



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Nicht-genomische Steroideffekte: Nachweis und  
Ligandenbindungstests eines membranständigen Progesteron-  
bindenden Proteins (mPR) in transfizierten Chinese hamster ovary  
Zellen**

Autor: Daniel Grube  
Institut / Klinik: Institut für Klinische Pharmakologie  
Doktormutter: Prof. Dr. M. Wehling

Die genomische Wirkweise der Steroide hat sich als unumstößliches Dogma etablieren können. In den letzten zwei Jahrzehnten gelangten jedoch schnelle, nicht-genomische Steroideffekte in den Blickpunkt wissenschaftlichen Interesses. Nicht-genomische Steroideffekte sind durch ihre kurze Latenzzeit im Sekunden- und Minutenbereich bis zum Effekteintritt sowie durch die fehlende Sensitivität gegenüber Inhibitoren der Transkription und Translation, z.B. Actinomycin D oder Cycloheximid, charakterisiert. Für die Vermittlung der schnellen Steroideffekte wird eine Interaktion zwischen dem Liganden und einem membranständigen Rezeptor mit anschließender Aktivierung einer second-messenger-Kaskade postuliert.

Ein membranständiges mikrosomales Progesteron-bindendes Protein aus der Schweineleber (mPR) wurde in Vorarbeiten identifiziert und seine cDNA- sowie Aminosäureabfolge analysiert. Zur heterologen Expression des Proteins wurden Chinese hamster ovary (CHO) Zellen mit der für mPR kodierenden cDNA transfiziert. Einer der dabei erhaltenen CHO-Zellklone, der Klon A3, erwies sich durch die große Menge an exprimiertem rekombinanten Protein als geeignet und wurde daher für diese Arbeit ausgewählt. Als Kontrolle diente der CHO-Zellklon KTR, der mit einem leeren Vektor transfiziert wurde.

In der vorliegenden Dissertationsarbeit wurde der unter Verwendung von SDS-PAGE und Western-Blot die erfolgreiche Transfektion der CHO-Zellen nachgewiesen. In Ligandenbindungstests mit [<sup>3</sup>H]-Progesteron wurde die Bindungskapazität für Progesteron, die Bindungsspezifität gegenüber ausgewählten Steroidhormonen sowie die pH-Abhängigkeit der Bindung des rekombinanten mPR untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß der mit der cDNA von mPR transfizierte CHO-Zellklon A3 im Vergleich zu einer Kontrolle (CHO-KTR) eine signifikant ( $p < 0.01$ ) größere Progesteron-bindungskapazität besitzt. Die Ergebnisse der Affinitätsuntersuchung gegenüber verschiedenen Steroidhormonen zeigen im Vergleich zu den vorgelegenen Daten des nativen mPR aus Schweineleber eine starke Korrelation. Auch der ermittelte optimale pH-Bindungsbereich von pH 6 deckt sich mit den Werten der Untersuchungen an dem nativen mPR.

Mit dieser Dissertationsarbeit konnte bestätigt werden, daß es sich bei mPR zumindest um einen Anteil des ersten erfolgreich transfizierten membranständigen Progesteronrezeptors handelt.