

6. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen eines Forschungsprojektes über die Expression nebenhodenspezifischer Sekretproteine stellte sich der Hundenebenhoden als geeignetes Modellsystem für den Menschen dar. Durch differentielles Screening einer caninen Nebenhodenbank wurden neuartige nebenhodenspezifische mRNAs entdeckt und mit CE7-10 (canine epididymidis) bezeichnet.

In der vorliegenden Arbeit konnte der noch unbekannte 5' Bereich des CE8 Transkripts mit Hilfe der 5'-Inversen PCR identifiziert werden. Es wurden drei unabhängige PCR-Produkte mit größtenteils kolinearen Sequenzen isoliert. Das längste Produkt hatte eine 800bp lange Sequenz, die der gesamten Transkriptlänge entspricht. Die abgeleitete Aminosäuresequenz ließ eine Zugehörigkeit des putativen CE8-Proteins zur LY6-Überfamilie erkennen. CE10 wurde erneut sequenziert und das gesamte offene Leseraster von 357bp erfaßt. Es ergibt sich ein 93 Aminosäuren umfassendes "four-disulfid-core-protein" mit einer WAP-Domäne (Whey acidic protein).

Mit den schon vorher bekannten CE7 und CE9 Sequenzen und den neuen CE8 und CE10 Sequenzen wurden zur Untersuchung der evolutiven Konservierung der mRNAs nicht radioaktive Northern Hybridisierungen unter nicht stringenten Bedingungen durchgeführt. Mit der caninen CE7-Sonde wurden kreuzhybridisierende Transkripte bei Rind und Ratte detektiert. CE8 ergab ein Signal bei Rind und Hund. Mit CE9 kreuzhybridisierende Banden konnten beim Eber und beim Ruden nachgewiesen werden. Ein sehr schwaches Signal deutete sich auch beim Menschen und bei der Ratte an. CE10 konnte dagegen außer beim Hund bei keiner der untersuchten Tierarten nachgewiesen werden.

Für alle vier Transkripte wurde eine Altersabhängigkeit beobachtet, die in engem Zusammenhang mit dem regionspezifischen Expressionsmuster steht. Die überwiegend im Caput exprimierte mRNAs CE7, CE8 und CE9 nehmen mit zunehmendem Alter in ihrer Expressionshäufigkeit ab. Das nur in der distalen Epididymis exprimierte CE10-Transkript nimmt im Alter zu. Statistisch signifikante Altersunterschiede ergaben sich für die CE7 und CE8 mRNAs.

7. SUMMARY

KATJA TAUBHORN, geb GEBHARDT

Differential Expression of epididymis specific mRNAs in the dog

As part of a global appraisal of specific gene expression in the epididymis the canine epididymis has been successfully used for many years as an appropriate model for the human. Earlier studies using differential screening of a canine epididymal cDNA library have identified numerous canine epididymis gene products (CE) which have been designated CE7-10.

In this dissertation additional sequence information for the CE8-encoding gene transcript was obtained by an inverse PCR protocol. Three independent CE8-encoding PCR products with mutually co-linear sequences were isolated, the longest one comprised 800 nucleotides, which seemed to be, in comparison with the result from the Northern hybridisation, nearly full-length. The open reading frame of this product encodes a protein that shows high homology to the LY-6 superfamily. CE10 was sequenced again, as the sequence was not clear and the entire open reading frame (357bp) was found. The pattern of cysteine residues suggested that CE10 is a four-disulfide-core-protein with one WAP-domain.

The interspecies conservation among mammals of the already known CE7 and CE9 sequences (BEIGLBOCK et al. 1998) and the new CE8 and CE10 sequences was studied by non-radioactive, low stringency Northern blot hybridisation. With the heterologous canine CE7 cDNA probe cross-hybridisation was found in the bull and rat epididymis, whereas CE8 cDNA signals were only detected in the epididymis of the bull. CE9 cross-hybridising homologues were found in the epididymis of the boar with weak signals being found in the human and rat. No specific cross hybridising signals were found for the CE10 transcript in the human, the bull, the rat nor the pig.

The mRNA frequency of all four transcripts seemed to be correlated with age and the age related alterations were dependent on the regional expression pattern of the transcripts. The mostly caput-expressed transcripts CE7, CE8 and CE9 were reduced with increasing age, whereas the expression of the CE10 mRNA, which is located only in the cauda, increased with age. Significant age-related decrease was confirmed for CE7 and CE8 mRNAs.