

Abstract

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der für die GCNF-Expression verantwortliche Promotor identifiziert und charakterisiert. Es konnten insgesamt fünf Transkriptionsstartpunkte und drei neue cDNS-Spezies durch 5' RACE und RNase-Schutzexperimente identifiziert werden. Die Zelllinien P19, NT2/D1 und JEG3 wurden durch einen Northern Blot mit Nachweis hoher Mengen des GCNF-Transkripts als mögliche Modellsysteme für funktionelle Untersuchungen des GCNF-Promotors identifiziert. Durch Reporteranalysen, unter Anwendung von verschieden langen Deletionskonstrukten, ist es gelungen eine starke Promotoraktivität in den Teratokarzinomazellen P19 und NT2/D1 für die als Promotor identifizierte genomische Region nachzuweisen. Ferner konnte im Rahmen dieser Reporteranalysen eine transiente Hochregulation der basalen Promotoraktivität durch ATRA und 9-cis-Retinsäure gezeigt werden. 9-cis-Retinsäure, Ligand für RXR, war in der Lage die basale Promotoraktivität aller untersuchten Deletionskonstrukte zu steigern. Dagegen zeigte sich keine derartige Induktion durch ATRA, Ligand für RAR, im Fall des kleinsten Deletionskonstruktes. Somit konnte ein genomischer Bereich eingegrenzt werden, der für die bislang beobachtete ATRA-induzierte transiente Hochregulation des GCNF-Transkripts und -Proteins mit verantwortlich zu sein scheint. In diesem Bereich konnte ein DR1-ähnliches Element lokalisiert werden, dessen Rolle in der ATRA-Induktion zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht eindeutig geklärt ist. Durch Software-gestützte Sequenzanalysen ist es schließlich gelungen ergänzende molekulare Erklärungsansätze für die komplexe Retinsäureinduktion zu entwerfen. So scheinen die Transkriptionsfaktoren Sp1, AP-1 und AP-2, für die diverse Bindungsstellen innerhalb des mGCNF-Promotors lokalisiert werden konnten, synergistische Bausteine der beobachteten Retinsäureinduzierbarkeit von GCNF zu sein. Weitere molekular- und zellbiologische Untersuchungen sind notwendig um diese Hypothesen zu belegen und weitere Regulationsmechanismen der GCNF-Expression aufzudecken.