

Tiedekunta/Osasto Fakultet/Sektion Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen		Laitos Institution Department Biotieteiden laitos, fysiologisen eläintieteen osasto	
Tekijä Författare Author Taskinen, Minna			
Työn nimi Arbetets titel Title hMETS-1 –geenin kloonauksen ja karakterisointi			
Oppiaine Läroämne Subject Fysiologinen eläintiede			
Työn laji Arbetets art Level Pro gradu –työ	Aika Datum Month and year joulukuu 1999	Sivumäärä Sidoantal Number of pages 25	
Tiivistelmä Referat Abstract <p>Etsittäessä kehityksellisesti säädelyjä geenejä hiiren munuaisesta löydettiin SH3 –domeeneja sisältävä adaptoriproteiini METS-1 (mesenchyme to epithelium transition protein with SH3 –domains). METS-1:tä ekspressoidaan vähäisinä määrinä erilaistumattomassa metanefrisessä mesenkyymissä, mutta solujen aggregoituessa ja erilaistuessa ekspression määrä kasvaa pysyen edelleen korkeana aikuisessa. Kaksoishybriditekniikkaa käyttäen METS-1:n osoitettiin interaktoivan polykystiini-2:n kanssa, joka on autosomaaliseen dominanttiin polykystiseen munuaistautiin (ADPKD) assosioituvan PKD2 –geenin tuote. ADPKD on eräs yleisimmistä periytyvistä taudeista, jolle on ominaista kystien muodostuminen munuaisten nefroneihin ja kokoojatiehyeisiin. Noin puolella ADPKD –potilaista tauti johtaa munuaisten vajaatoimintaan kuudenteenkymmenenteen ikävuoteen mennessä. ADPKD on yleensä seurausta mutaatioista geenissä PKD1 tai PKD2.</p> <p>Tutkiakseni METS-1:n mahdollista osuutta ADPKD:hen, kloonasin EST –tietokantaa hyväksi käyttäen ihmisen vastaavan geenin (hMETS-1). hMETS-1 on sekä nukleotidi että aminohaposekvenssiltään yli 80%:sti identtinen hiirihomologinsa kanssa. Northern blot –analyysi 19 viikkoisen ihmisalkion kudoksista osoitti, että hMETS-1:tä ekspressoidaan runsaasti munuaisessa, mutta myös useimmissa muissa elimissä. hMETS-1:n kromosomipaikannus antoi mielenkiintoisen tuloksen: hMETS-1 lokalisoitui kromosomiin 6p21.1, johon on aiemmin paikannettu autosomaalisen resessiivisen polykystisen munuaistaudin (ARPKD) tautigeeni. ARPKD muistuttaa morfologisesti ADPKD:ta, mutta ilmenee usein jo varhaislapsuudessa. ARPKD:n tautigeeniä ei ole vielä kloonattu, mutta eräässä taudin hiirimallissa on mutaatio geenissä Tg737. Polykystisen munuaistaudin mallissa PKD1:n, PKD2:n ja Tg737:n geenituotteet muodostavat ns. polykystiini-kompleksin, joka säätelee munuaisten epiteelisolujen erilaistumista.</p> <p>Kromosomipaikannuksen seurauksena hMETS-1:n ekspressiota tutkittiin myös ARPKD –potilaissa. Northern –blot –analyysissa potilaista eristetyissä soluissa havaittiin normaalin mRNA:n lisäksi myös lyhyempi muoto. <i>In situ</i> –hybridisaatiolla osoitettiin hMETS-1:n ekspressoituvan ARPKD –potilaan munuaisten kystaepiteelissä. hMETS-1 –proteiinin funktion tutkimiseksi hMETS-1:stä tuotettiin GST-fuusioproteiinia vasta-aine immunisointeihin. Saadulla polyklonaalisella vasta-aineella havaittiin western blot –analyysissa eroja hMETS-1 –proteiinin ekspressiossa normaalin munuaisten ja ARPKD –potilaan solujen välillä.</p> <p>Alustavat tutkimukset osoittavat hMETS-1:n ekspression mahdollisesti muuttuneen polykystisessä munuaistaudissa. hMETS-1:n paikannus kromosomiin 6p21.1 ja interaktio polykystiini-2:n kanssa liittyy hMETS-1:n sekä ARPKD:hen että ADPKD:hen. Polykystisen munuaistaudin mallin mukaan vaurio polykystiini-kompleksissa voisi johtaa molempien tautien syntyyn. hMETS-1:llä voi olla funktio proteiini-kompleksin rakentumisessa, ja parhaillaan selvitämme myös mahdollisuutta, että hMETS-1 olisi ARPKD –tautigeeni sekvensoimalla mahdollisia hMETS-1 –geenin mutaatioita ARPKD –potilaista.</p>			
Avainsanat Nyckelord Keywords hMETS-1 / CD2AP / CMS, SH3 –domeeni, polykystinen munuaistauti			
Säilytyspaikka Förvaringsställe Where deposited Fysiologisen eläintieteen osaston kirjasto			
Muita tietoja Övriga uppgifter Additional information			