

University of Groningen

## Liver-specific regulation of the oestrogen-inducible apoVLDLII gene

Wijnholds, Jan

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1991

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Wijnholds, J. (1991). *Liver-specific regulation of the oestrogen-inducible apoVLDLII gene*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## SAMENVATTING

Dit proefschrift beschrijft de regulatie van de expressie van het Very-Low-Density Apolipoproteïne II (apoVLDLII) gen van de kip. Het gen codeert voor de kleine subeenheid van het VLDL complex dat in de eidooier terecht komt. Normaliter komt het gen alleen tot expressie in de lever van de leggende hen, maar het kan ook in hanen en onvolwassen kippen geactiveerd worden, namelijk door inspuiting van het vrouwelijke geslachtshormoon oestradiol. In hoofdstuk 1 wordt een overzicht gegeven van de regulatie van de genexpressie in hogere organismen.

In hoofdstuk 2 zijn de eiwit-DNA interacties *in vivo* onderzocht met dimethylsulfaat (DMS) footprinting; een techniek waarmee interacties van DNA-bindende eiwitten met guanosine basen worden gedetecteerd. We vonden verschillende van deze interacties in het promotor gebied van het apoVLDLII gen. Voor al deze interacties geldt dat ze alleen aanwezig zijn in het orgaan waarin het apoVLDLII gen tot expressie komt, dus wél in de levers van een leggende hen en met oestradiol behandelde kip, maar niet in weefsels zoals oviduct en hanelever. Eiwit-binding werd gevonden op verscheidene DNA sequenties, enkele van deze sequenties lijken op het oestradiol response element (ERE) en op het COUP-element. Activering van de transcriptie van het gen door oestradiol lijkt dus gepaard te gaan met de vorming van een eiwit-DNA complex, bestaande uit verschillende factoren, op de apoVLDLII promotor.

In hoofdstuk 3 werden deze experimenten verder uitgebreid met genomische DNaseI footprinting en eiwit-DNA interactie studies *in vitro*. Hierdoor verkregen we een gedetailleerd beeld van de eiwit bindingsplaatsen in de apoVLDLII promotor. Er blijken acht bindingsplaatsen (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, D, ERE<sub>1</sub>, ERE<sub>2</sub>, F) voor eiwitten te zijn in de eerste 300 bp vóór het gen. Element A is de herkenningsplaats voor de algemeen voorkomende COUP-transcriptie factor (COUP-TF) en bovendien voor een factor die uit de resultaten in hoofdstuk 4, de transcriptie factor LF-A1 blijkt te zijn. Elementen B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> en D zijn de herkenningsplaatsen voor de CCAAT-enhancer binding protein (C/EBP). Element D kan ook worden gebonden door een andere factor, namelijk het element-D bindend proteïne (DBP). Element C kan net als element A worden gebonden door LF-A1, maar in tegenstelling tot element A niet door de COUP-TF. De beide EREs zijn herkenningsplaatsen voor de oestradiol receptor. Welke eiwitten aan element F binden hebben we nog niet goed onderzocht, maar mogelijke kandidaten zijn C/EBP en de hepatocyt nucleaire factor 1 (HNF-1 of LF-B<sub>1</sub>).

Hoofdstuk 4 geeft een functionele analyse van de elementen ERE<sub>1</sub>, ERE<sub>2</sub>, en B<sub>1</sub> met behulp van weefsel culture experimenten. Het blijkt dat de oestradiol receptor kan werken via de EREs, en dat C/EBP kan werken via element B<sub>1</sub>. De distributie van enkele van de DNA-bindende eiwitten werd onderzocht met *in vitro* bindingsexperimenten. Tevens werd het bewijs geleverd dat de elementen A en C inderdaad LF-A1, en element A de COUP-TF kan binden.

In hoofdstuk 5 beschrijven we de klonering van de cDNAs voor het element-D bindende proteïne (cDBP) en C/EBP (cC/EBP) van de kip. Beide eiwitten blijken te behoren tot dezelfde familie van DNA-bindende eiwitten, namelijk die van de basische leucine zipper (bZIP) eiwitten.

In hoofdstuk 6 beschrijven we de bestudering van het kippe apoVLDLII gen locus in transgene muizen. Een fragment van -16 kb tot +3.3 kb bleek voldoende te zijn voor hoge, hormoon-afhankelijke, weefsel-specifieke, kopie-aantal afhankelijke, en positie-onafhankelijke expressie. Het gebied van -16 kb tot -5 kb bleek de informatie te bevatten voor kopie-afhankelijke weefsel-specifieke expressie. Het gebied van -5 kb tot +3.3 kb geeft hoge niveaus van expressie.

Ten slotte wordt in hoofdstuk 7 een algemene discussie gegeven en wordt de vorming van een actief eiwit-DNA complex op de apoVLDLII promotor besproken.