

Abstract

Die Expression des gewebespezifischen Transkriptionsfaktors HNF1 α konnte in der vorliegenden Arbeit bei *Xenopus laevis* Larven unmittelbar vor der Metamorphose neben dem mesodermalen Mesonephros (persistierende Form der Niere bei Amphibien) auch in den entodermalen Geweben Darm, Leber und Pankreas nachgewiesen werden.

Während ein langes HNF1 α Promotorfragment (-5949/-58) in transgenen *Xenopus laevis* Larven eine Expression sowohl in der mesodermalen Niere als auch in entodermalen Geweben auslöst, ist ein kurzes HNF1 α Promotorfragment (-594/-58) nicht ausreichend, um eine korrekte Expression des Transgens im *Xenopus* zu steuern. Durch das Einbringen unterschiedlicher HNF1 α Promotorfragmente als Transgen konnte der regulatorische Bereich im HNF1 α Promotor kartiert werden, welcher für eine korrekte Expression des Transgens verantwortlich ist. Es zeigte sich, dass eine Deletion stromabwärts von Position -2589bp zu einem Verlust entodermaler Aktivität sowie zu einer transienten Mosaikexpression einzelner GFP-fluoreszierender Zellen in frühen Stadien der Larvalentwicklung führt.

Ein Flankieren des kurzen HNF1 α Promotorfragmentes (-594/-58) mit einer doppelten Kopie des β -Globin Insulators 5'-HS4 resultiert in einer korrekten Expression des Transgens sowohl in mesodermalen als auch in entodermalen Geweben, was auf ein regulatorisches Insulatorelement im HNF1 α Promotor deutet, welches den Promotor des Transgen vor Einflüssen des umliegenden Chromatins schützen kann, und so für eine korrekte Expression des Transgens verantwortlich ist.

Basierend auf einem in dieser Arbeit entwickelten Assay zum Nachweis der „Enhancer Blocking“ Aktivität des β -Globin Insulators 5'-HS4 des Huhns durch transiente Transfektion von HeLa-, HEK293- und FT02B-Zellen konnten zwei Fragmente im HNF1 α Promotor identifiziert werden, welche die Fähigkeit eines Insulators aufweisen, bei einer Lokalisierung zwischen einem Enhancer und einem Promotor die Aktivierung des Promotors durch den Enhancer blockieren zu können. Diese Fragmente liegen in einem Bereich von Position -4036bp bis -2517bp, und damit stromaufwärts des Bereiches des HNF1 α Promotors, welcher mit dem Schutz vor chromosomalen Positionseffekten verbunden ist.

Die Ergebnisse deuten folglich darauf hin, dass die klassischen Eigenschaften des in dieser Arbeit identifizierten HNF1 α Insulators, Schutz vor chromosomalen Positionseffekten und „Enhancer Blocking“ Aktivität, zwei separate Aktivitäten darstellen, welche in verschiedenen Bereichen des Promotors lokalisiert sind.

Mit Hilfe von Gelretardations-Kompetitionsexperimenten konnten potentielle Bindestellen für den multivalenten Transkriptionsfaktor CTCF, welche mit der „Enhancer Blocking“ Aktivität des β -Globin Insulators und anderer Vertebraten-Insulatoren assoziiert sind, im HNF1 α Promotor stromaufwärts von Position -2269bp identifiziert werden. Die CTCF-Bindestellen sind demnach nicht unmittelbar mit der „Enhancer Blocking“ Aktivität des HNF1 α Insulators verbunden, sondern sind vielmehr in einem Bereich des Promotors lokalisiert, welcher mit dem Schutz vor chromosomalen Positionseffekten assoziiert ist.