

Zusammenfassung

Das *APM-1*-Gen wurde in der Zervixkarzinom-Zelllinie ME180 in den flankierenden zellulären Sequenzen von integrierter DNA des humanen Papillomvirus Typ 68 (HPV68) entdeckt (Reuter *et al.*, *APM-1*, a novel human gene, identified by aberrant cotranscription with papillomavirus oncogenes in a cervical carcinoma cell line, encodes a BTB/POZ-zinc finger protein with growth inhibitory activity. *EMBO J.*, **17**, 215-222, 1998). Aufgrund der Homozygotie des mutierten Allels mit der integrierten HPV-DNA wurde vermutet, dass es sich bei *APM-1* um ein inaktiviertes Tumorsuppressor-Gen handelt. Eine erste Bestätigung dieser Vermutung erfolgte durch den Nachweis einer inhibierenden Wirkung des *APM-1*-Gens auf das klonale Wachstum von Zervixkarzinom-Zelllinien.

In dieser Doktorarbeit wurden weitere Untersuchungen zur möglichen Rolle des *APM-1*-Gens als Tumorsuppressor durchgeführt. Für funktionelle Studien zur Wachstumsinhibition durch *APM-1* wurde der Versuch unternommen, ein System mit induzierbarer *APM-1*-Expression in HeLa-Zellen zu etablieren. Im Verlauf dieser Arbeit konnten induzierbare Zellklone mit hohem Expressionsniveau jedoch nicht hergestellt werden. Das *APM-1*-Gen codiert für ein Produkt mit N-terminaler BTB-Domäne sowie vier Zinkfingern des *Krüppel*-Typs. Daher wird vermutet, dass das *APM-1*-Protein ein sequenzspezifisch DNA-bindender Transkriptionsfaktor ist. Mit Hilfe von cDNA-Makroarray-Analysen wurde nach möglichen Zielgenen gesucht. Es konnten mit diesem Ansatz jedoch keine Zielgen-Kandidaten ermittelt werden. Ein Kriterium von Tumorsuppressor-Genen ist die Anwesenheit von Mutationen, die zum Verlust der Funktion führen. Daher wurde in Tumorzelllinien verschiedener Gewebe nach Punktmutationen in großen Teilen des proteincodierenden Bereichs von *APM-1* gesucht. Die Ergebnisse zeigen, dass funktionell inaktivierende Mutationen in den translatierten Regionen des *APM-1*-Gens nicht vorkommen.

Außer durch Punktmutationen kann der Funktionsverlust eines Tumorsuppressor-Gens auch durch Abschaltung oder Reduktion der Expression hervorgerufen werden. Aus cDNA-Analysen hatte sich ergeben, dass die zellulären *APM-1*-Transkripte drei verschiedene Klassen 5'-untranslatierter Regionen (UTRs) mit der Bezeichnung p2, a31 und 15C tragen. Dies weist darauf hin, dass *APM-1* von mindestens drei verschiedenen Promotoren aus transkribiert wird. Mit Hilfe von RT-PCR-Analysen wurde gezeigt, dass *APM-1* in Zelllinien und Biopsieproben verschiedener Tumoren heterogen exprimiert wird, wobei in vielen Zelllinien und auch Tumoren die Expression reduziert oder vollständig abgeschaltet ist. Die *APM-1*-Transkription wird offenbar an drei verschiedenen Promotoren gestartet und kann wahrscheinlich durch Methylierung stillgelegt werden. Durch transiente Transfektionsstudien mit Reporter-gen-Konstrukten wurde der Nachweis von Promotor- und Enhancer-Aktivität in den genomischen Regulationsbereichen vor den UTRs der Klassen p2 und 31 geführt. Schließlich wurden erste Hinweise für eine mögliche regulatorische Beziehung zwischen *APM-1* und dem Tumorsuppressor-Gen *p53* aufgezeigt. Die Daten zur Expression und Regulation unterstützen die Hypothese, dass *APM-1* in der Funktion eines Tumorsuppressor-Gens eine Rolle im Prozess der Kanzerogenese spielen könnte.