

Monzur Murshed: The absence of Nidogen-1 does not affect murine basement membrane formation. 2000

Basalmembranen sind spezialisierte extrazelluläre Matrixstrukturen, die sich in direkter Nachbarschaft von Zellen befinden oder verschiedene Zelltypen umgeben. Bereits in frühen Stadien der Embryonalentwicklung haben sie einen großen Einfluß auf die Gewebearchitektur und viele zelluläre Eigenschaften. Die Hauptkomponenten von allen Basalmembranen sind Kollagen Typ IV und Laminin, die beide in vielen Isoformen vorliegen und große, irreguläre Netzwerke durch Selbstpolymerisation ausbilden, sowie das Proteoglycan Perlecan und Nidogene. Die Nidogene/Entactine bilden eine Proteinfamilie, die neben dem in Säugern vorkommenden Nidogen-1, auch ein zweites Mitglied, Nidogen-2, sowie mehrere verwandte Proteine in *Drosophila*, *C. elegans* und Ascidien einschließt. Basierend auf *in vitro* Bindungsdaten geht man davon aus, daß Nidogen-1, das am besten charakterisierte Mitglied dieser Familie, die Netzwerke bestehend aus Laminin und Kollagen Typ IV verbindet und so die Basalmembran stabilisiert. Weiterhin wurde vorgeschlagen, daß Nidogen-1 für die Integration anderer Komponenten wie Perlecan in die Basalmembran notwendig ist. Davon ausgehend sollte der Verlust von Nidogen-1 die Struktur aller Basalmembranen beeinflussen. Um die Rolle von Nidogen-1 *in vivo* zu analysieren, wurden embryonale Stammzellen mit einer Deletion des 3. Exons oder einer Insertion eines promoterlosen LacZ-Gens in das 3. Exon des Nidogen-1 Gens hergestellt und dazu benutzt, Mauslinien zu etablieren. Tiere homozygot für diese Mutationen produzierten weder Nidogen-1 mRNA noch Protein. Überraschenderweise zeigten diese Tiere keinen offensichtlichen Phänotyp, waren fertil und zeigten eine ultrastrukturell normale Basalmembran. Eine verstärkte Anfärbung mit Nidogen-2 Antikörpern wurde in einigen Basalmembranen, in denen normalerweise nur eine schwache Färbung nachweisbar ist, festgestellt. Dies ist wahrscheinlich entweder auf eine Umverteilung von Nidogen-2 aus anderen extrazellulären Matrices in die Basalmembran oder auf eine Demaskierung von Nidogen-2 Epitopen zurückzuführen, da keine Zunahme der Nidogen-2 Produktion festgestellt werden konnte. Diese Ergebnisse zeigen, daß Nidogen-1 für die Organisation und Stabilisierung von Basalmembranen nicht notwendig ist. Inwieweit Nidogen-2 den Verlust von Nidogen-1 in diesen Mäusen kompensiert, kann abschließend nur über die Analyse Nidogen-2 und Nidogen-1/Nidogen-2 defizienten Mauslinien geklärt werden.

Basement membranes are specialised extracellular structures adjacent to or surrounding a large variety of cells. They have a great influence on tissue compartmentalisation and cellular phenotypes from early embryonic development onwards. The major constituents of all basement membranes are collagen IV and laminin, both of which exist as multiple isoforms and form huge irregular networks by self-assembly, the proteoglycan perlecan and nidogens. The nidogens/entactins form a family of related proteins, which in addition to the mammalian nidogen-1 also includes a second member nidogen-2 and several related species from *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans* and ascidians. Based on *in vitro* binding data nidogen-1, the best described member of this family, has been proposed to connect the laminin and collagen IV networks, so stabilising the basement membrane and to integrate other proteins, including perlecan, into the basement membrane. Therefore, the lack of nidogen-1 was expected to affect the structure of all basement membranes. To define the role of nidogen-1 in basement membranes *in vivo*, we disrupted the NID-1 gene by deletion of exon 3 or introduction of a promoterless lacZ gene within exon 3 in embryonic stem cells and used these cells to derive mouse lines. Animals homozygous for these mutations produce neither nidogen-1 mRNA nor protein. Surprisingly, they show no overt abnormalities and are fertile, their basement membrane structure appearing normal. Nidogen-2 staining is increased in certain basement membranes where it is normally only found in scant amounts. This occurs by either redistribution from other extracellular matrices or unmasking of nidogen-2 epitopes, as its production does not appear to be upregulated. The results show that nidogen-1 is not required for basement membrane formation or maintenance. Whether nidogen-2 is compensating for the lack of nidogen-1 is currently under investigation. This

analysis will require the production of nidogen-2 null mouse lines and lines lacking both isoforms.