

6. Zusammenfassung

Nachdem Anfang der 80er Jahre synthetische Hexapeptide in Ableitung vom Met-Enkephalin entwickelt worden waren, die wirkungsvoll die pulsative Ausschüttung von GH durch die Hypophyse anregen konnten, wurden nach und nach die Effekte dieser sogenannten GH-Secretagogues entschlüsselt. 1996 konnte der G-Protein gekoppelte GHS-Rezeptor kloniert werden. Dabei wurden zwei Splicing-Varianten der c-DNS des Rezeptors beschrieben: GHS-R 1a und 1b. Erst 1999 wurde der endogene Ligand des GHS-R, das Ghrelin identifiziert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, mit Hilfe molekularbiologischer Arbeitsweisen die genomische Struktur der beiden GHS-R-Subtypen genauer zu charakterisieren und die Promotorregion zu identifizieren. Durch ein PCR-Poolscreening und nichtradioaktive Detektionsmethoden wurde eine menschliche genomische Plazenta-Genbank mit einer für beide Rezeptorsubtypen spezifischen DNS-Sonde untersucht. Ein gemeinsamer positiver Klon von 18kb konnte detektiert werden, so dass Sequenzierungs- und Trans-fektionsexperimente angeschlossen werden konnten.

Das den GHS-R kodierende Gen zeigte sich ca. 4,1 kb groß. Typ 1a ist von zwei Exons kodiert, der kürzere Typ 1b dagegen nur von einem Exon. Die Transkriptionsfaktorbindungsstelle zeigte sich an Position -227 der 5'-flankierenden Region.

Zur Untersuchung transkriptional aktiver Elemente wurden ca. 2 kb der 5'-flankierenden Region sequenziert. Die transkriptionale Regulation wurde durch Transfektionsexperimente in GH4-Rattenhypophysenzelllinien untersucht, indem Promotorkonstrukte mit Größen von 168 bp bis 1745 bp verwendet wurden.

So sollte ein Beitrag zum besseren Verständnis der komplexen Regulationsmechanismen von Wachstumshormon in der Hypophyse geleistet werden.