

## ZUSAMMENFASSUNG

Der NF- $\kappa$ B/Dorsal Signalweg hat konservierte, zentrale Funktionen bei der Immunantwort von Metazoen. In der Fliege *Drosophila* ist dieser Signalweg auch entscheidend für die embryonale Musterbildung entlang der dorso-ventralen Achse. Das für diese Musterbildung zuständige - von NF- $\kappa$ B/Dorsal dominierte - Gen Regulatorische Netzwerk (GRN) gehört zu den am besten untersuchten GRNs überhaupt. Da allerdings in den meisten Metazoen der BMP Signalweg die Musterbildung entlang der dorso-ventralen Achse dominiert, stellt sich die Frage, wie der NF- $\kappa$ B/Dorsal Signalweg - ausgehend von einer ursprünglichen Rolle in der Immunantwort - Funktionen vom BMP Signalweg in der Embryogenese der Fliegen übernommen hat. Studien zu dieser Frage versprechen Einsichten in die evolutionäre Plastizität von GRNs.

Trotz evolutionärer Unterschiede ist die dorso-ventrale Musterbildung in *Drosophila* und dem Käfer *Tribolium* homolog. Während der Dorsal Signalweg in *Drosophila* hierarchisch reguliert ist, ist er in *Tribolium* eher dynamisch reguliert. Allerdings dominieren in beiden Organismen der Transkriptionsfaktor Dorsal, und eines seiner Zielgene, *twist*, die dorso-ventrale Musterbildung. Eine umfassende Identifikation von *Tribolium* *Tc*-Dorsal und *Tc*-*twist* Zielgenen verspricht daher, den Großteil der an der dorso-ventralen Musterbildung in *Tribolium* beteiligten Gene aufzuklären und ist Gegenstand dieser Arbeit.

Um *Tc*-Dorsal und *Tc*-*twist* Zielgene zu identifizieren wurden zwei neuartige Ansätze, basierend auf massiver paralleler Sequenzierung (next generation sequencing), verfolgt. Zum einen wurden *Tc*-Dorsal und *Tc*-*twist* mittels RNA Interferenz spezifisch inhibiert und im Folgenden die im Vergleich zum Wildtypen veränderte Genexpression Transkriptom-weit analysiert (RNA-seq). Zum anderen wurde in dieser Arbeit zum ersten Mal gezeigt, dass Chromatin Immunpräzipitation gefolgt von massiver paralleler Sequenzierung der immunpräzipitierten DNA (ChIP-seq) in Nicht-Modelorganismen durchführbar ist. ChIP-seq wurde mit einem *Tc*-Dorsal spezifischen Antikörper durchgeführt und führte zur Identifikation entsprechender - von Dorsal regulierter - Gene und Enhancer. Beide Methoden ergänzen sich und ihre Kombination liefert Ergebnisse, die über die Einsichten, welche auf den beiden Methoden je für sich basieren, hinausgehen.

Mehrere hundert *Tribolium* Gene und Enhancer wurden identifiziert. Analyse von Expressionsmustern mittels *in-situ* Hybridisierung und Abgleichen der gewonnenen Datensätze führten zur Identifikation von 40 *bona fide* dorso-ventralen Musterbildungsgenen, einschließlich aller fünf, bereits bekannter, Gene. Der dynamisch regulierte *Tc*-Dorsal Signalweg scheint Genexpression in drei Domänen im ventralen Drittel der dorso-ventral Achse zu kontrollieren. Dabei ist der Einflussbereich von *Tribolium* *Tc*-Dorsal geringer als der von *Drosophila* Dorsal, und es werden insgesamt vermutlich weniger Gene von *Tribolium* Dorsal reguliert. Allerdings wurden auch *Tc*-Dorsal Zielgene identifiziert, die keine Rolle in der dorso-ventralen Musterbildung von *Drosophila* spielen, bzw. keine Homologe in *Drosophila* haben. Eine vorläufige Einordnung der Ergebnisse zeichnet das Bild eines dynamischen GRNs downstream von *Tc*-Dorsal, das stärker als bei *Drosophila* von den Interaktionen der Dorsal Zielgene abhängt.

Die hier präsentierten Daten und Protokolle sind eine essentielle Voraussetzung für funktionelle Studien, definierte Missexpression Studien inbegriffen, und für eine detaillierte, molekulare Aufklärung der Enhancerstrukturen, die dem dorso-ventralen GRN von *Tribolium* zu Grunde liegen.