



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

**Regulation der Genexpression des humanen membranständigen
putativen Progesteron-Rezeptorgens (hmPR) in Hepatom-Zellen
(HepG2)**

Autor: Daniela Besong Agbo
Institut / Klinik: Institut für Klinische Pharmakologie
Doktorvater: Prof. Dr. M. Wehling

Das Gen für das humane membranständige Progesteron Bindeprotein (hmPR) wurde in vorangegangenen Versuchen als Ortholog des aus porcinen Lebermikrosomen isolierten Proteins gleicher Funktion identifiziert. hmPR wird in verschiedenen Geweben exprimiert; aufgrund funktioneller Studien wurde eine Beteiligung an der Vermittlung nicht-genomischer Effekte von Progesteron postuliert. Das *hmPR*-Gen besteht aus drei Exons und zwei Introns, wobei die potenzielle Transmembran-Domäne komplett vom ersten Exon kodiert wird. Die 5'-Stromaufwärtsregion wurde auf bekannte Transkriptionselemente untersucht. Es wurde keine TATA-Box gefunden, dafür aber eine Sequenz mit einer hohen Homologie mit einer sogenannten Initiator-Sequenz.

Da *hmPR* größtenteils in der Leber exprimiert wird, sollte in dieser Doktorarbeit der molekulare Mechanismus der Regulation der *hmPR* Genexpression in Leberzellen untersucht werden.

Hierzu wurden Hepatom-Zellen (HepG2) mit verschiedenen 5'- und 3'-Deletionsmutanten von hmPR-Promotor / Luziferase Konstrukten transient transfiziert und deren Luziferaseaktivität als Maß der Promotoraktivität gemessen. Eine Region zwischen den Basenpaaren -21 und +110, die unter anderem Bindungsstellen für den Transkriptionsfaktor SP1 enthält, ist erforderlich für die konstitutive hmPR Promotoraktivierung. Dieser konstitutive Promotorbereich wird durch AhR/Arnt Bindestellen, die sich im proximalen und distalen Promotorbereich befinden, verstärkt. Elektrophoretische Gelretardationsexperimente (EMSA) haben die Funktionalität der AhR/Arnt und SP1-Bindestellen bestätigt. Erste Hinweise haben gezeigt, dass NF-AT- und GRE-Bindestellen potenzielle Silencer der *hmPR*-Genexpression darstellen. Deren Wechselwirkung mit AhR/Arnt Bindestellen wurde bereits publiziert.

Stimulationsexperimente, bei denen HepG2-Zellen mit hmPR-Promotor / Luziferase Konstrukten transient transfiziert und mit verschiedene Substanzen inkubiert wurden, zeigen dass der hmPR-Promotor durch AhR-Liganden wie Omeprazol und 6-Formylindolo-[3,2-b]-carbazol aktiviert und durch α -Naphthoflavin, einen Antagonist der Xenobiotika-induzierten Genexpression, gehemmt wird. Die Expression von *hmPR* wird auch durch Progesteron, einen bekannten hmPR-Ligand, einerseits über die Bindung an GRE-Bindestellen im distalen Promotorbereich und andererseits über Wechselwirkung mit *cis*-Elementen im Kernpromotor moduliert.

Es konnte ein Zusammenhang zwischen den SP1-, GRE- und AhR/Arnt-Bindestellen gezeigt werden. Die Regulation des *hmPR*-Gens, die deutliche Ähnlichkeit mit anderen Xenobiotika-induzierten Genen wie Cytochromen zeigt, weist darauf hin dass es sich bei hmPR um ein metabolisch wirkendes Enzym handelt. HmPR könnte wie das bereits publizierte homologe Protein IZAg (Inner Zone Antigen der Nebennierenrinde) der Ratte eine Rolle in der Synthese und/oder im Metabolismus von Steroiden spielen.