Tegenaria atrica collier*

Das Zink-Koordinierende Motiv ist unterstrichen.

Die konservierten Cysteine (C) und das Histidin (H) sind **fett** gedruckt.

2 AGAACGGCTTTCGTTGGTTTTGTGGAGAAAGAACACGAAACAGAAGGTCAAAAAACAAAT 61  
1 R T A F V G F V E K E H E T E G Q K T N 20  
62 AACGGGACCCGATACAGGCTACAGCTATTATATGCTAATGGTGTGCGACAAGAGCAAGAT 121  
21 N G T R Y R L Q L L Y A N G V R Q E Q D 40  
122 CTCTATGTCCGACTAGTAGACCACGAAAAGGGTCAGGCCGTCGTTTACGAGGGCCAAGAC 181  
41 L Y V R L V D H E K G Q A V V Y E G Q D 60  
182 AAAACACCAGAAATGCGCCGGGTGCTATTAACGCACGAAATACTGTGCAGTCGGTGTGT 241  
61 K T P E M R R V L L T **H E I L **C** S R **C** C** 80  
242 GAAAAGAAAAGTTGTGGTAACAGAAATGAAACACCTCCGATCCTGTGATAATTGACAGG 301  
81 E K K S **C** G N R N E T P S D P V I I D R 100  
302 TTTTTCCTCAAGTTTTTCTTGAAGTGCAATCAGAATTGTCTAAAAAAT 349  
101 F F L K F F L K C N Q N C L K N 116

### *Glomeris marginata crocodile*

Der vorhandene Bereich der Forkhead-Domäne ist unterstrichen.

2 GCGCTGATTGCCATGGCAATTCAAAGCGCCCCTGAGAAGAAAATCACCCATAATGGCATC 61  
1 A L I A M A I Q S A P E K K I T L N G I 20  
62 TACCAATTCATTATGGACCGTTTCCCATATTATCGTGAAAACAAACAGGGTTGGCAAAAT 121

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 21   | <u>Y Q F I M D R F P Y Y R E N K Q G W Q N</u>                 | 40   |
| 122  | TCAATTCGCCATAACCTCAGCCTAAATGAATGTTTTGTTAAAGTGCCACGTGATGACAAG   | 181  |
| 41   | <u>S I R H N L S L N E C F V K V P R D D K</u>                 | 60   |
| 182  | AAACCTGGTAAAAGGTAGCTACTGGACATTGGACCCAGACAGCCTGAACATGTTTGATAAT  | 241  |
| 61   | <u>K P G K G S Y W T L D P D S L N M F D N</u>                 | 80   |
| 242  | GGCAGTTTCTACGAAGACGAAGATGCTTCAAGAAGAAAGATACGTTGAAAGAGAAGGAA    | 301  |
| 81   | <u>G S F L R R R R C F K K K D T L K E K E</u>                 | 100  |
| 302  | GAGAGTCTTAAAAAGCAACAGCATCACCATCACATAAATGGAGGAAATAACCAGCCAGCG   | 361  |
| 101  | <u>E S L K K Q Q H H H H I N G G N N Q P A</u>                 | 120  |
| 362  | GCCGAAGACATGGCCACTTCATCCAACTCCATGCCGAACGTCTCCTCCTCCTCCAACA     | 421  |
| 121  | A E D M A T S S T T P C R T S P P P P T                        | 140  |
| 422  | TCAGCTTCAATCGCAACAACAGTCAGTTCCAACCTGCGTGTTCATCATCCTCATCACCACCT | 481  |
| 141  | S A S I A T T V S S N C V S S S S S P T                        | 160  |
| 482  | GCAGCAAACACGATGCACCATGTTAAAATGGAACCTCACGAACCCATCAAGCTGAGCTCT   | 541  |
| 161  | A A N T M H H V K M E P H E P I K L S S                        | 180  |
| 542  | TGCATGAAATCCAGTGGAGGAGCTACAATTCAAAAACCGATGATGGCAGATGTTGTATGC   | 601  |
| 181  | C M K S S G G A T I Q K P M M A D V V C                        | 200  |
| 602  | GAGACTGCACCCCAACGACTCCTCTGCTTGCGCTTCAGCGTCGACAATCTGATG         | 661  |
| 201  | E T L H P N D T P S A C S F S V D N L M                        | 220  |
| 662  | ACTACTGTCCGAGGTGGCCACCAGGTAGTGATCAACGCCAACGCAAACAATGATCTTGTT   | 721  |
| 221  | T T V R G G H Q V V I N A N A N N D L V                        | 240  |
| 722  | CATCACCACAATCACTCAACGTCCGGGAGCTTCTACAGCACAACCTCGTGGACAATCAGGG  | 781  |
| 241  | H H H N H S T S G S F Y S T T R G Q S G                        | 260  |
| 782  | TTGTATGCCTGCAGTGGTCAACTTAACCTTCTTCTCCATCACCATCATCAACTTCA       | 841  |
| 261  | L Y A C S G Q L N L P S S P S P S S T S                        | 280  |
| 842  | AACTCGCCACCATTGAATTACCATGCTATGTATGTGGATAGGGGTTTCATCTTCGCATCAT  | 901  |
| 281  | N S P P L N Y H A M Y V D R G S S S H H                        | 300  |
| 902  | GCAACAATGATGCTGGTTCGATGACCTGGCTAATGCAGCAGCCGAGCTTGCTTGGCAACA   | 961  |
| 301  | A T M M L V D D L A N A A A A A C L A T                        | 320  |
| 962  | ACTTGCTCGCAGTCGATGTTGTGCGCGAATCAACAGCAACAACAATCAGAACAGCAGCAA   | 1021 |
| 321  | T C S Q S M L S P N Q Q Q Q S E Q Q Q                          | 340  |
| 1022 | CATCAGCAACAACATTACCCATGCGCTGCGAATTCGTCTCGACATCAAGGCCACACGTGG   | 1081 |
| 341  | H Q Q Q H Y P C A A N S S R H Q G H T W                        | 360  |
| 1082 | TATGCTCTACCTCCACCTCCGGATGTGGTGGCAGATGCAGCAGCAGTCAGCGGAGTTGGA   | 1141 |
| 361  | Y A L P P P P D V V A D A A A V S G V G                        | 380  |
| 1142 | GGTGTGAACGGGTTATCAGCATCCTCTCCATCAACAACAGTGACAGCTTCATCTTTTGCC   | 1201 |
| 381  | G V N G L S A S S P S T T V T A S S F A                        | 400  |
| 1202 | ACAGTTAGGGACATGTTTCGAGCAGAGAGTCCAAGGACATGGGCATCCAAGTCATATCCAT  | 1261 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |   |      |
|------|---|------|
| 401  | T V R D M F E Q R V Q G H G H P S H I H                       | 420  |
| 1262 | GCACATGGGTATGGCACCACAAACTCTTCCACCTCATCTTCGAATCCGAGTTGCCAAATG  | 1321 |
| 421  | A H G Y G T T N S S T S S S N P S C Q M                       | 440  |
| 1322 | TCCTTCCGATCGACGACTACATACAAACCGACTGTAAATTACTACCACCAGGACTATTCC  | 1381 |
| 441  | S F R S T T T Y K P T V N Y Y H Q D Y S                       | 460  |
| 1382 | AAGTACTAAATTCTCCGGTCAGTGCATAAACTCTTCTCAATTTTCATAATCTAGTAAAAC  | 1441 |
| 461  | K Y *   |      |
| 1442 | TCTATATGTATCATGTGTATGTATCATATGTACAATATCAGAAATTTAAGTGAACAATGT  | 1501 |
| 1502 | TGCCGGAATACGACAGATCGTTTTAGACGTCGTCGTCGTTATCCCTTGCATGCAATGTG   | 1561 |
| 1562 | GACAAGCTAAACAATTTCTGAATAGTAGTTCTTCGATCAGCAGCTTCCCTGCAAAATTGTT | 1621 |
| 1622 | GACAGCTTTTCCATTCTGCTTTTATTGAACGCGTCCACGATTTGGTAGCGCAAGCATTG   | 1681 |
| 1682 | TATGATTTTACGTGCGTCTGAAAGTTGAACATATTCAAGCATAGATGATAATTATGTGTA  | 1741 |
| 1742 | AACTTCCTTGTCCACATGTTTTATAATTATGAATAAATTACCAGTCGCACTTTATGAATG  | 1801 |
| 1802 | CTCATTATCTATGTATATGGGAAATTTTATATAACATTTCTTAAATAAATTTTCATGTCTG | 1861 |
| 1862 | CAGCTTTAAAGCATTTTTGTAAAGTGTGCATGCCGATAAATATTAATTAATGCATGGC    | 1921 |
| 1922 | ATGGCGGAGAATGCTAAATATTTGTTAAGATTTTAAAATGAAATGTATTGCAAATTATAT  | 1981 |
| 1982 | ACACAGGAGTGATCTGAAAACCCAGTTTCTTCTCGAAACACCACATTAACATATTGCGCC  | 2041 |
| 2042 | TGGTAATATATTCTCTGTATTCATGCAAACCGTAGGCTATATGAATGATTTGCAAAAAC   | 2101 |
| 2102 | TCCAATAATGAAAGTAACGTATAGTGTGCAAATATTTATTTTCCTTATATATCAAACGT   | 2161 |
| 2162 | AAGGATTTATGTCCCCTTAAGTGGTAGAACAAACATTAAGTTACCCACAATAATTATCAT  | 2221 |
| 2222 | CAATGCCCTGCAAAAACATTATAAATCAAACAAGCATTACTGTTGTCTAACTTTTAAA    | 2281 |
| 2282 | CATGCGCACAGCGACCAATTTTATGAATTCAAAATAATCAACATTGGCAAAC TAGAATTA | 2341 |
| 2342 | CTATTTTATTCGAGATTATTAATTGAAATGCAATTCAGTTGCATATTACATCCCATATTA  | 2401 |
| 2402 | TTAATAGTATGCACAACCTTGTTCATGTATGTAAATATGTGTATAAATAAGTCCGTGTTT  | 2461 |
| 2462 | ATAATGAAGCTACAAAATCACGCAAAGAATGAATACCATATGGAAAAGCCATACATGTA   | 2521 |
| 2522 | TAATTATTTTCCTTAAACGGTACCATTTTATCGTAAGAAATTCATATGTGACATGACTTT  | 2581 |
| 2582 | GTGTGGGTATATATTCTTGTGCATTTTCG                                 | 2610 |

*Glomeris marginata forkhead*

Der vorhandene Bereich der Forkhead-Domäne ist unterstrichen.

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 3  | CCGTCCAAAATGCTGACCCTAAGCGAGATCTACCAGTTCATCATGGACCTGTTCCCATTC | 62  |
| 1  | <u>P S K M L T L S E I Y Q F I M D L F P F</u>               | 20  |
| 63 | TACCGCAGAACCAGCAGCGCTGGCAGAACTCCATTCGGCATAGCCTGTCGTTCAACGAC  | 122 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 21   | <u>Y R Q N Q Q R W Q N S I R H S L S F N D</u>                 | 40   |
| 123  | TGTTTCGTCAAGGTGCCCCGTACCCCGGACAAGCCGGGCAAGGGCAGCTTCTGGACACTG   | 182  |
| 41   | <u>C F V K V P R T P D K P G K G S F W T L</u>                 | 60   |
| 183  | CACCCTGACTCTGGCAACATGTTTCGAGAACGGTTGCTACCTTCGCAGACAGAAGCGATTC  | 242  |
| 61   | <u>H P D S G N M F E N G C Y L R R Q K R F</u>                 | 80   |
| 243  | AAGTGCAGAGAAGAAGGAGATGATCCGGCAAGCGCAGAAGACCACGGACATGTCTCCGGGT  | 302  |
| 81   | <u>K C E K K E M I R Q A Q K T T D M S P G</u>                 | 100  |
| 303  | GGTGGGGGAGATGGTGGTGGAAACGTGAGCATTAAAGGAAGGTTCCAGGATGGTCAGGAC   | 362  |
| 101  | G G G D G G G N V S I K E G S Q D G Q D                        | 120  |
| 363  | ACAGTGGTCAAGGATGGACGACTGACTACTTCGTCCACGTCCGCCATGCCACCGGCTCCT   | 422  |
| 121  | T V V K D G R L T T S S T S A M P P A P                        | 140  |
| 423  | TCATCGTCCGCGTCGTCATCTTCTTCGCTGTCTTCCGGAACGTCTAGGCCTATCATCGGA   | 482  |
| 141  | S S S A S S S S S L S S G T S R P I I G                        | 160  |
| 483  | AAGGGTGAACCATGTTTCAGTGGCTTCGTTGCAAGATGACGGATGCTGCGACGTAGTCTCA  | 542  |
| 161  | K G E P C S V A S L Q D D G C C D V V S                        | 180  |
| 543  | GGTCTTCACGGACACCAGCAGAGTCAGAATCAACAGGCTAATCTTCAGGCTAACTCCGAT   | 602  |
| 181  | G L H G H Q Q S Q N Q Q A N L Q A N S D                        | 200  |
| 603  | CACGTCTCCATTCTATGCATCATCACGGTCATTTCGCAGCAGCACACTACGCATGGTCAT   | 662  |
| 201  | H V L H S M H H H G H S Q Q H T T H G H                        | 220  |
| 663  | CATGCGCACCACCACCTCACCACGTTACCCATCCCATGCCCTTGCTGGGGGACATCAT     | 722  |
| 221  | H A H H H P H H V H P S H A L A G G H H                        | 240  |
| 723  | CACGTCCACCACCATCAGCAGCAGCAGCACCATCAACAACAACAGCAGCAGCAGCACCAT   | 782  |
| 241  | H V H H H Q Q Q Q H H Q Q Q Q Q Q H H                          | 260  |
| 783  | CATCAACAACAACAGCAGCAGCAGCATCAGCATCAACAAGGTCGGCCAATGCCAGTGTC    | 842  |
| 261  | H Q Q Q Q Q Q Q H Q H Q Q G R P M P V S                        | 280  |
| 843  | TCACCTATCCTCCACCTCAAGAATGATCCACACTTTAACCCCTAACAACCATCCGTTTTCA  | 902  |
| 281  | S P I L H L K N D P H F N P N N H P F S                        | 300  |
| 903  | ATCAACAACATCATCTCGTCCGAGAGCAAAGCGGACATCAAAATGTACGATCTGAGCCAG   | 962  |
| 301  | I N N I I S S E S K A D I K M Y D L S Q                        | 320  |
| 963  | TATTCTTCGTACAGTCCGCTCTCACCGATGTCTCTTCGTCTGGGGCATCTTTGACCACA    | 1022 |
| 321  | Y S S Y S P L S P M S S S S G A S L T T                        | 340  |
| 1023 | GATAACAATTCCCTACTACCAAGCCTCAATGTACCAAACACTGTGCACCATTCCAGGTGTCC | 1082 |
| 341  | D N N S Y Y Q A S M Y Q T V H H S T V S                        | 360  |
| 1083 | AGCCTCTAGCACCATGTCCATCTAGATCACTCCATCTGTCCATCCATGGAAAATGCACGT   | 1142 |
| 361  | S L *  |      |
| 1143 | GCATGACCAGTTGACCACCAACACCACCACCACCACCACCATCCCTCCAAAACGAGGCC    | 1202 |
| 1203 | TGTAACCCTTGTGACCTGTGCACATTTCTTCAGATCATCGAGTATAGAGATACACCTAAC   | 1262 |
| 1263 | GAGGAACGAATGTTTTATTACACACACGTAACACTGCAGGGTGTTCAAAACTCCTAA      | 1322 |

## Kapitel 6: Anhang

---

|      |  |      |
|------|--|------|
| 1323 | ATTGTGCGCACTTCCAATGAGTGAGTTGGTTTTACTCCCTATAAAAAAGGAGATATGACC   | 1382 |
| 1383 | TTCAACATCACTATAATATCTTATATTGTGCGATTTTTATCATGCATCGTCACTTTTTG    | 1442 |
| 1443 | TTGTGCGTCCGCAATTTTCAGTTGTGGCAAACCTGCATGACCTGCTATATATTAACCTTTTT | 1502 |
| 1503 | TTATACTTTCTTTTTTAGTTATTATCATTCAATTCGCGCCAAACAACCTTTATATACATAT  | 1562 |
| 1563 | ATATAGTAATATCCGATATATATGAAAATAACTCAGCGTCATTTTCGGCTCTCTCTGGAA   | 1622 |
| 1623 | TATTATTATGAATGAATTTGTTGTACATAAAAATGATATAGTGTATACCGAAACGCGGAT   | 1682 |
| 1683 | ATTTTCGTCAGACTGATAAAGATATACGTGTATATAATGTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  | 1742 |
| 1743 | AAAAAAAAA  | 1751 |

*Glomeris marginata* E4/E5

Der vorhandene Teil der Homeodomäne ist unterstrichen.

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 2   | AAGAATCATTACGTTGTGGGTGCTGAACGAAAACATTTGGCACAGAGTCTCAGTTTGACG  | 61  |
| 1   | <u>K N H Y V V G A E R K H L A Q S L S L T</u>                | 20  |
| 62  | GAAACTCAGGTGAAAGTGTGGTTTCAAACAGGCGCATGAAGCACAAGAGATTGAAACAG   | 121 |
| 21  | <u>E T Q V K V W F Q N R R M K H K R L K Q</u>                | 40  |
| 122 | GAAGAGGAACAGACTCAGAATTCACCTCCATCACCTAAAAAGAAAGGGACTCACCCTTG   | 181 |
| 41  | E E E Q T Q N S P P S P K K K G T H H L                       | 60  |
| 182 | AATAAGTGGAAAGATCGAAACTCAGCAATCTGATGATGAAGGTGGTGGTGAAGCTGCA    | 241 |
| 61  | N K W K I E T Q Q S D D E G G G A E A A                       | 80  |
| 242 | TCTTCCTAACATTTCTGAGGACACACGGTATAAGGATGTTTTAGTTTCAGCTTTACGTAT  | 301 |
| 81  | S S *   |     |
| 302 | AGGACAGAAAAGGAAACAACACACACCCATGTTTCATTTGCAAACGTGTGGGTGAGTCACT | 361 |
| 362 | ATTAATAATGCGAGTGGAGCGCCCCCTATGTCTGTGAGACGAAAGACTATTCACCTCAA   | 421 |
| 422 | TACGGCCAAAAACAGGGATTTTCATGAAATCAACTTTGTCAAATGCTCCATTATTATGTA  | 481 |
| 482 | GCCATTGTACATATAGTCAATTTTATGTGTAACGGTAAAGTATATTTCCATTTTCAGTGT  | 541 |
| 542 | ACGTTGTAAAAATAAATACAGGCCCTTGTATTATTATTATTATAATTATTATTATTTTAC  | 601 |
| 602 | TGATTCTTTGAAAACAAATTTGCAGGCCTGGAAAACCTGTTTCATGCATGAATGGATCGTG | 661 |
| 662 | ACGTCATATGTCTTTCTCTATTGCTCTTCTCTACATGGAGTATTCGTAATTGTTGTTATA  | 721 |
| 722 | GACATATATACTCTTTCTTCATAGAAAATCTATAAAGAATGACATGTATATGGCTCGTTA  | 781 |
| 782 | ATAAATCTCGACTTGCGATGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA           | 829 |

## Kapitel 6: Anhang

---

### *Glomeris marginata Spl*

Die vorhandene Sequenz repräsentiert Teile der drei C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-Zinkfinger.  
Konservierte Cysteine (C) und Histidine (H) sind **fett** gedruckt.

```
1 GTAGGATGTGGTAAGATGTATGGCAAGACGTCACATCTGAAGGCTCATCTTAGATGGCAT 60
1 V G C G K M Y G K T S H L K A H L R W H 20
61 GCAGGGGAAAGGCCATTTGTGTGTCATTGGTTGTTCTGCGGAAGAAGTTTCACAAGGTCA 120
21 A G E R P F V C H W L F C G R S F T R S 40
121 GATGAGTTGCAGAGACACATAAGGACACATACAGGAGAGAAGAGATTCTTCTGTACTGTG 180
41 D E L Q R H I R T H T G E K R F F C T V 60
181 TGTGGCAAGAGGTTTCATGAGGTCTGATCATCTGAGC 216
61 C G K R F M R S D H L S 72
```

### *Glomeris marginata CG5669*

Die vorhandene Sequenz repräsentiert Teile der drei C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-Zinkfinger.

```
1 CCCGGTTGCAACAAAGTCTACGGAAAGACATCACACCTTCGCGCGCACCTTCGATGGCAC 60
1 P G C N K V Y G K T S H L R A H L R W H 20
61 ACGGGCGAGAGACCGTTTCGTGTGTAAGTGGCTGTTTTGCGGGAAGCGGTTACCCAGAAGC 120
21 T G E R P F V C N W L F C G K R F T R S 40
121 GATGAGCTGCAGCGTCACCGGAGGACCCATACGGGGGAGAAGAGATTTCAATGCGAGGAG 180
41 D E L Q R H R R T H T G E K R F Q C E E 60
181 TGCAGCAAGCGGTTTCATGCGGAGCGATCACTTGTC 216
61 C S K R F M R S D H L S 72
```

## 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, Karten 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 hat, dass sie – abgesehen von den unten angegebenen Teilpublikationen – noch nicht veröffentlicht worden ist; sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluß des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde.

Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Herrn Prof. Dr. Diethard Tautz betreut worden.

Köln, den 16.10.2004

Ralf Janßen

## Teilpublikationen:

Janssen, R., Prpic, N-M., Damen, W.G.M., 2004. Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation in the millipede *Glomeris marginata* (Myriapoda: Diplopoda). Dev. Biol., 268, 89-104.

## Lebenslauf

|                      |  |
|----------------------|--|
| Name:                | Ralf Janßen  |
| Geburtsdatum:        | 21.07.1975   |
| Geburtsort:          | 47553 Kleve  |
| Eltern:              | Brigitte und Dieter Janßen   |
| Staatsangehörigkeit: | deutsch  |
| Familienstand:       | ledig  |
| 1982-1986            | Besuch der Christopherus-Grundschule Kranenburg  |
| 1986-1995            | Besuch des Johanna-Sebus-Gymnasiums Kleve  |
| 1995                 | Abitur mit den Hauptfächern Deutsch, Biologie und den Nebenfächern Mathematik, Erdkunde am Johanna-Sebus-Gymnasium Kleve   |
| 1995/1996            | Allgemeiner Wehrdienst   |
| 1996-1998            | Studium der Biologie an der Universität zu Köln; Vordiplom   |
| 1998-2001            | Studium der Biologie an der Universität zu Köln; Diplom in den Fächern Genetik (Hauptfach), Pharmakologie, Biochemie<br>Diplomarbeit mit dem Thema: “Molekulargenetische Analyse der Mesodermdifferenzierung und Segmentbildung der mittelamerikanischen Wanderspinnne <i>Cupiennius salei</i> (Ctenidae)” |
| 2001                 | Erlangung des akademischen Titels “Dipl. Biol.” an der Mathematisch Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln   |
| ab 2001              | Doktorarbeit an der Universität zu Köln  |

# Vollständiges Publikationsverzeichnis

## Originalarbeiten

Prpic, N.M., **Janssen, R.**, Damen, W.G.M., Tautz, D., 2004. Evolution of dorsal-ventral axis formation in arthropod appendages: H15 and optomotor-blind/bifid-type T-box genes in the millipede *Glomeris marginata* (Myriapoda: Diplopoda). *Evolution & Development* (in press).

**Janssen, R.**, Prpic, N.M., Damen, W.G.M., 2004. Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation in the millipede *Glomeris marginata* (Myriapoda: Diplopoda). *Dev. Biol.*, 268, 89-114

Prpic, N.M., **Janssen, R.**, Wigand, B., Klingler, M., Damen, W.G.M., 2003. Gene expression in spider appendages reveals reversal of *exd/hth* spatial specificity, altered leg gap gene dynamics, and suggests divergent distal morphogen signalling. *Dev. Biol.*, 264, 119-40.

## Akademische Abhandlungen

**Janssen, R.**, (2001). Molekulargenetische Analyse der Mesoderm differenzierung und Segmentbildung der mittelamerikanischen Wanderspinnne *Cupiennius salei*. Diplomarbeit Universität zu Köln.

## Veröffentlichte Beiträge zu Symposien und Tagungen

Schoppmeier, M., **Janssen, R.**, Damen, W.G.M., 2004. Evolution of arthropod segmentation: Segment formation in a spider and a myriapod. "Evolution of developmental diversity", Tagungsband p. 10. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.

Weller, M., Schoppmeier, M., **Janssen, R.**, Damen, W.G.M., 2001. Segmentation genes in the spider *Cupiennius salei*. 14. Wissenschaftliche Tagung der Gesellschaft für Entwicklungsbiologie, Ulm/Deutschland, Tagungsband p. XIV

Schoppmeier, M., Weller, M., **Janssen, R.**, Damen, W.G.M., 2001. Analysis of the spider segmentation gene cascade. 14. Wissenschaftliche Tagung der Gesellschaft für Entwicklungsbiologie, Ulm/Deutschland, Tagungsband p. XXIV