



Doctoral Thesis

Identification and characterisation of novel growth-regulating genes in *Drosophila melanogaster*

Author(s):

Rottig, Carmen

Publication Date:

2008

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005560331> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 17548

**IDENTIFICATION AND CHARACTERISATION OF NOVEL GROWTH-
REGULATING GENES IN DROSOPHILA MELANOGASTER**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

CARMEN ROTTIG

Dipl. Biol., University of Bayreuth

born 16.04.1977

Bayreuth, Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. E. Hafen, examiner

Prof. Dr. C. Lehner, co-examiner

2008

1. Summary

The size of an organism is determined by intrinsic, genetic factors and by external factors such as temperature and nutrition. The ability to adjust growth in response to changing nutrient levels provides organisms with an evolutionary advantage to survive periods of starvation. Tight regulation of growth is also required to assure the development of organs and organisms to their correct size. A breakdown of this regulation may result in uncontrolled growth and cancer. Understanding the molecular mechanisms of growth control is therefore important. Experiments in different model organisms have shown that the insulin/TOR signaling network plays a central role in regulating growth. Furthermore, pathways like the Hippo pathway, the EGFR pathway and also the morphogen signaling pathways participate in size control. In order to identify novel factors involved in growth regulation, we performed a genetic screen in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. The genetic tools available in *Drosophila* permit to saturate the genome for mutations of a given phenotype and thereby identify the majority of genes involved in a given biological process. We used the FRT/FLP system that permits the generation of F1 mosaic flies consisting mainly of homozygous mutant head and eye tissue and of otherwise wild-type tissue. Thus, EMS-induced mutations in growth-regulating genes result in flies with bigger or smaller heads. Using this system we screened the autosomes, which represent 80% of the entire *Drosophila* genome, for growth-regulating genes.

In the first part of this work I present the components that were identified as growth inhibitors. In addition to already known components novel growth regulators, such as Serpentine, a putative hydrolase involved in tracheal development was identified. I concentrated on the identification and characterization of the phosphatidylinositol kinase Fab1. Loss of *fab1* function results in increased cell size due to enlarged vesicles within the cell. This phenotype is different from other large-cell phenotypes caused for example by the loss of *PTEN* function and suggests a function of Fab1 in endocytic vesicle trafficking. In the second part I present promising preliminary results on Fab1 function in the insulin/TOR signaling pathway. In the third part I give an overview of the growth-promoting complementation groups and genes that were identified on the right arm of the second chromosome. Amongst these are genes involved in heparan sulphate proteoglycan synthesis and glycosphingolipid synthesis.

This suggests a connecting and intriguing role of the extracellular matrix and sphingolipid metabolism in growth control.

The novel growth-regulating components identified in our screen represent important nodes in the growth regulatory network, which is a further step towards a complete description of the molecular mechanisms of growth control.

2. Zusammenfassung

Die Grösse eines Organismus wird durch intrinsische, genetische Faktoren und durch externe Faktoren wie Temperatur und Nährstoffe bestimmt. Die Fähigkeit Wachstum an wechselnde Nährstoffbedingungen anzupassen, bringt den Organismen einen evolutionären Vorteil, um Zeiten des Nahrungsmangels zu überleben. Zudem ist die exakte Regulation von Wachstum notwendig, um die Entwicklung von Organen und des Organismus zu ihrer richtigen Grösse zu gewährleisten. Ein Fehler in dieser Regulation kann zu einem unkontrollierten Wachstum und zu Krebs führen. Daher ist es wichtig die molekularen Mechanismen der Grössenkontrolle zu verstehen. Experimente in verschiedenen Modellorganismen haben gezeigt, dass der Insulin/TOR Signalweg eine zentrale Rolle in der Wachstumskontrolle einnimmt. Aber auch der Hippo-Signalweg, der EGFR-Signalweg und die Morphogen-Signalwege leisten ihren Beitrag zur Wachstumsregulation. Um neue Komponenten, die an der Wachstumskontrolle beteiligt sind, zu identifizieren, haben wir einen genetischen Screen in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* durchgeführt. Die in *Drosophila* zur Verfügung stehenden genetischen Techniken ermöglichen es, das Genom für Mutationen, die einen bestimmten Phänotyp hervorrufen, zu saturieren. Daher kann die Mehrheit von Genen identifiziert werden, die an einem bestimmten biologischen Prozess beteiligt sind. Wir verwendeten das FRT/FLP-System, das die Herstellung von F1-Mosaikfliegen erlaubt, deren Kopf und Augen hauptsächlich aus mutantem Gewebe bestehen, wohingegen der restliche Teil der Fliege wildtypisch ist. So führen EMS-induzierte Mutationen in Genen, die an der Wachstumsregulation beteiligt sind, zu Fliegen mit grösseren oder kleineren Köpfen. Auf diese Weise wurden die Autosomen, welche 80% des gesamten Genoms von *Drosophila* ausmachen, nach Wachstumsmutanten gescreent.

Im ersten Teil dieser Arbeit präsentiere ich die Komponenten, die im Screen als Wachstumsinhibitoren gefunden wurden. Zusätzlich zu bereits bekannten Komponenten wurden neue Wachstumsregulatoren, wie zum Beispiel Serpentine, eine Hydrolase, die an der Tracheenentwicklung beteiligt ist, identifiziert. Ich habe mich insbesondere auf die Identifizierung und Charakterisierung der Phosphatidylinositolkinase Fab1 konzentriert. Fehlende *fab1*-Funktion führt zu

vergrösserten Zellen aufgrund vergrößerter Vesikel in den Zellen. Dieser Phänotyp unterscheidet sich von anderen Zellgrößen Phänotypen, wie zum Beispiel von dem durch den Verlust der *PTEN*-Funktion hervorgerufenen Phänotyp, und deutet auf eine Funktion von Fab1 im Vesikeltransport bei der Endocytose hin. Im zweiten Teil zeige ich erste viel versprechende Daten, die auf eine Rolle von Fab1 im Insulin/TOR Signalweg hindeuten. Im dritten Teil gebe ich einen Überblick der identifizierten wachstumsfördernden Komplementationsgruppen und Gene auf dem rechten Arm des zweiten Chromosoms. Unter diesen sind Gene, die an der Heparansulphat Proteoglycan-Synthese oder aber an der Glycosphingolipid-Synthese beteiligt sind. Dies schlägt eine verbindende und interessante Rolle der extrazellulären Matrix und Sphingolipidmetabolismus in der Wachstumskontrolle vor.

Die durch unseren Wachstumsscreen gefundenen Komponenten stellen wichtige Knotenpunkte des wachstumsregulierenden Netzwerkes dar. Dies ist ein weiterer Schritt, um eine vollständige Beschreibung der molekularen Mechanismen der Größenregulation zu erhalten.