

## Zusammenfassung

Die Vielschichtigkeit komplexer Musterbildungsprozesse ist eine wesentliche Problematik der Entwicklungsbiologie.

*De novo* Musterbildung beschreibt einen Prozess, bei dem sich Zellen aus einem zunächst uniformen Feld von Zellen, zu spezialisierten Zelltypen differenzieren. Mathematische Modelle, wie das Aktivator-Inhibitor Model, versuchen die Komplexität der *de novo* Musterbildung durch das Prinzip der lokale Selbstverstärkung und der weitreichenden Inhibition zu erklären. Des Weiteren erfordern diese Modelle anfängliche Fluktuationen im System, die zu kleinen, vorübergehenden Konzentrationsunterschieden in den Zellen führen, welche wiederum durch Rückkopplungsschleifen im Model verstärkt werden und somit die Zelldeterminierung ermöglichen. Ein hervorragendes Model für *de novo* Musterbildungsprozesse sind die Blatttrichome von *Arabidopsis thaliana*, welche in regelmäßigen Abständen auf der Blattoberfläche verteilt sind. Aktivierende und inhibierende Moleküle wurden bereits in früheren Studien gefunden, genauer gesagt ein Aktivatorkomplex (GL1-GL3-TTG1) und Inhibitorproteine (z.B. TRY und CPC), die maßgeblich an der Trichommusterbildung beteiligt sind.

Die Existenz von Fluktuationen in der Genexpression dieser Aktivatoren und Inhibitoren, auch als Rauschen in der Geneexpression bezeichnet, war bisher noch nicht bekannt. Ein erster Hinweis auf eine stochastische Genexpression in Pflanzen, einschließlich der von wichtigen Musterbildungsgenen, konnte hier gezeigt werden. Das Fluktuationspotenzial von Promotern wurde durch photokonvertierbare Proteine und durch ein duales Reportersystem nachgewiesen.

Zudem wurden detaillierte Analysen von MYC1, einem besonderen Aktivator der Trichommusterbildung, durchgeführt. In früheren Studien zeigte MYC1 kernzytoplasmatische Transporteigenschaften. MYC1 ist zytoplasmatisch und rekrutiert GL1 aus dem Zellkern in das Zytoplasma. TRY wird durch MYC1 weiter in den Nukleus gezogen. Die Analyse der subzellulären Lokalisation von MYC1 wurde in dieser Arbeit weiter vertieft. Somit konnte gezeigt werden, dass interne Signalpeptide sowohl von MYC1 als auch von GL1 essentiell für den kernzytoplasmatischen Transport sind.

Experimente mit nuklear lokalisiertem TRY deuten darauf hin, dass MYC1 die Wandereigenschaften von TRY zu angrenzenden Zellen reduziert. Ratiometrische Ko-Lokalisationsversuche konnten zeigen, dass die Lokalisation von MYC1, GL1 und TRY konzentrationsabhängig ist. In Expressionsanalysen von *MYC1* in Wildtyp Pflanzen, unter der Kontrolle des endogenen *MYC1* Promoters, konnte erneut eine

Lokalisation im Zellkern und Zytoplasma festgestellt werden, die in Mutanten verändert war. Eine neu entwickelte Methode konnte die relativen Proteinstabilitäten *in vivo* messen. Somit konnte eine Stabilisierung von TRY, CPC und GL1 durch MYC1 bzw. GL3 gezeigt werden. Des Weiteren zeigte CPC die höchste Stabilität in Arabidopsis gefolgt von TRY und dem noch instabileren GL1. Die Ergebnisse dieser Arbeit bekräftigen weiter die Idee der Repression von TRY durch MYC1, was ebenso die reduzierte Trichomanzahl in *myc1* Mutanten erklären könnte. Allerdings wird hier auch eine konzentrationsabhängige Stabilisierung von TRY vorgeschlagen, um eine Feinabstimmung der Trichommusterbildung zu gewährleisten.

## Abstract

The underlying complexity of pattern formation is a crucial issue in developmental biology. *De novo* patterning describes a process, in which cells differentiate to specialized cell types from a field of initially equivalent cells. Mathematical models, like the activator-inhibitor model, attempt to explain the intricacy of *de novo* pattern by the principle of local self-enhancement and long-range inhibition. These models also require initial fluctuations in the system resulting in small, transient cell-to-cell concentration differences that are amplified by feedback loops in the model allowing the cell fate determination. A well studied model for *de novo* patterning are *Arabidopsis thaliana* leaf trichomes that are distributed in a regular spatial pattern on the leaf surface. Activating and inhibiting molecules, namely activator complex (GL1-GL3-TTG1) and inhibitor proteins (e.g. TRY and CPC), were previously found to be essential for trichome patterning.

The existence of fluctuations in the gene expression, also referred to as noisy gene expression, of these activators and inhibitors was unknown until now. Here, the first evidence of stochastic gene expression in plants, including important patterning genes, was shown. The fluctuation potential of promoters was demonstrated by the usage of photoconvertible proteins as well as by a dual reporter system.

Furthermore the outstanding trichome patterning activator MYC1 was analyzed in more detail. MYC1 showed nucleocytoplasmic shuttling behavior and facilitated the re-location of activators and inhibitors in previous studies. The cytoplasmic MYC1 recruits GL1 from the nucleus into the cytoplasm. TRY is further trapped into the nucleus together with MYC1. In this work the analysis of the subcellular localization of MYC1 and other patterning proteins was extended. Analyses of the nucleocytoplasmic transport of these proteins demonstrated the necessity of internal MYC1 and GL1 signals peptides. Experiments with nuclear localized TRY suggested a reduced movement ability of TRY, in interaction with MYC1, to adjacent cells. Ratiometric co-localization assays revealed a concentration dependent localization of MYC1, GL1 and TRY. Expression of *MYC1* under the control of its endogenous promoter again revealed nuclear and cytoplasmic MYC1 localization in wild type plants, which was altered in patterning mutants. A newly established method allowed the quantification of relative protein stabilities *in vivo* suggesting a stabilization of TRY, CPC and GL1 by MYC1 and GL3, respectively. In addition, CPC showed the highest stability in *Arabidopsis* followed by TRY and the least stable GL1. The results in this work further promote the idea of the repression of TRY by MYC1 explaining a reduced trichome number in *myc1* mutants. However,

this study also suggests a concentration dependent stabilization of TRY facilitating a fine tuning of the trichome patterning machinery.