

2 Zusammenfassung

Der Wnt/ β -catenin Signalweg spielt in nahezu allen biologischen Prozessen, wie der Embryogenese, Entwicklung aber auch der Homöostase, eine essentielle Rolle. Studien mit unterschiedlichsten Schwerpunkten untersuchten daher in den letzten Jahrzehnten sowohl die Struktur und Funktion von β -catenin und einer Anzahl Interaktionspartner, wie auch die Aktivierung der Wnt Signalwege. Die Verknüpfung der Struktur und Funktion von β -catenin mit der räumlich-zeitlichen Aktivierung wird Einblicke in die dynamische Regulation von β -catenin auf Einzelzellniveau liefern.

In der vorliegenden Arbeit wird zu diesem Zweck ein intramolekularer, genetisch codierter Biosensor für die Stabilität von β -catenin in einzelnen lebenden Zellen präsentiert. Für die Entwicklung dieses neuartigen Sensors wurde ein FRET Paar fluoreszenter Proteine mit unterschiedlichen Chromophor-Reifungszeiten verwendet, um die relative Stabilität des Sensors zu definieren. Zusätzlich ergeben genetische Modifikationen einen Sensor, der (1) spezifisch für Wnt induzierte β -catenin Aktivierung ist, (2) nicht die Änderung in der Stabilität vermittelt durch RTK Aktivierung anzeigt und (3) keine transkriptionelle Aktivität besitzt. Dadurch verändert der Sensor weder die Degradationskinetik des endogenen β -catenin, noch die transkriptionelle Aktivität oder die Aktivierung von *feedback* Schleifen. Es wird durch den Sensor die Stabilisierung des β -catenins nach Stimulation mit Wnt Liganden angezeigt.

In FLIM und konventionellen Fluoreszenzmikroskopischen Messungen konnte die Wnt induzierte Stabilisierung des Biosensors innerhalb weniger Stunden nach Induktion nachgewiesen werden. Der Vergleich mit publizierten β -catenin Transkriptionsreportern zeigt, dass der β -catenin Stabilitätssensor deutlich schneller und auf Einzelzellniveau die Aktivierung des Wnt Signalweg anzeigt. Mit diesem β -catenin Stabilitätssensor sind wir nun in der Lage, Ursprung und Schicksal einzelner Zellen nach Wnt Stimulation mit der Stabilisierung von β -catenin zu korrelieren und live in lebenden Zellen zu verfolgen.