

Oliver Müller
Dr. med.

Charakterisierung der Aktivität des glattmuskulären Myosin-Schwerketten-Promotors im transgenen Tiermodell

Geboren am 9.5.1971 in Heilbronn a.N.
Reifeprüfung am 22.5.1990 in Neckarsulm
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis SS 1998
Physikum am 29.3.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Durham, USA, Houston, USA und Heidelberg
Staatsexamen am 3.6.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. H.A. Katus

Transgene Tiere erlauben die systematische Analyse einer Promotorsequenz ab dem frühen Embryonalstadium *in vivo*. Ferner ermöglicht das transgene Tiermodell eine detaillierte Untersuchung der Gewebespezifität der regulatorischen Sequenz. Dies ist insbesondere für den gezielten Gentransfer von Bedeutung, da durch die regulatorische DNA-Sequenz die Expression eines therapeutischen Gens außerhalb des Zielgewebes verhindert werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob der Promotor der Myosinschwerkette der glatten Muskulatur (SMHC) aus Kaninchen die spezifische Expression eines Reportergens in glatten Gefäßmuskelzellen *in vivo* ermöglicht. Hierzu wurden transgene Maus- und Kaninchenlinien etabliert, in denen die 2,3 kb vor dem Transkriptionsstart gelegene regulatorische SMHC-Sequenz die Expression eines Luciferase-Reportergens steuert. Bei der Analyse eines repräsentativen Querschnittes von Organen adulter heterozygoter Mäuse wurden die höchsten Luciferaseaktivitäten in der Aorta thoracica und abdominalis, in Mesenterialgefäßen sowie den Arteriae femorales, iliacae und renales gemessen. In venösen Gefäßen wie der Pfortader oder der Vena cava inferior sowie im Gastrointestinaltrakt wurden dagegen nur geringe Reporter-gen-Aktivitäten beobachtet. In transgenen Kaninchen waren die durchschnittlichen Luciferase-Aktivitäten im arteriellen System um den Faktor fünf höher als in transgenen Mäusen. Wiederum fanden sich in der Pfortader und der Vena cava inferior nur geringe Lichtaktivitäten. Im Gegensatz zum transgenen Mausmodell wurden in Kaninchen in anderen Organen mit einem hohen Anteil glatter Muskelzellen nahezu keine Reporter-gen-Aktivitäten gemessen. In beiden Spezies konnte zudem eine signifikante Aktivität in den Koronararterien nachgewiesen werden. Damit wurde gezeigt, daß der 2,3 kb große SMHC-Promotor eine gezielte Genexpression im arteriellen System adulter transgener Mäuse und Kaninchen ermöglicht. Um die Spezifität des SMHC Promotors während der Embryonalentwicklung zu untersuchen, wurde das Expressionsmuster des Luciferase-Reportergens mit dem der endogenen SMHC-mRNA durch *In Situ*-Hybridisierung histologischer Schnitte von 11,5 und 14,5 Tage alten Mausembryonen verglichen. Während die endogene SMHC-mRNA sowohl in viszeralem als auch in vaskulärem glatten Muskelgewebe gefunden wurde, blieb die Luciferase-Expression auf das Gefäßsystem beschränkt. Daneben fand sich jedoch eine deutliche Reporter-gen-Expression im ventrikulären Myokard, die eine Woche nach der Geburt nicht mehr nachweisbar war. Dies weist auf das Vorkommen gemeinsamer Transkriptionsfaktoren hin, welche die Entwicklung von Kardiomyozyten und glatten Gefäßmuskelzellen steuern. Der Nachweis von spezifischer

Promotoraktivität im Gefäßsystem, nicht jedoch in viszeralem glatten Muskelgewebe adulter transgener Mäuse und Kaninchen zeigt, daß unterschiedliche Faktoren die Genexpression in vaskulären und viszeralen glatten Muskelzellen beeinflussen. Der 2.3 kb SMHC-Promotor bietet sich daher für eine gezielte Expression pathophysiologischer Gene im Tiermodell oder die Expression von therapeutischen Genen in der Gefäßmuskulatur an.