

La régulation de l'expression des gènes dans l'épididyme

L'épididyme est un organe accolé au testicule, formé d'un très long tube épithélial, fortement contourné, qui met en communication le testicule en amont et le canal déférent en aval. C'est un dérivé du mésonéphros embryonnaire apparu chez les amniotes (reptiles, oiseaux, mammifères) et qui atteint son plein développement chez les mammifères. Du point de vue fonctionnel, il est désormais bien connu que l'épididyme est impliqué dans le transport, la maturation et le stockage (dans sa partie terminale ou queue) des spermatozoïdes [1-3] bien que le rôle concernant la maturation soit controversé pour l'épididyme humain [4]. La maturation des spermatozoïdes qui leur confère la motilité et le pouvoir fécondant (capacité de reconnaître et de pénétrer la zone pellucide de l'ovule) est un phénomène complexe qui se déroule progressivement pendant la traversée de l'organe mais dont l'essentiel paraît se réaliser au niveau de la partie antérieure (tête), au moins chez les mammifères. Les activités physiologiques principales des cellules épидидymaires consistent en des processus de sécrétion mais également de réabsorption qui s'effectuent dans des régions bien définies de l'organe. Il s'agit, dans ces activités métaboliques, de transport d'ions et de petites molécules mais surtout de la synthèse et de la sécrétion d'une grande variété de protéines et de glycoprotéines. Ces sécrétions ont été découvertes non pas chez les mammifères mais chez un reptile, le lézard vivipare dès 1893 et réétudiées plus récemment par notre laboratoire. Vers les années 1970, on a commencé à identifier chez différentes espèces de mammifères des

protéines de sécrétion spécifiques de l'épididyme [5], ce qui a abouti à la caractérisation, partielle dans un premier temps, de protéines dépendantes des androgènes susceptibles d'interagir avec les spermatozoïdes. Alors que de nombreuses molécules sont maintenant identifiées (*Tableau 1*), leur rôle précis dans la maturation des spermatozoïdes ou dans des processus liés à leur transit ou à leur stockage dans l'épididyme demeure, pour la plupart d'entre elles, mal connu [3]. Aussi, les interactions protéines épидидymaires-spermatozoïdes et leur rôle physiologique continuent à faire l'objet de recherches actives.

L'épididyme, dans sa structure et ses fonctions, est en grande partie, mais pas uniquement, contrôlé par les hormones androgènes [1, 6]. Ce sont les métabolites 5 α réduits de la testostérone, principalement la dihydrotestostérone (DHT), qui constituent les ligands reconnus par les récepteurs des androgènes (AR) de l'épididyme. Comme pour les autres hormones stéroïdes, les mécanismes d'action des androgènes sont maintenant bien connus, au moins dans leurs grandes lignes [7]. En revanche, ils ont été peu étudiés dans l'épididyme, probablement parce qu'il s'agit d'un organe très hétérogène sur le plan anatomophysiolgique. L'épithélium épидидymaire est formé par, au moins, quatre types de cellules: les cellules principales, basales, claires et en halo, ces dernières appartenant au système immunitaire [6]. Par ailleurs, une des caractéristiques principales de cet organe est sa régionalisation, c'est-à-dire une différenciation très marquée dans le sens antéro-postérieur qui se traduit au niveau de l'anatomie (tête, corps, queue), de l'histologie (cinq

segments reconnus chez la souris), de la physiologie concernant en particulier les activités de synthèse protéique, de sécrétion et de réabsorption. Ce phénomène de régionalisation constitue actuellement un fil conducteur dans l'étude de cet organe ainsi qu'en attestent de précédentes mises au point [8, 9]. La présente revue sera illustrée par quelques exemples empruntés aux travaux de notre laboratoire sur les gènes exprimés dans l'épididyme codant pour des glutathion peroxydases (GPX), la GPX5 spécifique de l'épididyme et la GPX3 non spécifique.

Gènes et protéines épидидymaires

Pour l'ensemble des espèces de mammifères étudiées à ce jour, de nombreuses protéines et glycoprotéines épидидymaires sont désormais connues. Nous n'envisageons ici que les molécules dont les gènes ou les ADNc sont clonés [10-25]. La plupart des gènes ont été identifiés à partir de banques d'ADNc d'épididymes et constituent donc des éléments dont les transcrits sont abondamment représentés. Quelques gènes seulement ont été clonés à partir de banques génomiques et entièrement séquencés [14, 19, 25]. Une autre stratégie a consisté à repérer l'expression dans l'épididyme de gènes non spécifiques grâce à des sondes ubiquitaires et c'est ainsi que l'on a identifié dans cet organe la production de protéines très variées comme la proenképhaline, la proopiomélanocortine, le facteur de croissance nerveux, une protéine de liaison du rétinol, la 5 α réductase, la clusterine, la cadhérine, la γ -glutamyl transpeptidase. D'autres protéines, minori-

taires, ont été également signalées : c'est le cas de la GPX de type 3 qui est exprimée majoritairement dans le rein mais faiblement transcrite dans l'épididyme [25] et de certains facteurs de transcription [26-28]. La séquence en acides aminés déduite du séquençage nucléotidique a permis de reconnaître des protéines spécifiques et des protéines à répartition plus large et nous parlons de gènes spécifiques et de gènes non spécifiques (Tableau I). On peut supposer que les gènes non spécifiques exercent des fonctions triviales dans l'épi-

didyme ; pourtant, le fait qu'ils soient exprimés dans une région bien définie et non dans tout l'organe (figure 1) incline à penser qu'ils pourraient jouer un rôle précis dans sa physiologie, en rapport avec sa régionalisation. Les gènes spécifiques quant à eux sont exprimés de manière exclusive ou tout au moins prédominante dans l'épididyme. La plupart de ceux actuellement identifiés appartiennent à une famille génique connue (Tableau I) et seuls jusqu'à présent deux gènes humains *HE1* et *HE2* semblent originaux.

L'expression des gènes actuellement clonés a été décrite en utilisant des méthodes d'analyse des ARN messagers (*northern blot*) (figure 2) ou (et) d'hybridation *in situ* (figure 3). La caractéristique essentielle du mode d'expression des gènes épididymaires est leur spécificité régionale [6, 8, 9], cette expression étant prédominante ou exclusive dans un territoire plus ou moins restreint de l'organe (figure 1). Les transcrits des 5 α -réductase de type 1 et 2 [6] et de la GPX3 [25] sont présents dans tout l'organe mais avec une régionalisation très mar-

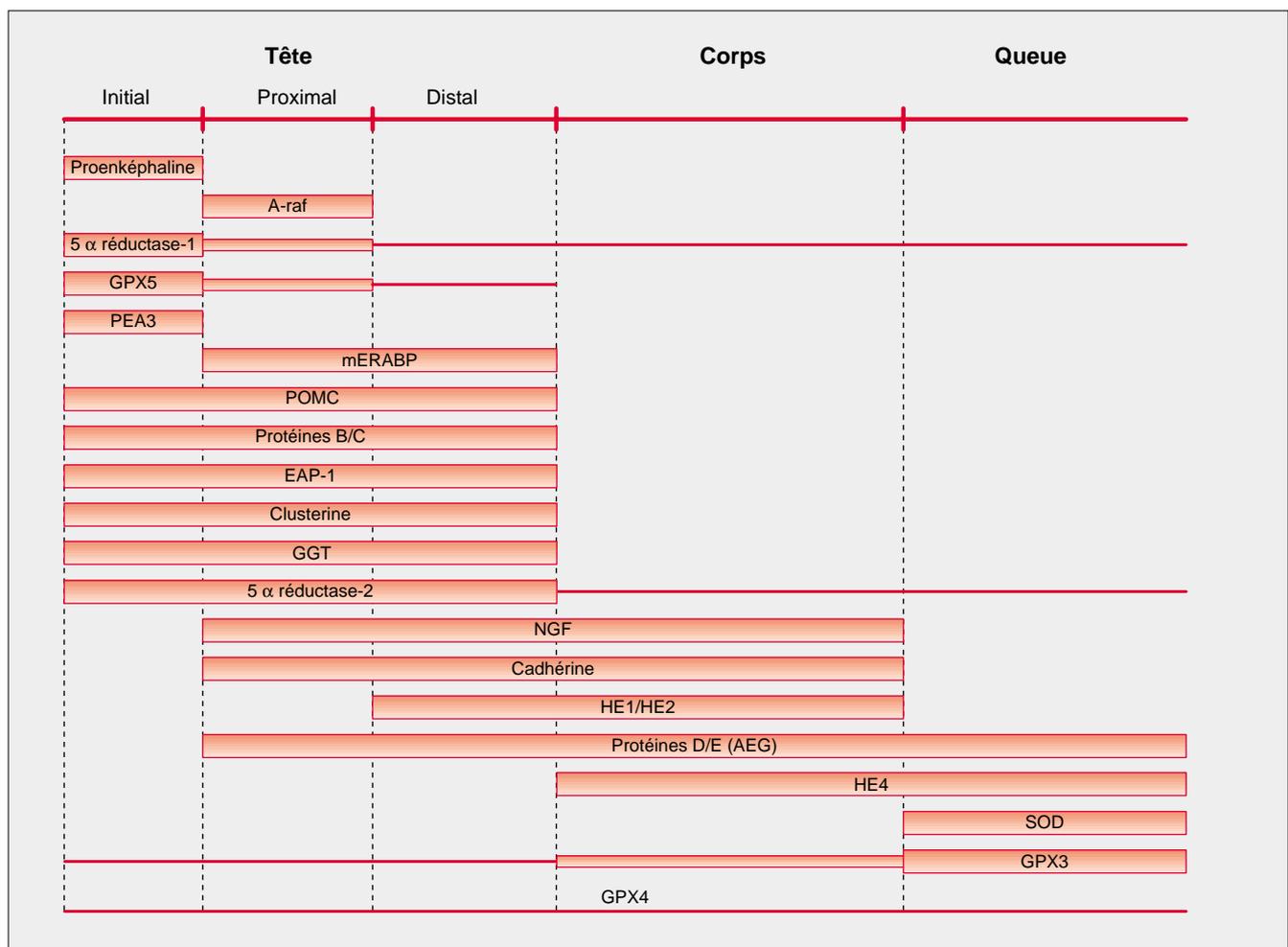


Figure 1. Spécificité tissulaire d'expression de quelques gènes contrôlés par les androgènes dans l'épididyme de mammifères. Répartition des ARNm en fonction des différentes régions de l'épididyme. Sources de l'information : [7, 8, 32]. La surface des rectangles est proportionnelle à l'abondance des transcrits. GPX : glutathion peroxydase ; PEA3 : polyomavirus enhancer activator 3 ; mERABP : murine epididymal retinoic acid binding protein ; POMC : proopiomélanocortine ; EAP : epididymal apical protein ; GGT : γ -glutamyl transpeptidase ; NGF : nerve growth factor ; HE : protéine épididymaire humaine ; SOD : superoxyde dismutase.

Tableau I

PRINCIPAUX GÈNES EXPRIMÉS DANS L'ÉPIDIDYME DES MAMMIFÈRES
SOUS LE CONTRÔLE DES HORMONES ANDROGÈNES

Protéines codées	Espèce	Références
GÈNES SPÉCIFIQUES		
<i>Appartenant à une famille génique connue</i>		
- Protéine B/C (protéine de liaison de type lipocaline) ou ESPI	rat (souris)	Brooks <i>et al.</i> 1986 [10]
- Protéine D/E ou <i>acidic epididymal glycoprotein</i> (AEG) (métalloprotéines)	rat (souris)	Girotti <i>et al.</i> 1992 [19] Brooks <i>et al.</i> 1986 [11] Charest <i>et al.</i> 1988 [12]
- Glutathion peroxydase de type 5 (GPX5)	souris	Ghyselinck <i>et al.</i> , 1990, 1992 [13] [14]
- <i>Cystatin related epididymal specific protein</i> (CRESP)	rat, chimpanzé souris	Perry <i>et al.</i> 1992 [18] Corwall <i>et al.</i> 1992 [17]
- <i>Epididymal apical protein I</i> (EAPI) (peptides hématotoxiques de venin de serpent)	rat, macaque	Perry <i>et al.</i> 1992*
- Protéine épидидymaire humaine de type 4 (HE4) (inhibiteurs de protéases)	homme	Kirchhoff <i>et al.</i> 1991*
- Protéine épидидymaire humaine de type 6 (HE6) (récepteurs à 7 domaines transmembranaires)	homme	Osterhoff <i>et al.</i> 1997 [24]
<i>Uniques</i>		
- Protéine épидидymaire humaine de type 1 (HE1)	homme	Kirchhoff <i>et al.</i> 1996 [23]
- Protéine épидидymaire humaine de type 2	homme	Osterhoff <i>et al.</i> 1994 [22]
GÈNES NON SPÉCIFIQUES		
- Superoxyde dismutase (SOD)	rat	Perry <i>et al.</i> 1993*
- Gamma glutamyl transpeptidase (GGT)	rat	Agrawal et Vanha Pertula 1988a* 1988b*
- Protéine cellulaire de liaison de rétinol (CRBP)	taureau rat	Rajan et Goodman 1990*
- Facteur de croissance nerveux (NGF)	souris, rat	Ayer-Le-Lievre <i>et al.</i> 1988*
- Proopiomélanocortine (POMC)	souris	Gizand-Ginsberg <i>et al.</i> 1987*
- Proenkephaline (enk)	rat, hamster	Garret <i>et al.</i> 1992
- Glycoprotéine sulfatée de type 2 (SGP2) ou clusterine	rat	Sylvester <i>et al.</i> 1991*
- Cadherine (<i>E-cadherin</i>)		Cyr <i>et al.</i> 1992*
- Protéine épидидymaire humaine de type 5 (HE5) ou antigène lymphocytaire C DW532	homme	Kirchhoff <i>et al.</i> 1993 [21]
- 5 α -réductase	rat	Robaire et Zirkin 1981*
- Glutathion S-transférase	rat	Robaire et Huls 1982*
- Glutathion peroxydase de type 3 (GPX3)	souris	Schwaab <i>et al.</i> 1995 [32]
- A-raf	souris	Winer <i>et al.</i> 1993 [25]
- <i>Polyoma virus enhancer activator 3</i> (PEA3)	rat souris	Lan <i>et al.</i> 1977 Drevet <i>et al.</i>

Pour les références non répertoriées (*) se reporter à [3], [6], [7], [8]. Des homologues des protéines B/C et D/E du rat ont été identifiées chez la souris par le groupe d'Orgebin-Crist. Les parentés pour le premier groupe sont données entre parenthèses.

quée et l'accumulation des messagers peut suivre un gradient antéro-postérieur (figure 1). De nombreux gènes sont exprimés dans la tête, voire dans le seul segment initial (proenképhaline, PEA3 *polyomavirus enhancer activator 3*), certains dans le corps et la queue alors que très peu de gènes (tel *SOD*, gène de la superoxyde dismutase) ne sont exprimés que dans la queue (figure 1). La signification fonctionnelle de ces particularités n'est pas encore suffisamment comprise. Par ailleurs, si dans une majorité de cas les androgènes, comme d'autres stéroïdes, induisent une accumulation des messagers en activant la transcription ou (et) en augmentant leur stabilité, on a au moins décrit un cas dans lequel ils pourraient entraîner une répression du gène correspondant: il s'agit de la clusterine dont la transcription est indépendante des androgènes dans la tête mais réprimée par la testostérone dans le corps et la queue de l'épididyme (cité dans [6]).

Régulation par les androgènes

Le contrôle par les androgènes des gènes épидидymaires est complexe de plusieurs points de vue: (1) Les androgènes pénètrent dans l'épididyme par différentes voies, soit par la circulation générale transportés par la «*sex binding protein*», soit par le fluide testiculaire où ils sont liés à l'ABP (*androgen binding protein*). On ne connaît pas actuellement avec précision les parts respectives de ces différents modes de distribution qui pourraient assurer une régulation fine par le jeu d'affinités différentes. C'est ainsi que le segment initial, directement en contact avec le fluide épидидymaire qui transporte l'ABP, pourrait avoir un contrôle différent de celui du reste de l'épididyme. (2) Si certains gènes semblent entièrement contrôlés par les androgènes (par exemple ceux codant pour les protéines B/C et D/E du rat [10, 11] et pour GPX5 de la souris [13]), d'autres sont réglés en partie par les androgènes, en partie par des facteurs testiculaires non stéroïdiens ce qui est le cas des gènes codant pour la γ glutamyl transpeptidase (GGT) [29] la proenképhaline [30] et PEA3 [27,

28]. Les facteurs de co-régulation commencent seulement à être identifiés. C'est ainsi que pour la GGT qui est partiellement contrôlée par le fluide testiculaire dans le segment initial de l'organe, l'élément régulateur paraît être le facteur de croissance fibroblastique basique (bFGF) [31]. (3) Pour un gène donné, le mode de contrôle peut varier selon la région considérée. Il en est ainsi du gène de la clusterine déjà cité dont l'expression n'est apparemment réglée par aucun produit testiculaire dans la tête de l'épididyme mais est réprimée par la testostérone dans le corps et la queue. Le gène de la 5α -réductase de type 1 est contrôlé par un facteur paracrine d'origine testiculaire dans le segment initial et par les androgènes circulants dans les autres régions épидидymaires [6]. La complexité de la régulation des gènes liés aux fonctions épидидymaires chez les mammifères est donc due, au moins en partie, à l'hétérogénéité de

l'organe et à son emplacement situé au carrefour des voies hormonales systémiques et des voies testiculaires directes. Le problème doit être abordé, pour chaque gène d'intérêt, sur le plan physiologique (recherche d'indices de co-régulation), biochimique (protéines de liaisons des stéroïdes mises en jeu, nature des facteurs testiculaires impliqués) et sur le plan de la génétique moléculaire. Actuellement plusieurs laboratoires essaient d'identifier des facteurs *cis* et *trans* qui, outre le système du complexe hormone-récepteur/élément de réponse aux androgènes (ARE), participent à ces régulations.

Promoteurs et facteurs de régulation

La compréhension de la régulation d'un gène passe par la connaissance de sa séquence promotrice et des protéines de régulation capables de s'y lier. Pour les gènes exprimés dans l'épididyme, peu de promoteurs ont

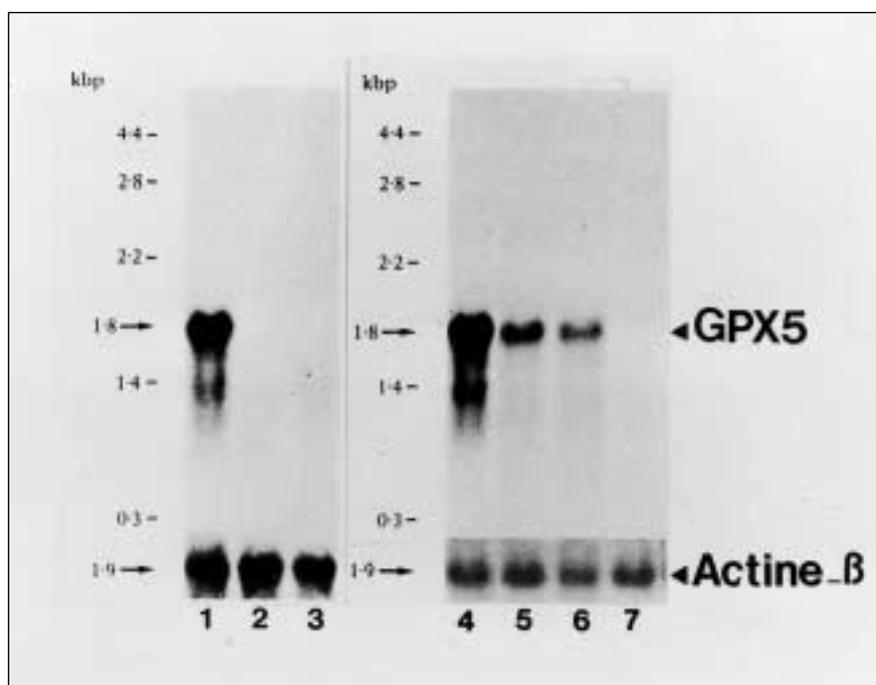


Figure 2. Répartition des ARNm de la glutathion peroxydase de type 5 (GPX5) dans l'épididyme de souris. Analyse par électrophorèse, transfert et hybridation avec une sonde spécifique radioactive (Northern blot). Pistes 1 à 3: adulte normal; pistes 4 à 7: têtes d'épididymes d'adultes castrés: 1: tête, 2: corps, 3: queue, 4: avant castration, 5: castré depuis 3 jours, 6: castré depuis 10 j, 7: castré depuis 15 j. La répartition en parallèle des ARNm de l'actine β montre que l'extraction des ARN a été effectuée à taux constant.

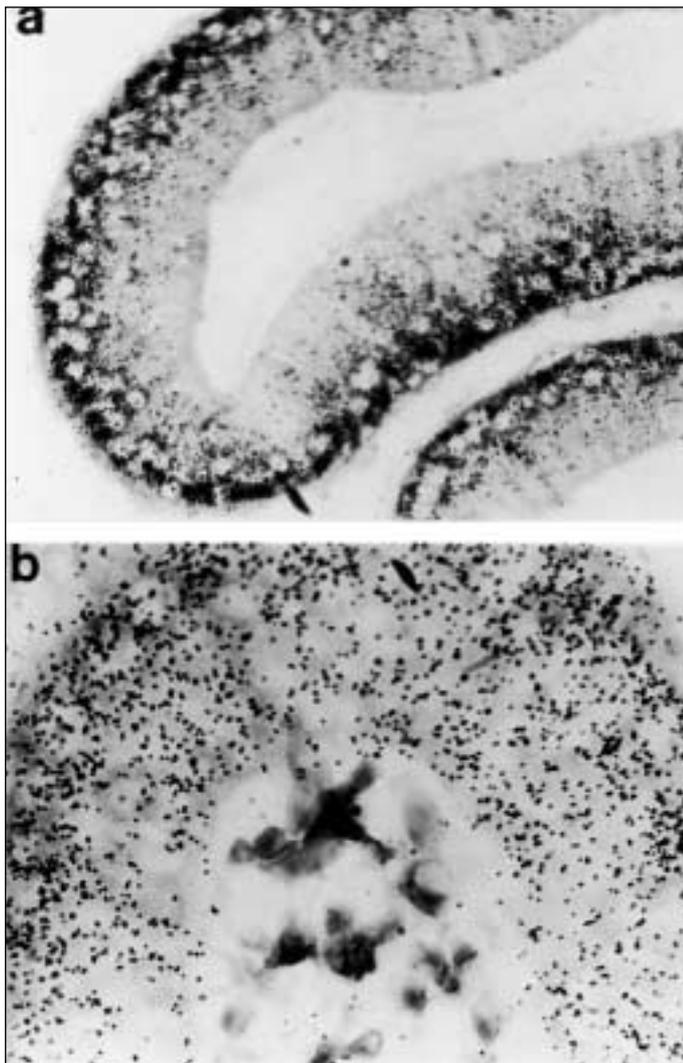


Figure 3. Répartition des ARNm de la glutathion peroxydase de type 5 (GPX5) dans la tête de l'épididyme de souris révélée par hybridation in situ (incubation des sections histologiques avec une sonde radioactive, dépôt d'émulsion photographique, exposition et révélation). A. segment initial: l'abondance des grains d'argent à la base de l'épithélium montre que les ARNm sont surtout concentrés autour des noyaux cellulaires (x 200); B. segment proximal: les grains d'argent se répartissent sur toute la hauteur de l'épithélium (x 800).

été séquencés [14, 19, 25, 33]. On a décrit dans le promoteur de ESP1, une protéine épидидymaire de rat appartenant à la famille des lipocalines, une région riche en A+T, une boîte CAAT et un élément de réponse aux androgènes [19].

Dans notre laboratoire, nous nous intéressons aux GPX, une famille d'enzymes (revue dans [33]) intervenant dans la prévention des *stress oxydants*. Dans un premier temps, nous avons cloné chez la souris l'ADNc d'un nouveau membre de cette famille [13, 14], GPX5, qui apparaît comme un produit de sécrétion capable de se lier aux spermatozoïdes et de participer à leur protection. Les

ARN messagers correspondants sont spécifiquement exprimés dans la tête de l'épididyme (*figures 1 et 2*), surtout dans le segment initial (*figure 3*), disparaissent rapidement après castration (*figure 2*) et peuvent être réinduits par la testostérone [13]. Ils semblent sous le contrôle des seuls androgènes alors que leur traduction en protéine requiert des facteurs testiculaires. A partir d'une banque génomique, le gène a été séquencé dans toute sa région codante (il est formé de 5 exons) et sur environ 5 kilobases de la région 5'-flanquante comprenant le promoteur [14]. La région promotrice (*figure 4*) contient des boîtes TATA et CAAT mais égale-

ment plusieurs séquences consensus pour des facteurs de transcriptions de type NF-1, SP1 et pour des facteurs qui pourraient être plus spécifiques comme AP-1, GATA et PEA3. Un élément de réponse aux androgènes a été localisé en position -895 à -873 sur le brin non codant. La région comprend deux séquences se chevauchant (*figure 4*), la deuxième (5' - TAGGAT - aca - TGTTCT - 3') représentant probablement le véritable élément de réponse. Toutefois dans les systèmes hétérologues *in vitro* habituellement utilisés pour tester le caractère fonctionnel de ces éléments, celui-ci ne confère qu'un faible pouvoir inducteur en présence d'androgènes et de récepteurs des androgènes [34]. De ce fait, on envisage que des facteurs de co-régulation pourraient intervenir qui n'existeraient pas dans les systèmes *in vitro* utilisés. Une autre possibilité, non exclusive de la première serait que, pour ce gène, les androgènes non seulement stimulent la transcription mais également augmentent la stabilité des messagers. La première hypothèse est en cours de vérification. Pour cela, nous avons choisi de nous intéresser au facteur de transcription PEA3 un membre de la famille des Ets dont on sait qu'il est majoritairement exprimé dans l'épididyme [35]. Dans l'épididyme de souris ce facteur est exprimé dans le temps et dans l'espace comme GPX5 [28]. Par ailleurs, dans des systèmes d'analyse *in vitro*, il est susceptible de modifier l'expression d'un gène rapporteur placé sous le contrôle du promoteur de GPX5 [28]. Ce travail préliminaire corrobore des résultats obtenus sur un autre gène exprimé dans le segment initial de l'épididyme [3, 27]. Plus récemment, nous avons cloné l'ADNc et le gène d'une autre GPX (GPX3) exprimé majoritairement dans le rein et plus faiblement transcrit dans l'épididyme [25]. L'expression de GPX3 dans l'épididyme est complémentaire dans l'espace de celle de GPX5: elle s'effectue dans la tête pour GPX5 et croît de la tête à la queue pour GPX3; elle est sous le contrôle des androgènes dans l'épididyme alors qu'elle ne l'est pas dans le rein. Il est clair que nous tenons avec ces éléments des outils précieux pour

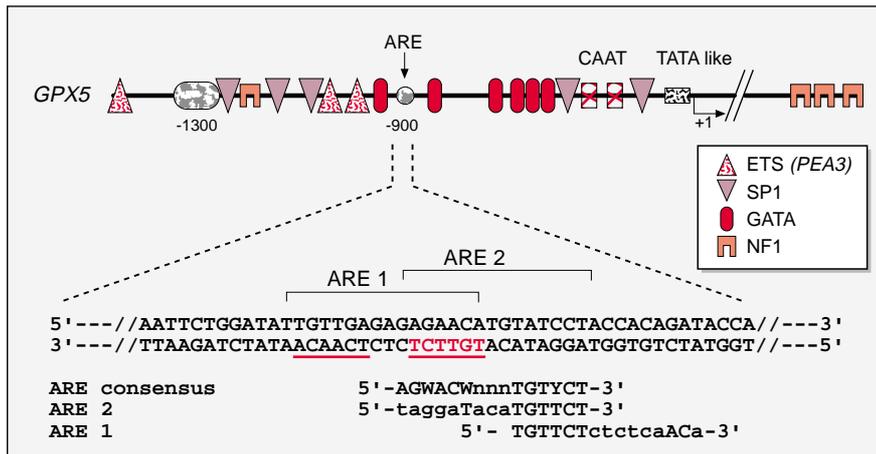


Figure 4. Représentation schématique de la région promotrice du gène de la glutathion peroxydase de type 5 de souris (GPX5). Quelques séquences consensus courantes (TATA like, CAAT), sont figurées ainsi que des séquences considérées comme plus spécifiques (ARE, AP1, PEA3, GATA, SP1). Le détail de la séquence de l'élément de réponse aux androgènes est donné en bas de la figure. Remarquer la présence de deux séquences chevauchantes ARE1 et ARE2, ARE2 pouvant représenter le véritable élément de réponse. ARE: élément de réponse aux androgènes.

étudier le contrôle de la spécificité tissulaire de l'expression des gènes épидидymaires.

En ce qui concerne les facteurs *trans*, il a été suggéré que le système rétinolprotéine de liaison (CRBP) pourrait jouer un rôle dans la régulation des gènes dans la tête de l'épididyme (cité dans [8]). On a également rapporté l'intervention d'oncogènes cellulaires tels que A-raf [26], de PEA₃ [27, 28] ou de récepteurs de protéine-kinases [32]. De plus, la découverte de facteurs de transcription codés par un gène à homéoboîte atypique, le gène *Pem*, exprimé de manière différentielle dans des organes variés, particulièrement dans l'épididyme en présence de testostérone, ouvre des perspectives nouvelles pour la compréhension de ces mécanismes responsables de la spécificité tissulaire [36].

Conclusions

Si l'épididyme reste une cible potentielle pour la contraception masculine, la complexité des phénomènes qui s'y déroulent, le fait que ces phénomènes dépendent pour une large part des androgènes, laissent peu d'espoir, dans l'état de nos connais-

sances, quant à une intervention simple et efficace à ce niveau. En outre, chez l'homme, le rôle joué par l'épididyme dans la fertilité des spermatozoïdes est controversé [4]. Il est toutefois proposé par différents laboratoires de mettre en œuvre des immunisations contre des protéines épидидymaires spécifiques [37]. Indépendamment des problèmes à résoudre sur le plan immunologique, ces projets paraissent encore prématurés, compte tenu de l'état de nos connaissances concernant le rôle précis joué par les différentes protéines épидидymaires dans la physiologie des spermatozoïdes. En revanche, sur le plan fondamental, l'épididyme paraît être un modèle de choix pour étudier les mécanismes de la spécificité tissulaire de l'expression des gènes du fait de la régionalisation très marquée de l'organe et de la mise en évidence de familles géniques dont certains membres sont exprimés différemment dans cet organe, tels que les *GPX*.

Les recherches sur l'épididyme et ses fonctions restent très vivantes, étant donné l'importance de l'organe dans la physiologie des spermatozoïdes. Loin d'être terminées sur le plan physiologique et biochimique, elles

sont maintenant abordées sous l'aspect de la régulation des gènes épидидymaires avec des perspectives intéressantes dans le difficile domaine du contrôle de la spécificité tissulaire de l'expression des gènes ■

Jean-Pierre Dufaure
Joël R. Drevet

Laboratoire de biologie cellulaire, Université Blaise-Pascal, Clermont-Ferrand II, Cnrs UMR 6547 63179 Aubière Cedex, France.

TIRÉS À PART

J.P. Dufaure.

RÉFÉRENCES

- Orgebin-Crist MC, Danzo BJ, Davies J. Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis. In: Greep R, Hamilton DW, eds. *Handbook of physiology-endocrinology V*. Baltimore M: Williams and Wilkins, 1975; 319-38.
- Bedford JM. Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. In: Greep R, Hamilton DW, eds. *Handbook of physiology-endocrinology V*. Baltimore MD: Williams and Wilkins, 1975; 302-17.
- Hinton BT, Palladino MA, Rudolph D, Labus JC. The epididymis as protector of maturing spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 731-43.
- Bedford JM. The status and the state of the human epididymis. *Hum Reprod* 1994; 9: 2187-99.
- Cameo MS, Blaquier JA. Androgen-controlled specific proteins in rat epididymis. *J Endocrinol* 1975; 69: 47-55.
- Robaire B, Viger RS. Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol Reprod* 1995; 52: 226-36.
- Blanchard H, Robaire B. Le mode d'action des androgènes et la 5 α -réductase. *Med Sci* 1997; 13: 467-73.
- Cornwall GA, Hann SR. Specialized gene expression in the epididymis. *J Androl* 1995; 16: 379-83.
- Orgebin-Crist MC. Androgens and epididymal function. In: Bhasin S, Swedloff RS, eds. *Pharmacology, biology and clinical applications of androgens*. New York: Wiley-Liss Inc, 1996: 35-47.

RÉFÉRENCES

10. Brooks DE, Means AR, Wright EJ, Sing SP, Tiver KK. Molecular cloning of the cDNA for two major androgen-dependent secretory proteins of 18.5 kD synthesized by the rat epididymis. *J Biol Chem* 1986; 261: 4956-61.
11. Brooks DE, Means AR, Wright EF, Singh SP, Tiver KK. Molecular cloning of the cDNA for androgen-dependent sperm coating glycoproteins secreted by the rat epididymis. *Eur J Biochem* 1986; 161: 13-8.
12. Charest NJ, Joseph DR, Wilson EM, French FS. Molecular cloning of complementary deoxyribonucleic acid for an androgen-regulated epididymal protein: sequence homology with metallo proteins. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 999-1004.
13. Ghyselinck NB, Jimenez C, Lefrançois AM, Dufaure JP. Molecular cloning of a cDNA for androgen-regulated proteins secreted by the mouse epididymis. *J Mol Endocrinol* 1990; 4: 5-12.
14. Ghyselinck NB, Dufaure I, Lareyre JJ, Mattéi MG, Dufaure JP. Structural organization and regulation of the gene for the androgen-dependent glutathione peroxidase-like protein specific to the mouse epididymis. *Mol Endocrinol* 1993; 7: 258-72.
15. Kirchhoff C, Osterhoff C, Habben I, Ivell R. Cloning and analysis of mRNAs expressed specifically in the human epididymis. *Int J Androl* 1990; 13: 155-67.
16. Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, Krull N. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biol Reprod* 1991; 45: 350-7.
17. Cornwall GA, Orgebin-Crist MC, Hann SR. The CRES gene: a unique testis-regulated gene related to the cystatin family is highly restricted in its expression to the proximal region of the mouse epididymis. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 1653-64.
18. Perry AC, Jones R, Niang LSP, Jackson RM, Hall L. Genetic evidence for an androgen-regulated epididymal secretory glutathione peroxidase whose transcript does not contain a selenocysteine codon. *Biochem J* 1992; 285: 863-70.
19. Girotti M, Jones R, Emery DC, Chia W, Hall L. Structure and expression of the rat epididymal secretory protein I gene. *Biochem J* 1992; 281: 203-10.
20. Perry AC, Jones R, Hall L. Isolation and characterization of a rat cDNA clone encoding a secreted superoxide dismutase reveals the epididymis to be a major site of its expression. *Biochem J* 1993; 293: 21-5.
21. Kirchhoff C, Krull N, Pera I, Ivell R. A major mRNA of the human epididymal principal cells, HE5, encodes the leukocyte differentiation Cdw52 antigen peptide backbone. *Mol Reprod Dev* 1993; 34: 8-15.
22. Osterhoff C, Kirchhoff C, Krull N, Ivell R. Molecular cloning and characterization of a novel human sperm antigen (HE2) specifically expressed in the proximal epididymis. *Biol Reprod* 1994; 50: 516-25.
23. Kirchhoff C, Osterhoff C, Young L. Molecular cloning and characterization of HE1, a major secretory protein of the human epididymis. *Biol Reprod* 1996; 54: 847-56.
24. Osterhoff C, Ivell R, Kirchhoff C. Cloning of a human epididymis-specific mRNA, HE6, encoding a novel member of the seven transmembrane-domain receptor superfamily. *DNA Cell Biol* 1997; 16: 379-89.
25. Schwaab V, Baud E, Ghyselinck N, Mattéi MG, Dufaure JP, Drevet JR. Cloning of the mouse gene encoding plasma glutathione peroxidase: organization, sequence and chromosomal localization. *Gene* 1995; 167: 25-31.
26. Winer MA, Wadewitz AG, Wolgemuth DJ. Members of the *raf* gene family exhibit segment-specific patterns of expression in mouse epididymis. *Mol Reprod Dev* 1993; 35: 16-23.
27. Lan ZJ, Palladino MA, Rudolph DB, Labus JC, Hinton BT. Identification, expression and regulation of the transcriptional factor polyoma virus enhancer activator 3, and its putative role in regulating the expression of gamma-glutamyl transpeptidase mRNA-IV in the rat epididymis. *Biol Reprod* 1997; 57: 186-93.
28. Drevet JR, Lareyre JJ, Schwaab V, Vernet P, Dufaure JP. The PEA3 protein of the Ets oncogene family is a putative transcriptional modulator of the mouse epididymis-specific glutathione peroxidase gene, *gpx5*. *Mol Reprod Dev* 1998; 49: 131-40.
29. Palladino MA, Hinton BT. Expression of multiple-glutamyl transpeptidase messenger ribonucleic acid transcripts in the adult rat epididymis differentially regulated by androgens and testicular factors in a region specific manner. *Endocrinology* 1994; 135: 1146-56.
30. Garrett JE, Garrett SH, Douglass JA. Spermatozoa-associated factor regulates proenkephalin gene expression in the rat epididymis. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 108-18.
31. Lan ZJ, Labus JC, Hinton BT. Regulation of gamma-glutamyl transpeptidase catalytic activity and protein level in the initial segment of the rat epididymis by testicular factors: role of basic fibroblastic growth factor. *Biol Reprod* 1998; 58: 197-206.
32. Sonnenberg-Rietmacher E, Walter B, Rietmacher D, Gödecke S, Birchmeier C. The c-ros tyrosine kinase receptor controls regionalization and differentiation of epithelial cells in the epididymis. *Genes Dev* 1996; 10: 1184-93.
33. Dufaure JP, Lareyre JJ, Schwaab V, Mattéi MG, Drevet JR. Structural organization, chromosomal localization, expression and phylogenetic evaluation of mouse glutathione peroxidase encoding genes. *CR Acad Sci Paris* 1996; 319: 559-68.
34. Lareyre JJ, Claessens F, Rombauts W, Dufaure JP, Drevet JR. Characterization of an androgen response element within the promoter of the epididymis-specific murine glutathione peroxidase 5 gene. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 129: 33-46.
35. Xin JH, Cowie A, Lachance P, Hassell JA. Molecular cloning and characterization of PEA3, a new member of the Ets oncogene family that is differentially expressed in mouse embryonic cells. *Genes Dev* 1992; 6: 481-96.
36. Maiti S, Doskow J, Li S, Nhim RP, Lindsey JS, Wilkinson MF. The Pem homeobox gene. *J Biol Chem* 1996; 271: 17536-46.
37. Cuasnicu PS, Conera D, Rochewereger L. Potential contraceptive use of an epididymal protein that participates in fertilization. In: *Gamete interaction. Prospects for immuncontraception*. New York: Wiley Liss Inc, 1990: 143-53.