

2 Fragestellung

Zahlreiche kardiovaskuläre Zielgene für Nkx2.5 konnten sowohl in vivo (u.a. Myosin-light-chain-2v (MLC2v), atrialer natriuretischer Faktor (ANF) und B-Typ natriuretisches Peptid (BNP) (Tanaka et al. 1999)) als auch in vitro (kardiales α -Aktin (Chen und Schwartz 1996)) bereits identifiziert werden.

Eine Interaktion zwischen dem Transkriptionsfaktor Nkx2.5 und dem Endothelinsystem, zwei essentiellen Faktoren der Herzentwicklung, ist dagegen noch nicht beschrieben worden. Sie ist deshalb von Interesse, da vermutet wurde, daß Nkx2.5 die isoformspezifische Expression von ECE-1 in myokardialen Zellen regeln könnte. Diese Hypothese basiert auf Befunden von Orzechowski et al. (1997) und Funke-Kaiser et al. (2000), die alternative ECE-Promotoren klonierten und mittels Sequenzanalyse Konsensussequenzen für Nkx2.5 in der 5'-regulatorischen Region der ECE-1a und -1b-Isoform nachweisen konnten.

In der hier vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, ob der Transkriptionsfaktor Nkx2.5 und das Endothelinsystem, v.a. das Endothelin-Konvertierungsenzym-1, interagieren bzw. ob Nkx2.5 in der Lage ist die ECE-1-Expression zu regulieren.

Dazu wurden mehrere Ansätze verfolgt:

- Eine Untersuchung der Genexpression in einer Kardiomyoblastenzelllinie (H9c2) auf mRNA- (für Nkx2.5 und ECE-1) und auf Proteinebene (für Nkx2.5), da die Koexpression eine notwendige Voraussetzung für eine Interaktion darstellt.
- Eine Untersuchung der Genexpression von Nkx2.5 und der ECE-1-Isoformen in Herzgewebeproben von Patienten mit angeborenen Herzfehlern und in embryonalen Rattenherzanlagen (auf mRNA-Ebene).

- Eine in-vitro Untersuchung der funktionellen Promotoraktivität der einzelnen Isoformen in Abhängigkeit von Nkx2.5 mittels transienten Transfektionsexperimenten.
- Eine Untersuchung der Protein-DNA-Interaktion zwischen dem Nkx2.5-Protein und den Nkx2.5-Konsensussequenzen im ECE-1a- und ECE-1b-Promotor mittels Bandshift-Analyse.