

10 Zusammenfassung

Der Gewebe-Typ Plasminogenaktivator (*tPA*) ist eine Serinprotease, der neben seiner bekannten Rolle im fibrinolytischen System auch als wichtiger Mediator von kognitiven Prozessen erkannt worden ist. Ein Verständnis der Rolle von *tPA* in der Regulation der neuronalen Plastizität (z. B. der Remodellierung von Synapsen), der neuronalen Degeneration und der Erinnerungsbildung (long-term potentiation) erfordert die Untersuchung der Genregulation im Nervengewebe. Diesbezüglich liegen bis dato nur wenige *in vitro* Daten und keinerlei *in vivo* Daten vor.

Neurotrophine regulieren die Expression von *tPA* in Abhängigkeit von Zeit und Dosis. Eine 2,4-2,5fache EC_{50} induzierte bei NGF (Nerve Growth Factor, 100 ng/ml) nach 48 h einen 4fachen steady-state Level der mRNA Expression, während die Neurotrophine BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor, 5 ng/ml) und NT-4 (Neurotrophin 4, 25 ng/ml) hingegen schon jeweils nach 4 h ein um ~5fach erhöhtes Expressionsniveau induzierten, das nach etwa 8 h wieder auf den ursprünglichen Wert absank. NT-3 (Neurotrophin 3, 5 ng/ml) zeigte keinerlei Effekte. Die beobachteten Induktionseffekte waren unabhängig von einer *de novo* Proteinsynthese und nicht auf eine Veränderungen in der mRNA Stabilität zurückzuführen. Eine für die Stimulation der Transkription verantwortliche Promotorregion konnte in Transaktivierungsassays nicht identifiziert werden.

Die *in vivo* Untersuchung des *tPA*-Gens in den Neuroblastom-Zelllinien (SK-N-SH, SNB-19, KELLY) zeigte DNaseI hypersensitive Bereiche im Promotor (bis zu -3.6 kb, bis zu -5.3 kb untersucht), dem ersten und dem dritten Intron. Die detaillierte Untersuchung der DNaseI hypersensitiven Bereiche im Promotor mittels der *in vivo* Footprinting-Analyse ergab 46 geschützte responsive DNA-Bereiche, die mit 28 bekannten Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren (Sequenzähnlichkeit >90 %) korrespondieren. Des Weiteren wurden 27 geschützte DNA-Regionen von wenigen Basen Länge identifiziert, die mit keinen bekannten Bindungsstellen korrelieren (Sequenzähnlichkeit >90 %). Viele der identifizierten cis-aktiven DNA-Elemente (z. B. AP1, SP1, NFAT, NF- κ B etc.) sind bereits in einen Kontext mit Differenzierungsprozessen gestellt worden und stützen die publizierten Befunde einer Mitwirkung von *tPA* an diesen Vorgängen.

Eine fast perfekte NF- κ B Erkennungssequenz (91-100 % Sequenzidentität zu den NF- κ B/Rel-Familie Erkennungssequenzen) ~3,1 kb oberhalb des Transkriptionsstarts wurde in Reporter-genvektoren kloniert, mutiert und als Enhancer der *tPA* Transkription identifiziert. Sie ist verantwortlich für eine 11-13fache Induktion durch Phorbol-12-myristat-13-acetat (PMA) im neuronalen Gewebe.