

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen		Laitos – Institution Biotieteiden laitos	
Tekijä – Författare Koppinen, Petra			
Työn nimi – Arbetets titel Downless - uusi alkion kehitystä säätelevä tuumorinekroositekijä reseptori; geenin ilmentyminen ja signalointi			
Oppiaine – Läroämne Biokemia			
Työn laji – Arbetets art Pro gradu		Aika – Datum toukokuu 2000	
		Sivumäärä – Sidoantal 67	
Tiivistelmä – Referat <p>Sikiön ektodermaalisen kudoksen kehityshäiriö aiheuttaa muutoksia ektodermaalisesta kudoksesta peräisin olevissa elimissä, kuten hampaissa, kynsissä, hiuksissa ja rauhasissa. Tämä johtaa geneettisiin sairauksiin, joita kutsutaan ektodermaalisiksi dysplasioiksi. X-kromosomaalinen anhidroottinen (hypohidroottinen) ektodermaalinen dysplasia (EDA) on yleisin tyyppi kyseisistä sairauksista ja samalla ainoa, jonka patogeneesi on selvitetty molekyyllitasolla. <i>Tabby</i> on luonnollinen hiirimutantti, joka monilta piirteiltään vastaa EDA-syndroomaa. EDA:a koodaava geeni identifioitiin ensin ja <i>Tabby</i>-geenin kloonauksen professori Thesleffin ryhmässä vahvisti sen olevan EDA:n hiiri-homologi.</p> <p><i>EDA</i>:n ja <i>Tabby</i>:n koodaama proteiini on nimetty ektodysplasiiniksi. Ektodysplasiinin on äskettäin osoitettu olevan uusi ligandi tuumorinekroositekijä (TNF) superperheessä, jonka jäsenet aiheuttavat usein joko ohjelmoidun solukuoleman tai lisäävät solujen jakautumista ja hengissä selviytymistä. Ektodysplasiini on ensimmäinen TNF-homologi, joka tarvitaan epiteeliseen kehittymiseen. Ektodysplasiinin mahdollinen reseptori, <i>downless</i>, julkaistiin myös äskettäin ja sen osoitettiin olevan samankaltainen tuumorinekroositekijä reseptori (TNFR) superperheen jäsenten kanssa. <i>Downless</i> tuottaa fenotyypin, joka on identtinen <i>Tabby</i>:n kanssa.</p> <p>Pro gradu -työni tarkoituksena oli selvittää <i>downless</i>-geenin ilmentymistä kehittyvässä hampaassa ja ihossa <i>in situ</i> hybridisaatio-tekniikalla käyttäen hiirialkion kehittyvää hammasta tutkimusmallina sekä lisäksi selvittää <i>downless</i>:in signalointia. Useimpien TNF superperheen jäsenten tiedetään aktivoivan nukleaarinen tekijä κB. Tämä transkriptiotekijä vapautuu solun sytoplasmasta tiettyjen signaalien vaikutuksesta ja se kuljetetaan tumaan, jossa se aktivoi kohdegeenien transkription. NF-κB:n aktivaation on osoitettu liittyvän useimmiten ohjelmoidun solukuoleman estämiseen. Työni tarkoituksena oli pystyttää määritysmenetelmä NF-κB:n aktivaation toteamiseksi ja lisäksi selvittää, aktivoiko uusi TNF reseptori <i>downless</i> NF-κB transkriptiotekijän. Tässä käytettiin hyväksi reportteriplasmideja, jotka sisältävät lusiferaasi-geenin tai β-galaktosidaasi-geenin. Kun reportteriplasmideja transfektoitiin yhdessä tutkittavien geenien kanssa nisäkässoluihin, saatiin soluissa aikaan lusiferaasin tuotto. NF-κB aktivaatiota monitoroitiin määrittämällä lusiferaasi-aktiivisuutta 293 soluissa sekä β-galaktosidaasiaktiivisuus määritettiin samoista solunäytteistä. Tätä käytettiin lusiferaasiaktiivisuuden normalisointiin sekä transfektiotehokkuuden kontrollointiin.</p> <p>Alustavien tulosten perusteella <i>downless</i>:in ylituotto 293-soluissa sai aikaan matalatasoisen NF-κB:n aktivaation sekä reseptorin ylituotto yhdessä mahdollisen ligandinsa <i>Tabby</i>:n kanssa nosti aktivaation tasoa. <i>Tabby</i> yksin ei aktivoanut NF-κB:tä. Tämä on ensimmäinen biokemiallinen todiste siitä, että kyseessä ovat vastaava reseptori ja ligandi. <i>In situ</i> hybridisaatio-tutkimukset osoittivat, että <i>downless</i> ilmentyy varhaisessa vaiheessa kehittyvän hampaan epiteelissä sekä ilmentyminen keskittyy signalointikeskuksena toimivaan kiillekyhmyyn ja vähenee myöhemmin kehityksen edistyessä. Leuanaluksen/posken ihossa ilmentymistä havaittiin tulevien karvafollikkeleiden alueella epiteelissä.</p>			
Avainsanat – Nyckelord EDA, Downless, NF-κB, Tabby, TNFR			
Säilytyspaikka – Förvaringställe Biokemian osaston kirjasto			
Muuta tietoa			