



Doctoral Thesis

Cloning of a *Chironomus tentans* gene encoding a protein belonging to the steroid and thyroid receptor superfamily

Author(s):

Imhof, Markus Oswald

Publication Date:

1992

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000647808> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No 9847

CLONING OF A *CHIRONOMUS TENTANS* GENE ENCODING A
PROTEIN BELONGING TO THE STEROID AND THYROID
RECEPTOR SUPERFAMILY

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

MARKUS OSWALD IMHOF

dipl. natw. ETH
born August 25, 1964
citizen of Brig-Glis, Valais

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. M. Lezzi, examiner
Prof. Dr. H. M. Eppenberger, co-examiner
PD Dr. S. Rusconi, co-examiner

Zürich, 1992



CatE

Zusammenfassung

Das Steroidhormon Ecdyson spielt eine wichtige Rolle in der Entwicklung von Insekten. Ecdyson, bzw. die biologisch aktivere Form 20-Hydroxyecdyson, löst die verschiedenen Larvenhäutungen sowie die Verpuppung aus. Basierend auf Puff-Induktionsstudien an Polytänchromosomen von *Chironomus tentans* war schon um 1960 von Clever und Karlson postuliert worden, dass Ecdyson einen Einfluss auf die Genaktivität hat. Am Beispiel der Vertebratensteroidhormone ist später gezeigt worden, dass diese ein intrazelluläres Rezeptorprotein besitzen, das durch die Bindung von Hormon aktiviert wird. Der aktivierte Rezeptor reguliert die Transkription von zahlreichen Genen durch spezifische Interaktion mit DNA-Erkennungssequenzen. Dieser Signalübertragungsmechanismus ist nicht nur auf die Familie der Steroidhormone beschränkt; auch Thyroxin und die Vitamine A und D haben intrazelluläre Rezeptoren. Die Klonierung verschiedener Rezeptorgene und die daraus hervorgegangene Bestimmung der Aminosäuresequenz der Rezeptoren zeigte, dass zwei Proteindomänen hoch konserviert sind. Diesen Domänen konnte die Funktion der DNA- bzw. Hormonbindung zugeschrieben werden.

Mit einer Strategie, die auf der Sequenzkonservierung dieser funktionell relevanten Domänen basierte, wurde in der vorliegenden Arbeit nach dem Gen für den Ecdysonrezeptor von *Chironomus tentans* gesucht. Dies wurde durch die kürzlich erfolgte Charakterisierung des Gens für den Ecdysonrezeptor von *Drosophila melanogaster* erleichtert. Aus einer cDNA Bank konnte eine Sequenz isoliert werden, die für ein Protein kodiert, das der Steroidhormonrezeptorfamilie angehört. Dieses Protein, genannt cEcR, weist in den funktionell wichtigen Domänen eine sehr hohe Homologie zum Ecdysonrezeptor von *Drosophila* auf. Das Gen, das für cEcR kodiert, ist in der Region 17C des zweiten Chromosoms lokalisiert. Die Expression der mRNA für diesen *Chironomus* Rezeptor geht mit der Höhe des Ecdysontiters einher. Antikörper gegen cEcR reagieren auf den Polytänchromosomen der Speicheldrüsen von *Chironomus tentans* unter anderem mit den selben Genloci, die vormals als Ecdyson-reguliert beschrieben worden waren, namentlich I-18C und

IV-2B. Dies lässt uns vermuten, dass das neu klonierte Gen für den Ecdysonrezeptor von *Chironomus tentans* kodiert.

Summary

Insect development is characterized by molting cycles which are induced by the steroid hormone ecdysone, or its biologically more active form, 20-hydroxyecdysone. In general, the mechanism of steroid hormone signal transduction is based on an intracellular receptor which is activated upon hormone-binding. The receptor then regulates gene transcription by interacting with specific regulatory DNA elements.

Many genes for vertebrate steroid hormone receptors have been cloned in the last decade. Recently, also the gene encoding the *Drosophila melanogaster* ecdysone receptor was isolated and characterized.

In the present work the cloning of a cDNA sequence coding for a *Chironomus tentans* protein belonging to the superfamily of steroid and thyroid hormone receptors is reported. This *Chironomus* receptor protein, called cEcR, exhibits a good amino acid sequence homology to the *Drosophila melanogaster* ecdysone receptor. The DNA-binding domain has 95% and the hormone-binding domain 75% homology to the *Drosophila* receptor. The gene encoding cEcR is located on chromosome II, region 17C, as determined by *in situ* hybridization to salivary gland polytene chromosomes.

On Northern blots, cDNA probes of the cloned gene hybridize to a polyadenylated RNA of approximately 4.2 kb. Its expression seems to be developmentally regulated and correlates with changes in the ecdysone titer. Expression of the cEcR in *Drosophila* S2 cells led to reduced reporter gene activation through the endogenous *Drosophila* ecdysone receptor (dEcR) upon hormone treatment. This is interpreted as transcriptional interference of cEcR with dEcR.

Chromosome regions possibly regulated by cEcR were visualized on salivary gland polytene chromosomes with antisera raised against cEcR. The previously described ecdysone-regulated regions I-18C and IV-2B, among other loci, were decorated by these antisera.