

5. SUMMARY

5.1. Summary

The androgen receptor (AR) acts as a hormone-inducible transcription factor. It binds to steroid response elements (SREs), also recognized by progesterone and glucocorticoid receptor (PR, GR, respectively). To better understand the mechanisms of androgen-specific gene regulation, the promoter of murine *Pem* was analyzed. *Pem* is a member of the *PEPP* homeobox genes, and one of the very few known genes under selective androgen control. Two androgen response elements (AREs) were identified, which are responsible for AR-selective gene control of *Pem*.

Using the *Pem* promoter as model it was shown that the mechanism of AR selectivity can result from modulation of AR function by the type of DNA response element. AR exhibited less binding to AREs than to SREs even though stronger transactivation was observed for AREs. Different digestion patterns in limited protease digests of ARE- or SRE-bound AR complexes indicated distinct conformations and/or composition of the complexes. In transactivation assays, mutations in the dimerization interface of the AR DNA-binding domain had various effects, depending on the class of response elements tested (ARE versus SRE). The impact of the equivalent mutations introduced into the PR and GR differed, indicating that the dimerization interface of the three steroid receptors played distinct roles and contributed to receptor selectivity. Coactivators such as TIF2 and ARA55 stimulated AR activity to different extents, with the AREs being more responsive in absolute terms than the SREs. Element-specific effects were also observed in presence of two enzymes involved in the sumoylation pathway: PIASx α had little influence on SRE-mediated AR activity but was repressive in presence of AREs whereas Ubc9 enhanced AR effects conveyed by SREs. Synergy, which is partly regulated by sumoylation, was found to vary in an element-dependent way between AR, PR and GR. Altogether these results indicate that the DNA response element is a key determinant for steroid-receptor specificity of gene regulation.

In an effort to identify the human *Pem* orthologue, *OTEX*, an androgen-regulated gene with 32% identity in the deduced homeodomain was found. The gene is mainly expressed in testis, epididymis and ovary. Due to a nuclear localization signal which is conserved among all members of the *PEPP* homeobox proteins, it resides exclusively in the nucleus. *OTEX* represents a novel, androgen-regulated, paired-like homeobox protein related to *Pem*, with a potential role in human reproduction.

5.2. Zusammenfassung

Der Androgenrezeptor (AR) ist ein hormoninduzierbarer Transkriptionsfaktor. Er bindet, genau wie der Progesteron- und Glucokortikoidrezeptor (PR und GR), an steroidresponsive DNA Elemente (SRE). Um den Mechanismus der androgen-spezifischen Genregulation besser zu verstehen, wurde der Promoter des Maus *Pem* Gens näher untersucht. *Pem* ist eines der wenigen bekannten selektiven Zielgene des ARs und Mitglied der *PEPP* Homeoboxgene. Es wurden zwei androgenselektive DNA Elemente (ARE) gefunden, die für die AR-selektive Expression von *Pem* verantwortlich sind.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass durch die Modulation des ARs durch verschiedene DNA-Elemente eine AR-Selektivität erreicht werden kann. So bewirken die ARE eine stärkere Transaktivierung, obwohl ihre Bindung an den AR schwächer ist als die der SRE. In partiellen Proteaseverdauen erzeugten ARE-AR- und SRE-AR-Komplexe unterschiedliche Muster, was für eine unterschiedliche Konformation und/oder Zusammensetzung der Komplexe spricht. In Transaktivierungsstudien waren die Effekte von Mutationen der AR Dimerisierungsbereiche elementabhängig (ARE gegenüber SRE). Die equivalenten Mutanten des PR und GR verhielten sich unterschiedlich, was dafür spricht, dass die Dimerisierungsbereiche eine wichtige Rolle für die jeweilige Rezeptorselektivität von AR, PR und GR spielen. Kofaktoren wie TIF2 and ARA55 steigerten die AR Aktivität unterschiedlich stark, wobei mit ARE die höchsten Werte erreicht wurden. Weiterhin konnten elementspezifische Effekte nach Koexpression zweier Enzymen beobachtet werden, die bei der Sumoylierung des ARs eine Rolle spielen: So hatte PIASx α einen geringen Einfluss auf SRE-vermittelte AR-Aktivität, während es die ARE-vermittelte hemmte. Ubc9 hingegen steigerte die Effekte auf SREs. Synergieeffekte des ARs, PRs und GRs, die zum Teil sumoylierungsabhängig sind, wurden von DNA-Elementen unterschiedlich beeinflusst. Zusammenfassend zeigen die Daten, dass das DNA-Element eine Schlüsselfunktion in der rezeptorspezifischen Genregulation darstellt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde versucht das humane *Pem*-Ortholog zu identifizieren. Hierbei wurde ein androgenreguliertes Gen, *OTEX*, mit 32% Identität zur Homeodomäne von *Pem* gefunden. Das hauptsächlich nukleär lokalisierte *OTEX* ist vor allem im Testis, Epididymis und Ovar exprimiert. Das mit *Pem* verwandte *OTEX* stellt ein neues, androgenreguliertes, paired-ähnliches Homeoprotein dar, das eine wichtige Rolle bei der Fortpflanzung des Menschen spielen könnte.