

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Expression von Genen, die Zellwachstum und -proliferation regulieren, ist bei Krebserkrankungen verändert oder mutiert und führt zu unkontrollierter Zellzyklus-Progression. Zu den potentesten Wachstumsregulatoren zählen sowohl TGF- $\beta$ 1 als auch p21 und c-myc.

TGF- $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor beta 1) reguliert in Assoziation mit seinem Bindungsprotein sLTBP-4 (»short form« des Latent TGF- $\beta$  Binding Protein 4), das als wichtigster Modulator der TGF- $\beta$ 1-Bioverfügbarkeit gilt, verschiedenste Funktionen in epithelialen Zellen, wobei seine antiproliferative und somit tumorsuppressive Wirkung eine Hauptfunktion darstellt. Ein Mangel an TGF- $\beta$ 1 führt sowohl zu einer reduzierten Expression des tumorsuppressiven CDKI (Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitoren) p21, als auch zu einer vermehrten Expression des Protoonkogens c-myc. Beide Mechanismen bedingen sich gegenseitig, sind somit prokanzerogen und induzieren eine verstärkte und ungehemmte Proliferation epithelialer Zellen.

In einem *in vitro*-Modell mit der epithelialen Zelllinie HEK293T wurde in der vorliegenden Arbeit mittels quantitativer Expressionsanalyse untersucht, inwiefern p21 und c-myc in Zellen mit einer modulierten LTBP-4-Expression einer differentiellen Expression unterliegen. Ziel war hierbei das nähere Verständnis der Korrelation des TGF- $\beta$ 1-Bindungsproteins LTBP-4 mit dem CDKI p21 und dem Protoonkogen c-myc in der Karzinogenese epithelialer Zellen.

Im Rahmen der molekularbiologischen Untersuchungen wurde zunächst das Genesilencing sowie die Überexpression des sLTBP-4-Gens in HEK293T-Zellen etabliert. Die Ergebnisse der proteinbiochemischen Untersuchungen ergänzten auf qualitativer Basis den molekularbiologischen, quantitativen Nachweis einer erfolgreichen sLTBP-4-Überexpression in HEK293T Zellen. In diesen Zellen wurde das sL4-V5-Fusionsprotein regelmäßig detektiert, was eine erfolgreiche Translation dokumentiert.

In den folgenden qPCR-Analysen unterlagen die Gene TGF- $\beta$ 1, p21 und c-myc im vorliegenden *in vitro* - Modell des sLTBP-4-knock-down entgegen den Erwartungen keiner Expressionsregulation.

In sLTBP-4-überexprimierten Zellen wurde eine vermehrte Genexpression von TGF- $\beta$ 1 und p21 sowie eine verminderte c-myc-Expression wie erwartet festgestellt.

Die Ergebnisse zeigen somit eine Wechselbeziehung der untersuchten Zielgene im sLTBP-4-Überexpressionsmodell und verdeutlichen deren Expressionskorrelation in der Karzinogenese epithelialer Tumoren.