

Regulation des POU Faktors Brn-3a und Analyse seiner Effektorgene

Bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Proteinen Brn-3a(l) und Brn-3a(k) handelt es sich um POU Transkriptionsfaktoren, die während der Embryogenese zeitlich limitiert in neuronalen Zellen exprimiert werden. Beide Proteine werden von einem Gen kodiert und unterscheiden sich nur im N-Terminus. Sowohl Brn-3a(l) als auch Brn-3a(k) sind transkriptionelle Aktivatoren, unterscheiden sich jedoch in ihrem onkogenen Potential. Im Gegensatz zu Brn-3a(k) ist Brn-3a(l) ein Protoonkogen. Bei der Brn-3a(l) induzierten Transformation von Zellen wirkt Brn-3a(k) sogar als Antagonist von Brn-3a(l).

Zunächst wurde der 5' Bereich des humanen Brn-3a Gens isoliert und sequenziert. Durch Primer Extension Experimente konnten vier Transkriptionsstartstellen direkt vor dem Translationsinitiationskodon von Brn-3a(l) lokalisiert werden. Im Falle des Brn-3a(l) Promotors handelt sich um einen TATA-losen Promotor, der zwei Basalpromotorelemente besitzt. Desweiteren wurde der 5' Bereich von Brn-3a(l) durch Reportergenexperimente funktionell charakterisiert.

Der Promotor von Brn-3a(k) wurde im Intron von Brn-3a(l) lokalisiert. Es handelt sich hierbei um einen Null-Promotor, der mehrere Transkriptionsstartstellen und keine Basalpromotorelemente enthält. Die Brn-3a(k) Transkription wird durch ein DNA-Repressorelement reguliert. Es wurde eine 24 Nukleotide umfassende Sequenz, S24, identifiziert. An diese findet spezifisch Proteinbindung statt, und sie ist essentiell für die Repression der Transkription von Brn-3a(k). Weiter upstream gelegen befindet sich ein zweiter DNA-Abschnitt, der die reprimierende Wirkung von S24 verstärkt. Bei dem DNA-Element S24 handelt es sich um einen klassischen Silencer, der auf heterologe Promotoren wirkt. Er hat jedoch nur einen geringen Einfluß auf die Transkription von Brn-3a(l). Der Promotor von Brn-3a(l) wirkt dominant und reprimiert somit den Promotor von Brn-3a(k), so daß Transkription von Brn-3a(k) nur dann stattfindet, wenn der Brn-3a(l) Promotor inaktiv ist. Neben der transkriptionellen Regulation des Brn-3a Gens wurden auch seine Effektorgene analysiert. Dazu wurden induzierbare Brn-3a(l) Zelllinien hergestellt, um mit Hilfe einer DNA-Array-Analyse Zielgene von Brn-3a(l) zu finden. Hierbei wurden mehrere potentielle Zielgene von Brn-3a(l) identifiziert.